

Universidad de Costa Rica

Facultad de Microbiología

**FLORA BACTERIANA ORAL Y SU PERFIL DE SENSIBILIDAD A
ANTIBIOTICOS EN MONOS DE COSTA RICA (especies
Alouatta palliata y *Ateles geoffroyi*)**

Informe final de la Práctica Dirigida de Graduación para optar por el título
de Licenciatura en Microbiología y Química Clínica.

Galia Rojas Contreras

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2002

RESUMEN

Se describe la flora bacteriana (aerobia y anaerobia) de la cavidad oral de monos de las especies *Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi* y se determina su patrón de sensibilidad a los antibióticos (PSA). Se establece si la interacción del ser humano en ambientes propios de estos animales ha influenciado dicho patrón de sensibilidad antimicrobiana.

El muestreo se llevó a cabo en Chomes, Cahuita, San Ramón, Limón y Palo Verde, de marzo a setiembre del 2001. Se tomó un total de 27 muestras de la cavidad oral de distintos monos con una torunda estéril, a partir de la cual se preparó suspensiones en tubos con solución salina estéril (para aislar las bacterias aerobias) y tubos con medio de carne cocida pre-reducido (para aislar bacterias anaerobias). Las bacterias aerobias se aislaron utilizando placas con agar sangre, agar chocolate, agar McConkey y agar manitol sal; para las anaerobias se utilizó placas con agar sangre y se determinó la tolerancia al oxígeno de cada cepa. La identificación y la PSA de cada bacteria se realizó utilizando galerías comerciales para cada caso según el tipo de bacteria.

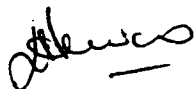
A partir de las 27 muestras se aislaron 109 cepas de bacterias, 64% aerobias y 36% anaerobias, lo que equivale a 2.6 aerobios y 1.4 anaerobios por muestra. Respecto a las bacterias aerobias, predominaron los bacilos Gram negativos, se aislaron 11 géneros de los cuales *Enterobacter* fue el más frecuente (67%); se aislaron además 4 géneros de cocos Gram positivos, siendo *Staphylococcus* el más frecuente (67%). Referente a las bacterias anaerobias, se aislaron 8 géneros de los cuales *Clostridium* fue el más frecuente (48%). Se hizo una comparación con las cepas descritas en la cavidad oral humana y se encontró datos que revelan tanto semejanzas como diferencias entre la flora bacteriana oral de los monos y la humana. Al realizar la PSA se encontró un alto porcentaje de resistencia en la mayoría de las bacterias con excepción de los *Staphylococcus*, resultado inesperado por ser cepas de animales silvestres. Ciertos antibióticos mostraron ser muy efectivos, aún así se presentó resistencia, principalmente hacia antibióticos de amplio uso humano como la penicilina, la amoxicilina y el metronidazole entre otros, también se presentó resistencia aunque en bajo porcentaje hacia antibióticos de uso limitado como el cloranfenicol. La presencia de cepas multirresistentes se dio en todos los grupos de bacterias, tanto en las aerobias como en las anaerobias. De las bacterias aerobias, el 80% de las cepas mostró resistencia múltiple, hubo bacilos Gram negativos que presentaron resistencia a nueve antibióticos

distintos, aunque la mayoría (41%) mostró resistencia a tres o cuatro antibióticos. La resistencia múltiple fue menor en las bacterias anaerobias, pues el 26% de las cepas mostró resistencia a cuatro, cinco o seis antibióticos. Esto hace pensar que las bacterias de la cavidad oral de monos pueden llegar a causar infecciones clínicas difíciles de tratar; el desarrollo de resistencia por el uso indiscriminado de antimicrobianos no se limita a la clínica humana, sino que compromete todo su entorno.

HOJA DE APROBACION

Informe Final de Práctica Dirigida de Graduación presentado a la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el Título de Licenciada en Microbiología y Química Clínica y grado profesional de Doctora en Microbiología y Química Clínica.

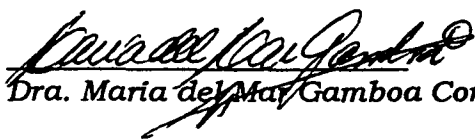
El Tribunal Examinador estuvo integrado por los siguientes miembros:



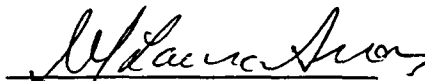
Dra. Libia Herrero Uribe
Presidenta



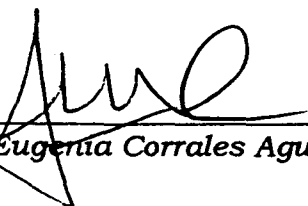
Dra. Evelyn Rodríguez Cavallini



Dra. María del Mar Gamboa Coronado



Dra. Ma. Laura Arias Echandi



Dra. Eugenia Corrales Aguilar

DEDICATORIA

A mi mamá y a mi abuelita Marta por su apoyo durante todos estos años de estudio.

A mi esposo por motivarme siempre a seguir adelante y a mi hijo por significar el principal motivo de superación en mi vida.

AGRADECIMIENTO

Doy gracias a Dios por darme la oportunidad de vivir todos aquellos momentos que me hayan hecho crecer como persona y hayan enriquecido mi vida.

Agradezco a todas aquellas personas que hicieron posible la realización de este trabajo, especialmente la Dra. María del Mar Gamboa y la Dra. Evelyn Rodríguez porque fueron mi luz durante todo el camino, gracias por la confianza y ayuda que me brindaron en todo momento.

Gracias a los señores Pablo Vargas y Martín Quesada por su apoyo y ayuda incondicional y al Sr. Gustavo Gutiérrez por su interés y aporte de material para el proyecto.

INDICE

PORTADA	i
RESUMEN	ii
HOJA DE APROBACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
INDICE	vii
I. INTRODUCCION	1
<i>Alouatta palliata</i>	1
<i>Ateles geoffroyi</i>	2
Interacción del hombre con los monos	3
II. METODOLOGÍA Y MATERIALES	5
II.1. Sitios de recolección y número de muestras	5
II.2. Toma de muestras	5
II.3. Transporte de la muestra	5
II.4. Preparación de las muestras	5
II.5. Aislamiento	6
II.5.1. Bacterias aerobias	6
II.5.2. Bacterias anaerobias	6
II.6. Identificación	6
II.6.1. Bacterias aerobias	6
II.6.2. Bacterias anaerobias	7
II.7. Prueba de sensibilidad a antibióticos	7
III. RESULTADOS	8
IV. DISCUSIÓN	10
V. FIGURAS	21
VI. CUADROS	34
VII. BIBLIOGRAFÍA	51

I. INTRODUCCIÓN

Costa Rica es considerada la región de mayor diversidad en Centro América, tanto en fauna como en flora, dado su origen geológico y su historia natural. Se encuentra en la estrecha faja de tierra centroamericana: punto de intercambio biológico entre Suramérica y Norteamérica y la barrera montañosa que separa el Océano Pacífico del Mar Caribe. En sus escasos 51 000 Km², dispone al menos, de 500 000 diferentes especies distribuidas en hábitats que se extienden desde zonas casi desérticas hasta el bosque lluvioso de excesiva humedad; y desde el nivel del mar hasta los 3 500 m de altura (Reid *et al.* 1994)

De los mamíferos presentes en Costa Rica, se identifican 4 especies de monos distribuidas por todo el país, entre las que se encuentran *Alouatta palliata* conocido como congo y *Ateles geoffroyi* o mono colorado.

Alouatta palliata

El mono congo es para muchos el animal más característico de los bosques americanos, debido a su potente aullido que se puede escuchar a mucha distancia (Sullivan 2002).

Ocupa ambientes boscosos, siendo habitante del bosque lluvioso de bajura y también del bosque seco, ya que es un género muy adaptable. En Costa Rica se encuentra en muchos parches vestigiales, localizándose en hábitats disponibles en todo el país, desde el nivel del mar hasta los 1 200 m (figura 1, Elizondo 1999).

Su organización social incluye desplazamiento en tropas que varían en el número de individuos, usualmente de 2 a 20 (Sullivan 2002), están compuestas por uno o varios machos, una mayoría de hembras, juveniles y presencia o ausencia de crías (Janzen y Wilson 1991). Son arborícolas, con preferencia por árboles de copas altas; sin embargo, en ocasiones se ven obligados a cruzar áreas abiertas sobre suelo, para alimentarse de árboles que se encuentran aislados en ciertas áreas. En algunos meses del año se localizan a altitudes menores a las acostumbradas, incluso, algunos monos migran del parche boscoso hacia los cafetales, donde encuentran abundancia de frutos en el cultivo de café, esto cuando el recurso alimenticio es escaso (Sánchez 1991).

Su alimentación es principalmente vegetariana, incluyendo por orden de prioridad hojas tiernas, hojas maduras, flores, frutos y brotes. Se considera que los congos son extremadamente selectivos, pues únicamente comen ciertas partes específicas de

algunos árboles, son capaces de escoger los mejores alimentos disponibles con respecto al mayor contenido de nutrientes y el menor contenido de compuestos secundarios (Sullivan 2002). Se alimentan aproximadamente de 42 especies distintas de plantas, pero son pocas las especies que se consumen en un mayor porcentaje. Los patrones de alimentación están regidos por diferentes factores ambientales, tales como la temperatura, duración del día, cambios climáticos, composición, abundancia y distribución florística (Morera 1996).

La disponibilidad de alimento influye en varios aspectos de la biología de las especies, tales como tamaño, reproducción, ámbito de acción, distribución y uso del hábitat (Morera 1996).

Ateles geoffroyi

Conocido como mono colorado o mono araña, es la especie de mono que ha sido más afectada por la destrucción intensa de su hábitat. Se distribuye desde el Sur de México hasta Brasil. Se le puede encontrar en bosques húmedos de las tierras bajas y menos frecuentemente en los bosques secos. En Costa Rica se encuentra en hábitats disponibles en todo el país, desde el nivel del mar hasta los 2 200m (Elizondo 1999) (figura 2).

Es una especie diurna y se encuentra en grupos familiares de 12 a 15 individuos guiados por un jefe. Las tropas tienden a dividirse en numerosos subgrupos y pueden exhibir una estructura de tropa simplificada, compuesta por un macho adulto, varias hembras y sus crías (Sullivan 2002).

Se le conoce por su especialización extrema a la forma de vida arbórea. Están activos todo el día y se mueven rápidamente entre las ramas con los brazos y la cola para ayudarse en la locomoción. La especie es principalmente frugívora, se alimenta muy selectivamente en el bosque maduro, en alturas de moderadas a extremas. Puede consumir hasta 20% de su dieta anual en hojas nuevas, que durante ciertas estaciones del año sirven para aumentar la proteína vegetal de su dieta (Janzen y Wilson 1991).

En Costa Rica, esta especie es considerada en peligro de extinción, debido a la pérdida de su hábitat principalmente por la deforestación y a que son cazados para aprovechar su carne, la cual es considerada como de buena calidad por los cazadores (Elizondo 1999).

Interacción del ser humano con los monos

Con el tiempo los monos han aumentado su contacto con los humanos, ya que las zonas que habitan se han vuelto muy accesibles a éste; ejemplo de ello es la siembra de café dentro de zonas boscosas y la eliminación en forma paulatina de árboles (Sánchez 1991). Esto no quiere decir que se estén domesticando, pero sí se puede afectar su comportamiento, incluyendo sus hábitos alimenticios (Vergeest 1992).

La interacción de los monos con personas hace posible la alteración de los microorganismos de su flora normal, que podrían adquirir resistencia a ciertos antibióticos como consecuencia de su uso indiscriminado (Universidad de Oviedo 2002).

En el ser humano, las bacterias aerobias y anaerobias constituyen los componentes principales de la microflora que coloniza las superficies mucosas y la piel; las bacterias anaerobias superan en número a las bacterias aerobias en las superficies mucosas, pudiéndose encontrar una relación de 10:1 en la cavidad oral (Engelkirk y Duben-Engelkirk 2000). Parece ser que los anaerobios, en su ambiente natural no son tan intolerantes al oxígeno, ya que muchas bacterias facultativas, al crecer, reducen su medio ambiente inmediato, favoreciendo a los anaerobios en microambientes producidos por comunidades bacterianas (Engelkirk y Duben-Engelkirk 2000).

Existe la posibilidad, aunque remota, de que el ser humano sea atacado por los monos, pues su cercanía con él los podría hacer sentir amenazados y ser animales muy agresivos cuando se tienen cerca. Su forma de ataque es morder, por lo que sería importante conocer qué tipo de bacterias son las que albergan en la cavidad oral y si hay algunas potencialmente patógenas para el humano.

En casos de infecciones por mordeduras humanas las bacterias más frecuentemente aisladas han sido *Streptococcus* sp. grupo viridans y *Staphylococcus aureus*; también se han aislado *Bacteroides* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Peptococcus* sp., *Fusobacterium* sp., *Klebsiella pneumoniae* y otras. Las bacterias asociadas con infecciones por mordeduras pueden provenir del ambiente, de la flora de piel de la víctima, pero más frecuentemente de la flora bucal del agresor (Hudspeth *et al.* 1999, Rojas 1999).

Se conoce poco acerca de la flora bacteriana normal de los monos, incluyendo la oral, ya que la mayoría de estudios que se han hecho de ellos, se enfocan principalmente en su biología, comportamiento, hábitat y alimentación.

En este trabajo se pretende describir la flora bacteriana (aerobia y anaerobia) de la cavidad oral de monos de las especies *Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi* y determinar su patrón de sensibilidad a los antibióticos. Esto con el propósito de evaluar el riesgo potencial de contraer alguna enfermedad por la cercanía humana con los monos. Se pretende además tratar de establecer si la interacción del hombre en ambientes propios de estos animales ha influenciado dicho patrón de sensibilidad antimicrobiana.

II. METODOLOGÍA Y MATERIALES

II.1. Sitios de recolección y número de muestras

El muestreo se llevó a cabo en varias zonas del país: Chomes, Cahuita, San Ramón, Limón y Palo Verde, durante los meses de marzo a setiembre del 2001. Se tomaron 27 muestras a partir de la cavidad oral de monos de distinto sexo de las especies *Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*, previamente sedados (cuadro 1). La mayoría de las muestras fueron de la especie *Alouatta palliata*, sólo cuatro hembras recolectadas en Limón fueron de la especie *Ateles geoffroyi* y se encuentran en cautiverio.

II.2. Toma de muestras

- 1- Con una torunda estéril, se raspó los dientes y la cavidad interna de la boca del mono, previamente sedado.
- 2- Se introdujo la torunda en un tubo con 2 ml de solución salina (SS) estéril y se resuspendió.
- 3- Utilizando algodón con alcohol yodado, se desinfectó el tapón de hule de un tubo con medio de carne cocida (CC) pre-reducido.
- 4- A través del tapón de hule con ayuda de una jeringa estéril, se inoculó 0.5 ml de la suspensión en el tubo de CC pre-reducido y se selló el tubo.
- 5- Se conservó el tubo con la suspensión en SS.

II.3. Transporte de las muestras

- 1- Los tubos con las suspensiones en SS se mantuvieron en frío y los de CC pre-reducidos a temperatura ambiente, antes de ser procesados en el laboratorio.

II.4. Preparación de las muestras

- 1- A cada una de las suspensiones en SS, se les agregó 2 ml de caldo tripticasa soya (CTS) y se incubaron a 35°C por 24 horas.
- 2- Los tubos de CC pre-reducidos se incubaron a 35°C por 48 horas.

II.5. Aislamiento

II.5.1. Bacterias aerobias

- 1- A partir de cada uno de los tubos de CTS, se rayaron placas de agar sangre, agar chocolate, agar McConkey y agar manitol sal, las cuales se incubaron a 35°C por 24 horas.
- 2- Se seleccionaron los diferentes morfotipos coloniales en cada placa, anotando sus características y realizándoles tinción de Gram.
- 3- Se obtuvieron cultivos puros en agar sangre de cada morfotipo colonial.

II.5.2. Bacterias anaerobias

- 1- A partir de cada tubo de CC pre-reducido se rayó una placa de agar sangre que se incubó en anaerobiosis a 35°C por 48 horas.
- 2- Se seleccionaron los diferentes morfotipos coloniales, anotando sus características y realizándoles tinción de Gram.
- 3- Para determinar la tolerancia al oxígeno de cada morfotipo colonial, se rayaron dos placas de agar sangre, una de las cuales se incubó en atmósfera incrementada de CO₂ y la otra en jarra de anaerobiosis.
- 4- Se seleccionaron las bacterias anaerobias: aquellas cuyo crecimiento fue exclusivo o mejor bajo condiciones anaerobias.
- 5- Para obtener cultivos puros, se rayaron en agar sangre.

II.6. Identificación

Se confirmó la pureza de los cultivos por medio de tinción de Gram y se anotaron las características microscópicas de cada bacteria.

II.6.1. Bacterias aerobias

- 1- Se realizaron pruebas de oxidasa y catalasa a cada una y con base en ello, se ubicaron en el grupo bacteriano correspondiente.
- 2- De acuerdo con los resultados de las pruebas anteriores, se inoculó una galería miniaturizada de pruebas bioquímicas (API®), que se incubó a 35°C y se leyó a las 24 horas.
- 3- Utilizando el programa API-Plus se identificaron las bacterias. Se realizaron pruebas adicionales, según el caso, cuando la identificación no fue precisa.
- 4- Cada aislamiento se congeló a -70°C.

II.6.2. Bacterias anaerobias

- 1- Se inoculó una galería miniaturizada de pruebas bioquímicas para bacterias anaerobias (Rapid ID 32A o API 20A). Se incubó y se leyó de acuerdo con las recomendaciones de la casa fabricante.
- 2- Utilizando el programa API-Plus se identificaron las bacterias. Se realizaron pruebas adicionales, según el caso, cuando la identificación no fue precisa.
- 3- Cada aislamiento se congeló a -70°C .

II.7. Prueba de sensibilidad a antibióticos

- 1- Se utilizaron galerías comerciales para sensibilidad a los antibióticos (ATB®), de acuerdo con el tipo de bacteria aerobia: ATB G-5, ATB-Staph y ATB-Strep; ATB ANA para bacterias anaerobias. El detalle de los antibióticos que se incluyen en cada galería se desglosa en los cuadros 2, 3, 4 y 5, respectivamente.
- 2- Se siguieron las recomendaciones de la casa fabricante.
- 3- Se interpretó y se anotaron los resultados.

III. RESULTADOS

A partir de las 27 muestras de la cavidad oral de los monos, se aislaron 109 cepas de bacterias, lo que brinda un promedio de 4 cepas por muestra. Estas correspondieron a 70 bacterias aerobias (64%) y 39 a bacterias anaerobias (36%), lo que equivale a 2.6 aerobios y 1.4 anaerobios por muestra (figura 3).

Respecto a las bacterias aerobias, predominaron los bacilos Gram negativos (49 de las 70 cepas), siendo *Enterobacter* el género más frecuente, ya que se aisló en el 67% de las muestras (figura 4, cuadro 6) e incluyó las especies de *E. agglomerans*, *E. cloacae* y *E. amnigenus*. Fue posible aislar otros 10 géneros de bacilos Gram negativos aerobios, cuya frecuencia en las muestras varió del 26% de *Escherichia* al 4% de *Achromobacter* y *Chryseomonas* (figura 4, cuadro 6).

Se aislaron 21 cepas de cocos Gram positivos aerobios, casi todas pertenecientes al género *Staphylococcus*, el cual se aisló en el 67% de las muestras (figura 5, cuadro 7) e incluyó las especies de *S. aureus*, *S. hominis*, *S. lentus*, *S. sciuri* y *S. simulans*; otros géneros aislados fueron *Streptococcus*, *Aerococcus* y *Leuconostoc* con una frecuencia de 4% cada uno (figura 5, cuadro 7).

Referente a las bacterias anaerobias, se aislaron 39 cepas: 17 bacilos Gram positivos, 12 bacilos Gram negativos, 6 cocos Gram negativos y 4 cocos Gram positivos. *Clostridium*, el género más frecuente, se encontró en el 48% de las muestras (figura 6, cuadro 8), correspondiendo a las especies de *C. beijerinckii*, *C. bifermentans*, *C. cadaveris*, *C. clostridioforme*, *C. histolyticum*, *C. septicum*, *C. sordellii* y *C. sporogenes*. Otros siete géneros de bacterias anaerobias también estuvieron presentes, con una frecuencia que varió desde un 26% de *Bacteroides* al 4% de *Actinomyces* y *Peptostreptococcus* (figura 6, cuadro 8).

El listado completo de las especies aerobias y anaerobias aisladas de la cavidad oral de monos se encuentra en el cuadro 9.

Con respecto a las pruebas de sensibilidad a los antibióticos, el 71% de los bacilos Gram negativos aerobios fue resistente a la amoxicilina y el 45% a la amoxicilina más ácido clavulánico. El 63% fue resistente a cefalotina, cefalosporina de primera generación, pero sólo el 8, 4 y 4% a cefotaxime, ceftriaxone y ceftazidime, respectivamente, cefalosporinas de tercera generación. Ocho de los 19 antibióticos

(42%) evaluados fueron efectivos contra todas las cepas aisladas (0% cepas resistentes, figura 7, cuadro 10).

Las cepas de *Staphylococcus* mostraron una menor resistencia, pues 10 de los 15 antibióticos probados (67%) fueron efectivos contra todas las cepas aisladas (0% de resistencia, cuadro 11). Sin embargo, el 89% de ellos fue resistente a penicilina G y el 28% a ampicilina más sulbactam (figura 8, cuadro 11), entre otros.

La cepa de *Streptococcus sanguis* fue resistente a tres antibióticos: penicilina de 1 mg/l, cotrimoxazol y ciprofloxacina. La de *Aerococcus viridans* fue resistente a seis antibióticos, pues además de los anteriores, también fue resistente a una concentración mayor de penicilina (2 mg/l), a ampicilina y a cefalotina. Es de destacar la resistencia de ambas cepas a la ciprofloxacina, quinolona de amplio espectro y de uso relativamente reciente.

En cuanto a las cepas anaerobias, la resistencia a varios antibióticos también fue manifiesta, siendo el mayor porcentaje de resistencia hacia el metronidazole, de un 44 a 49% según su concentración, seguido por la penicilina (31%), la clindamicina y cloranfenicol (28 y 26 %, respectivamente). Hubo un bajo porcentaje de resistencia a antibióticos como amoxicilina, imipenem y ticarcilina (figura 9, cuadro 12). Seis de los dieciseis antibióticos evaluados (38%) fueron efectivos contra todas las cepas aisladas (0% de cepas resistentes, cuadro 12).

La presencia de cepas multirresistentes se dio en todos los grupos de bacterias, tanto en las aerobias como en las anaerobias. De las bacterias aerobias, el 80% de las cepas mostró resistencia múltiple; hubo bacilos Gram negativos que presentaron resistencia a nueve antibióticos distintos, aunque la mayoría (41%) mostró resistencia a tres o cuatro antibióticos (figura 10, cuadro 13).

La resistencia múltiple en las cepas de *Staphylococcus* no fue evidente, pues sólo un bajo porcentaje (6%) fue resistente a tres antibióticos, mientras que la mayoría (50%) mostró resistencia solamente a un antibiótico y 33% a dos antibióticos (figura 11, cuadro 14).

Un análisis similar con las cepas anaerobias reveló una baja resistencia múltiple, pues el 23% de ellas no fue resistente a ninguno de los antibióticos probados y el 28% sólo a uno. Sin embargo, el 26% de las cepas mostró resistencia a cuatro, cinco o seis antibióticos (figura 12, cuadro 15).

IV. DISCUSION

El cuerpo de los vertebrados superiores normalmente alberga varios cientos de especies bacterianas, virus, hongos y protozoarios; la mayoría de ellos son comensales ya que viven sin causar daño. Su número, así como la variedad de especies, está en continuo cambio, de manera que cada individuo posee un espectro particular de microorganismos, que en su gran mayoría son bacterias (Montiel 1997, Fix 2002). Como se anotó antes, se conoce muy poco acerca de la flora bacteriana normal de los monos, incluyendo la oral; sin embargo, en este estudio hemos encontrado datos que nos revelan algunas semejanzas y diferencias entre la flora bacteriana oral de los monos y la humana.

Uno de los sitios anatómicos del cuerpo humano colonizado con el mayor número de microorganismos es la cavidad oral, en donde es posible encontrar entre 10^{11} y 10^{12} bacterias/ml y una relación de aerobios/anaerobios de 1/1000 (Montiel 1997). La presencia de nutrientes, detritos epiteliales y secreciones, hacen de la boca un lugar favorable para una gran variedad de bacterias que incluyen los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Corynebacterium*, entre otros, y un predominio de *Bacteroides* dentro del grupo de los anaerobios (Montiel 1997). Además, dependiendo de la edad, la cavidad oral presenta cambios en la composición y la complejidad de la flora oral (Todar 2002).

Aunque en este estudio se logró el aislamiento de 4 cepas diferentes por muestra de cavidad oral de monos, se encontró mayor cantidad de bacterias aerobias (2.6 por muestra) que de anaerobias (1.4 por muestra), contrario a lo que es de esperar en la cavidad oral humana. Esto pudo ser el resultado de varios aspectos, que incluyen problemas metodológicos inevitables a la hora de tomar la muestra, así como también dificultades para su transporte hasta el laboratorio. En este sentido, es importante señalar que las condiciones para la toma de muestras para cultivo de anaerobios en el campo son difíciles y optamos por utilizar una torunda para recoger el material. Esta torunda se resuspendió rápidamente en solución salina, para luego ser inoculada, con aguja, en un tubo con atmósfera libre de oxígeno y lograr así la conservación de los anaerobios; aquellos anaerobios muy sensibles al oxígeno podrían haber muerto antes de ser inoculados en el medio pre-reducido. Dado que el muestreo se realizó en zonas

alejadas al laboratorio, debió transcurrir un tiempo prolongado (usualmente de 24 a 48 hrs) antes de que las muestras fueran procesadas en el laboratorio. Como la solubilidad del oxígeno aumenta en refrigeración, no se recomienda mantener los tubos en hielo durante el transporte y fue necesario mantenerlos a temperatura ambiente, temperatura que puede haber favorecido sólo a unas pocas especies, perjudicando aquellas cuya rango de temperatura óptima de crecimiento fuera más estrecho y muy cercano a los 37° C. Estos inconvenientes no se presentan con las bacterias aerobias, que se conservaron en la solución salina mantenida en hielo hasta su procesamiento en el laboratorio.

Referente a las bacterias aerobias aisladas en este estudio, encontramos algunas similitudes a las descritas para la cavidad oral humana. Los géneros de *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia* están descritos entre los más frecuentes de la cavidad oral humana (Isenberg y D'Amato 1995) y fueron dichos géneros las bacterias aerobias Gram negativas predominantes en este estudio (figura 4, cuadro 6). Igual situación se presentó con los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*, aunque en este estudio se encontró un predominio de *Staphylococcus* (figura 5, cuadro 7). Quizá este predominio se deba a condiciones metodológicas, que pueden haber permitido el sobrecrecimiento de *Staphylococcus*, género nutricional y fisiológicamente menos exigente que *Streptococcus*.

Algunas de las especies aerobias encontradas en esta investigación no están descritas como habitantes normales de la flora oral humana. Tal es el caso de *Acinetobacter*, quinto género en frecuencia entre los aerobios (figuras 4 y 5, cuadros 6 y 7); sin embargo, está descrito como frecuente en suelos y aguas (Juni 1984), por lo que fácilmente se explica su aislamiento de la cavidad oral de los monos. La presencia de *Serratia* no es usual en la boca del hombre (Grimont y Grimont 1984), pero se encuentra normalmente en plantas, además de suelos y aguas, lo que explicaría el hallazgo en el 11% de las muestras. El género *Pseudomonas*, también presente en el 11% de las muestras, incluye muchas especies ubicuas, ya que se han aislado de aguas de ríos, suelos y plantas, entre otros, así como de animales (Palleroni 1984).

Otras especies menos frecuentes en este estudio y no descritas como pertenecientes a la cavidad oral humana fueron *Citrobacter*, *Chromobacterium*, *Aeromonas* (7% c/u) y *Achromobacter* (4%). Estas se encuentran presentes en suelos, aguas, alimentos e

incluso algunas se mencionan como habitantes comunes del ambiente en países tropicales (Popoff 1984, Sakasaki 1984, Sneath 1984). Aunque *Leuconostoc*, presente en el 4% (figura 5, cuadro 7), tampoco se ha descrito como habitante usual de la cavidad oral, sí se encuentra en plantas (Garvie 1986), lo que fácilmente explicaría su presencia y la de los otros géneros en la flora oral de los monos.

La literatura científica no refiere el hábitat natural de *Chryseomonas* y *Aerococcus*, pero señala algunos casos de importancia clínica veterinaria y humana (Evans 1986, Hall 2000); su hallazgo en los monos parece indicar que se encuentra en suelos, aguas o plantas, tal y como los otros géneros. Debido a que *Aerococcus* requiere de varios factores de crecimiento para su óptimo desarrollo (ácido pantoténico, ácido nicotínico, biotina, purinas y algunos aminoácidos, Evans 1986) podría ser que su frecuencia en la cavidad oral de los monos fuera mayor que la encontrada en este estudio (4%, figura 5, cuadro 7).

Por otra parte, dentro del grupo de los aerobios, no se aislaron los géneros *Corynebacterium* y *Lactobacillus*, descritos como habitantes de la cavidad oral humana (Isenberg y D'Amato 1995). Podría ser que estén ausentes en la cavidad oral de monos o bien deberse a la exigencia nutricional de ambos géneros, ya que requieren aminoácidos específicos, purinas y pirimidinas, vitaminas, entre otros (Collin y Cummins 1986, Kandler y Weiss 1986), nutrientes que no necesariamente estaban incluidos en los medios de cultivo empleados. Aunque *Moraxella* también es habitante usual de la boca de humanos (Isenberg y D'Amato 1995), desconocemos las razones por las cuales no se aisló en este estudio; sin embargo, en animales no es muy frecuente y sólo unas pocas especies se han aislado de algunos animales: *M. bovis* en ganado y caballo, *M. lacunata* en cobayos, *M. phenylpyruvica* en ganado, ovejas, cabras y cerdos (Bovre 1984).

Los géneros de bacterias anaerobias usuales en la cavidad oral humana incluyen *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Prevotella* y bacilos Gram positivos no esporulados: *Actinomyces* y *Eubacterium* (Isenberg y D'Amato 1995, Montiel 1997, Engelkirk y Duben-Engelkirk 2000). De ellos, en este estudio se aislaron con mayor frecuencia *Bacteroides*, *Veillonella* y *Prevotella* y en menor grado *Eubacterium*, *Actinomyces* y *Peptostreptococcus* (figura 6, cuadro 8). Respecto a

Gemella, que se aisló en un 11% de las muestras, no está claro su hábitat natural, pero algunos estudios sugieren que se encuentra en la cavidad orofaríngea humana (Engelkirk y Duben-Engelkirk 2000); el hallazgo en la boca de los monos parece apoyar esta posibilidad.

Otro habitante usual de la cavidad oral humana, *Fusobacterium*, no se aisló en este estudio; es sabido que sólo unas pocas especies (*F. necrophorum* y *F. naviforme*, Moore *et al.* 1984) se han aislado de cavidad oral, de modo que su ausencia en los monos parece estar acorde con la literatura.

Por otro lado, el género de anaerobios más frecuente en esta investigación fue *Clostridium*, presente en el 48% de las muestras de cavidad oral de los monos (figura 6, cuadro 8). Este género no está descrito como habitante usual de la boca del hombre (Montiel 1997, Engelkirk y Duben-Engelkirk 2000), pero en países tropicales es fácil explicar que una bacteria frecuente en suelos, como lo es *Clostridium*, pueda llegar hasta la boca de los monos, a través de la ingestión de plantas o aguas contaminadas con las esporas de estas bacterias. Todas las especies que se encontraron: *C. beijerinckii*, *C. bifermentans*, *C. cadaveris*, *C. clostridioforme*, *C. histolyticum*, *C. septicum*, *C. sordellii* y *C. sporogenes*, han sido aisladas de suelos costarricenses en una frecuencia que varió desde un 50 hasta un 5% (Rodríguez *et al.* 1993, Gamboa *et al.* 2002).

Las pruebas de sensibilidad a los antibióticos mostraron resultados variables, algunos de los cuales podrían ser alarmantes, principalmente para los bacilos Gram negativos aerobios: 71% de las cepas resistentes a amoxicilina, 63% a cefalotina y 45% a amoxicilina con ácido clavulánico (figura 7, cuadro 10). No era de esperar que bacterias de animales que en su mayoría llevan una vida silvestre, presentaran estos niveles de resistencia. Se sabe que en la naturaleza existen bacterias con resistencia intrínseca, aquella inherente o natural de la bacteria, que no ha sido adquirida por un proceso de mutación ni a partir del material genético de otra bacteria, sino que se debe a la ausencia de moléculas diana sobre las que actúan ciertos antibióticos, o la incapacidad de éstos de penetrar las células. Este tipo de resistencia se ha descrito en las bacterias Gram negativas hacia la vancomicina y específicamente en *Pseudomonas* y *Enterobacter* hacia los macrólidos (Quesada y Del Pino 2001, Fundación Sira Carrasco 2002).

Los bacilos Gram negativos aerobios presentaron un alto porcentaje de resistencia a la amoxicilina, penicilina semisintética de amplio espectro capaz de atravesar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, pero sólo medianamente eficaz contra las Gram positivas. Debido a que puede ser inactivada por beta lactamasas, enzimas bacterianas que inactivan algunas penicilinas al romper el anillo beta lactámico que las compone (Láñez 1998), era de esperar que la resistencia a la amoxicilina más ácido clavulánico fuera menor que a la amoxicilina sola. Ello por cuanto el ácido clavulánico es un inhibidor de dichas enzimas, lo que aumenta la actividad *in vitro* de ciertos antibióticos beta lactámicos (Barquero 1996).

Otro antibiótico al que los bacilos Gram negativos aerobios presentaron gran resistencia fue la cefalotina (63%, figura 7, cuadro 10); ésta es una cefalosporina de primera generación que al igual que otras, es un compuesto beta lactámico que posee como núcleo básico de su estructura el ácido 7-aminocefalosporánico. Actúa contra cocos Gram positivos (con excepción de enterococos y estafilococos resistentes a meticilina) y tiene moderada actividad contra bacilos Gram negativos, lo que puede explicar en parte el alto porcentaje de resistencia encontrado en este estudio; además, es un antibiótico de uso frecuente en Costa Rica, por lo que existe una presión de selección que favorece el desarrollo de cepas resistentes.

Tal y como era de esperar, hubo menor resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima 8%, ceftriaxona 4%, ceftazidima 8-16 mg/l 4%, figura 7, cuadro 10); no sólo porque el uso de cefalosporinas de tercera generación es más restringido, sino que la introducción de distintas cadenas laterales al ácido 7-aminocefalosporánico da lugar a derivados semisintéticos con mayor actividad antibacteriana y mayor resistencia a beta lactamasas que la sustancia original (Barquero 1996, Jawetz *et al.* 1996, Láñez 1998).

Ocho de los diecinueve antibióticos probados fueron efectivos contra todos los bacilos Gram negativos (0% de resistencia, cuadro 10), probablemente debido a un uso más racional de algunos de estos antimicrobianos. Esto es lógico y de acuerdo con lo esperado para cepas bacterianas aisladas de animales silvestres.

Los cocos Gram positivos, que en su mayoría fueron del género *Staphylococcus*, mostraron una menor resistencia, pues diez de los quince antibióticos probados (67%) fueron efectivos contra todas las cepas aisladas (0% de resistencia, cuadro 11). Sin embargo, el 89% de ellas fue resistente a la penicilina G y el 28% a la ampicilina más sulbactam (figura 8, cuadro 11). La penicilina, primer antibiótico descubierto, actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular de las bacterias y es particularmente activa contra bacterias Gram positivas, en especial estafilococos, estreptococos, neumococos, algunos clostridios y lactobacilos (AdSolution 2002). Luego de su descubrimiento, la penicilina fue por varios años el antibiótico de elección para tratar infecciones causadas por *Staphylococcus*, principalmente por *S. aureus*; sin embargo, al poco tiempo empezaron a aparecer cepas resistentes, productoras de beta lactamasas. El amplio uso de este antibiótico en el tratamiento de infecciones humanas, además del uso en elevadas concentraciones en ganadería y agricultura durante la década de los setentas, pudo ayudar al aumento de la resistencia bacteriana (Quesada y Del Pino 2001), resistencia manifiesta hasta en las cepas de la cavidad oral de monos. Esta resistencia pudo deberse no sólo a la producción de beta lactamasas, si no a otros mecanismos, pues el 28% de las cepas aún continúan comportándose como resistentes con el empleo de sulbactam, inhibidor de dicha enzima.

Numerosos estudios han demostrado que la resistencia antibacteriana en los anaerobios ocurre entre diversos géneros (Engelkirk y Duben-Engelkirk 2000), no sólo por mutación sino además por transmisión horizontal entre microorganismos en suelos y aguas (Shoemaker *et al.* 2001). En este estudio, las cepas anaerobias también mostraron resistencia hacia varios de los antibióticos probados, siendo la mayor resistencia hacia el metronidazole (49%, figura 9, cuadro 12), medicamento antiprotozoario que además ha demostrado ser efectivo contra infecciones por bacterias anaerobias (Diniz *et al.* 2000). Debido a su amplio uso, se ha observado la aparición de cepas resistentes en grupos bacterianos aislados tanto de animales como de humanos (Diniz *et al.* 2000). Un 44% de las bacterias Gram negativas y un 43% de las Gram positivas fueron resistentes, acorde con el patrón que se ha venido observando, pero contrario a Boyanova y colaboradores (2000) quienes encontraron sólo un 3% de cepas Gram negativas resistentes a este agente, aunque una resistencia del 54% en cepas de Gram positivas.

En general, la resistencia de todas las cepas anaerobias hacia la penicilina fue de 31% (figura 9, cuadro 12), aunque ésta fue mayor en Gram negativas (39%) que en Gram positivas (24%). Esto es esperable de acuerdo con el mecanismo de acción de la penicilina y el amplio uso de este antibiótico. La resistencia a la penicilina en algunos grupos de anaerobios ha ido aumentando, así el 16-26% de *Clostridium* (Engelkirk *et al.* 1992), el 50% de *Prevotella* (Hecht 1999) y el 65% de *Bacteroides* (Engelkirk *et al.* 1992) son resistentes a este antibiótico, especialmente por la producción de beta lactamasas; otros grupos, como los bacilos Gram positivos no esporulados y los *Peptostreptococcus*, continúan siendo altamente sensibles (Hecht 1999).

El 28% de las cepas aisladas fueron resistentes hacia la clindamicina (figura 9, cuadro 12), lo cual es preocupante dado que este antibiótico es ampliamente utilizado para el tratamiento de infecciones clínicas por anaerobios. Aunque Boyanova y colaboradores (2000) informan que ninguna bacteria Gram negativa anaerobia es resistente a clindamicina, Engelkirk y colaboradores (1992) informan que menos del 10% de los Gram negativos y el 19.6% de los Gram positivos son resistentes. Otros estudios confirman esta observación: un 6% de los bacilos Gram positivos no esporulados y un 16% de los *Peptostreptococcus* son resistentes a la clindamicina (Rodloff *et al.* 1999). En nuestro estudio tres de los bacilos Gram negativos fueron resistentes a este antibiótico, lo que acentúa aún más la preocupación de que cepas de animales silvestres pueda llegar a causar infecciones clínicas en humanos y sean difíciles de tratar.

El grupo *Bacteroides* no sólo es importante como el agente más frecuente en infecciones clínicas anaerobias humanas (Cáceres *et al.* 2000), sino que también ha sido reconocido por la alta resistencia a los antimicrobianos usados tradicionalmente para combatirlas (Engelkirk y Duben-Engelkirk 2000), resistencia que ha ido incrementándose en los últimos años (Fang *et al.* 1999). Al analizar la resistencia de este grupo a los dieciseis antimicrobianos evaluados en nuestro estudio, se encontró una resistencia variable; todas las cepas fueron sensibles a nueve agentes, pero el 71% fueron resistentes al metronidazole. Aunque algunos autores han descrito que el metronidazole es 100% efectivo contra *Bacteroides* (Boyanova *et al.* 2000, Cáceres *et al.* 2000, Nagy *et al.* 2001) otros ya han informado de un incremento en su concentración mínima inhibitoria (Wojcik *et al.* 2000, Nagy *et al.* 2001) o de resistencia a éste (Jousimies-Somer *et al.* 1999, Diniz *et al.* 2000). Siendo el metronidazole

ampliamente usado en países tropicales para el tratamiento de infecciones por protozoarios y hongos (Diniz *et al.* 2000), la alta resistencia a este agente demostrada en esta investigación no es de extrañar.

Además, el 43% de *Bacteroides* fue resistente a la penicilina y al cloranfenicol. Algunos autores han encontrado desde 100% de resistencia a la penicilina (Boyanova *et al.* 2000) hasta porcentajes menores (Engelkirk *et al.* 1992, Wojcik *et al.* 2000, Aldridge *et al.* 2001). Varios autores han informado que la resistencia al cloranfenicol es baja, desde 0% (Cáceres *et al.* 1999, Cáceres *et al.* 2000, Nagy *et al.* 2001) hasta menos del 10% (Mejía *et al.* 1995, Engelkirk *et al.* 1992). Desconocemos las razones por las cuales las cepas aisladas de los monos tuvieron un porcentaje de resistencia mayor al cloranfenicol, siendo éste un antibiótico de uso limitado.

El 29% de las cepas de *Bacteroides* fue resistente a la amoxicilina y a la clindamicina. A pesar de que algunos investigadores informan de 100% de sensibilidad en cepas de *Bacteroides* (Wojcik *et al.* 2000), otros informan de resistencia (Cáceres *et al.* 2000). Nuestros datos están acordes con este aumento de resistencia en el grupo *Bacteroides*, reconocido a nivel mundial (Hecht 1999).

Clostridium, el género de anaerobios más frecuente en este estudio, presentó un 46% de resistencia a la clindamicina, al cloranfenicol y al metronidazole, resistencia que ha sido descrita en este género (Allen *et al.* 1999). Muchas especies de clostridios son resistentes a clindamicina: 30% de *C. clostridioforme* y de *C. innocuum* y 23% de *C. ramosum* (Engelkirk *et al.* 1992), lo cual es especialmente alarmante ya que éste es un antibiótico de elección para las infecciones por anaerobios.

Un 31% de los clostridios aislados fueron resistentes a la penicilina, porcentaje ligeramente superior al encontrado para los bacilos Gram positivos anaerobios en general (24%). Como se mencionó antes, el aumento de la resistencia hacia los beta lactámicos en *Clostridium* se ha venido presentado cada vez con mayor frecuencia, especialmente para algunas de las especies, tales como *C. ramosum*, *C. clostridioforme* y *C. butyricum* (Engelkirk *et al.* 1992, Allen *et al.* 1999); también, Boyanova y colaboradores (2000) encontraron un 20% de cepas de clostridios resistentes. Esta situación es preocupante por la alta frecuencia de este género en monos y la

probabilidad de que estas bacterias pudieran transmitir horizontalmente la resistencia a flora bacteriana que pueda causar infección en humanos.

Por otra parte, es de destacar que fue un clostridio (*C. clostridioforme*) la única cepa de anaerobios aislada resistente al imipenem, antimicrobiano al que muy pocas cepas son resistentes (Engelkirk *et al.* 1992); aunque ya han sido descritas cepas de clostridios resistentes al imipenem (Allen *et al.* 1999), la cepa aislada en esta investigación además fue resistente a clindamicina y cloranfenicol.

La resistencia múltiple se da cuando una bacteria presenta resistencia a dos o más antibióticos y se puede deber, entre otros, a similitud estructural entre algunos de ellos; por ejemplo, la beta lactamasa va a ser capaz de inactivar a varios de los beta lactámicos. Aunque poco frecuente, una bacteria puede sufrir varias mutaciones que le confieren distintos mecanismos de resistencia dirigidos a diferentes grupos de antibióticos. Otra posibilidad es la presencia de plásmidos que pueden contener varios genes de resistencia a antibióticos, mecanismo mucho más eficiente en la transmisión de multirresistencia (Quesada y Del Pino 2001).

Al analizar los datos de resistencia múltiple, se observó que cepas de todos los grupos bacterianos la presentaron hacia varios de los antibióticos; aún así la mayoría de las bacterias fueron resistentes sólo a dos, tres o cuatro antibióticos y pocas fueron las que mostraron resistencia a más de 4 antibióticos (figuras 10, 11 y 12, cuadros 13,14 y 15).

Con respecto a los Gram negativos aerobios se pudo notar que el 80% de las cepas mostró resistencia múltiple, que incluyó desde resistencia sólo a dos antibióticos hasta nueve (figura 10, cuadro 13). La mayoría de las cepas (41%, figura 10, cuadro 13) fue resistente sólo a tres o cuatro antibióticos. Por el contrario, sólo el 39% de los estafilococos mostró resistencia múltiple y además las cepas fueron resistentes a un máximo de tres antibióticos (figura 11, cuadro14). La multirresistencia en bacterias anaerobias fue intermedia entre estos dos grupos, pues el 49% de las cepas de bacterias anaerobias mostró multirresistencia (figura 12, cuadro 15) encontrándose cepas resistentes hasta seis drogas. Estos resultados son alarmantes, pues tradicionalmente se ha creído que la resistencia múltiple no es un problema común en bacterias anaerobias.

El uso indiscriminado de antibióticos no sólo en medicina humana, sino también en la agricultura y ganadería, facilita el desarrollo de resistencia a los antibióticos (Sosa 2000, Thompson y Kla 2000, Quito 2001). Se ha registrado que al menos en Norteamérica, aproximadamente el 40% de los antibióticos producidos se utilizan en los animales y en la agricultura como aerosoles sobre árboles frutales para controlar o prevenir infecciones bacterianas. Además, los aerosoles pueden desplazarse grandes distancias y cubrir otros árboles o plantas que sirven de alimento a animales silvestres como los monos. Son bien conocidas las deficiencias que limitan a los entes reguladores en América Latina y el Caribe respecto al uso de medicamentos (Fefer 2000); Costa Rica no es la excepción y no cuenta con legislación que controle el uso no médico de los antibióticos (Tzoc 2002) por lo que suponemos que en nuestro medio los animales y su hábitat están en contacto permanente con antibióticos y por lo tanto sometidos a una presión de selección que favorece el desarrollo y persistencia de cepas resistentes (AdSolution 2002, Guerrero 2000). El agua también puede ser un vehículo facilitador de la resistencia, pues se han encontrado genes bacterianos de resistencia en aguas subterráneas cercanas a sitios donde se usan antibióticos en la crianza de cerdos como promotores de crecimiento (Quito 2001). Algunos de los sitios de muestreo de este estudio estuvieron cerca de criaderos de cerdos de este tipo, lo que contribuye a explicar el frecuente aislamiento de cepas resistentes. Además, actualmente en Costa Rica ninguno de los hospitales del sector público cuenta con sistemas de tratamiento de aguas residuales, las cuales son vertidas directamente en el alcantarillado sanitario o en cuerpos de aguas superficiales; en ambos casos, estas aguas llegarán a afluentes mayores sin ningún tratamiento (Tzoc 2002). Todo esto está contribuyendo a que el entorno en el que habitan los monos esté contaminado con antibióticos y por ende, con cepas que portan resistencia para combatirlos. En Costa Rica, han sido aisladas bacterias resistentes a algunos antibióticos a partir de las hojas de los árboles donde viven los monos, así como de ríos cercanos (García F, comunicación personal). Aunque los monos no bajan a tomar agua a los ríos, otros animales que conviven con ellos sí lo hacen, lo que puede contribuir a extender el fenómeno de la resistencia antimicrobiana. Los resultados de esta investigación apoyan estas hipótesis.

Este estudio constituye el primer informe sobre la flora bacteriana oral de monos en Costa Rica y es una contribución importante para el conocimiento y preservación de

estos animales. Además, es una evidencia de que el uso indiscriminado de antimicrobianos y el desarrollo de resistencia no se limita a la clínica humana, sino que compromete todo su entorno.

V. FIGURAS

FIGURA 1

Distribución de *Alouatta palliata* por áreas silvestres protegidas, según base de datos de Conservación de The Nature Conservancy.

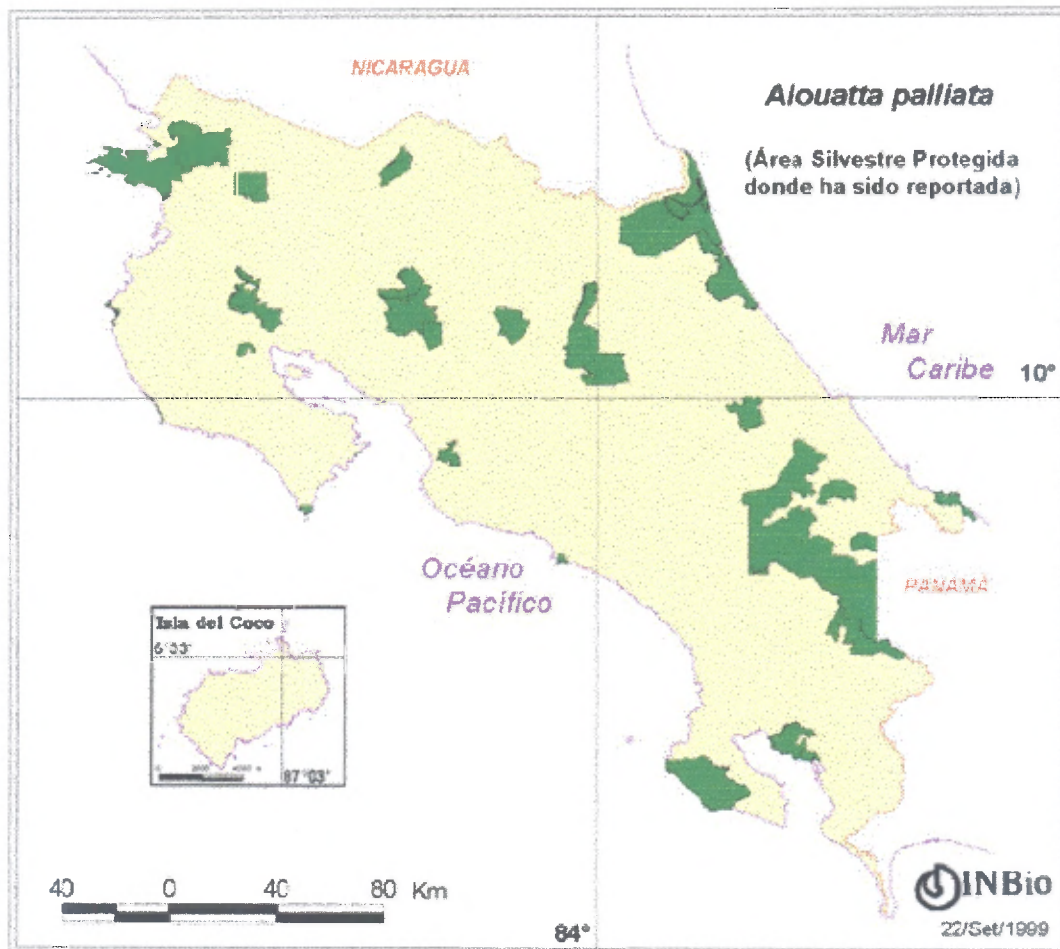


FIGURA 2

Distribución de *Ateles geoffroyi* por áreas silvestres protegidas, según base de datos de Conservación de The Nature Conservancy.

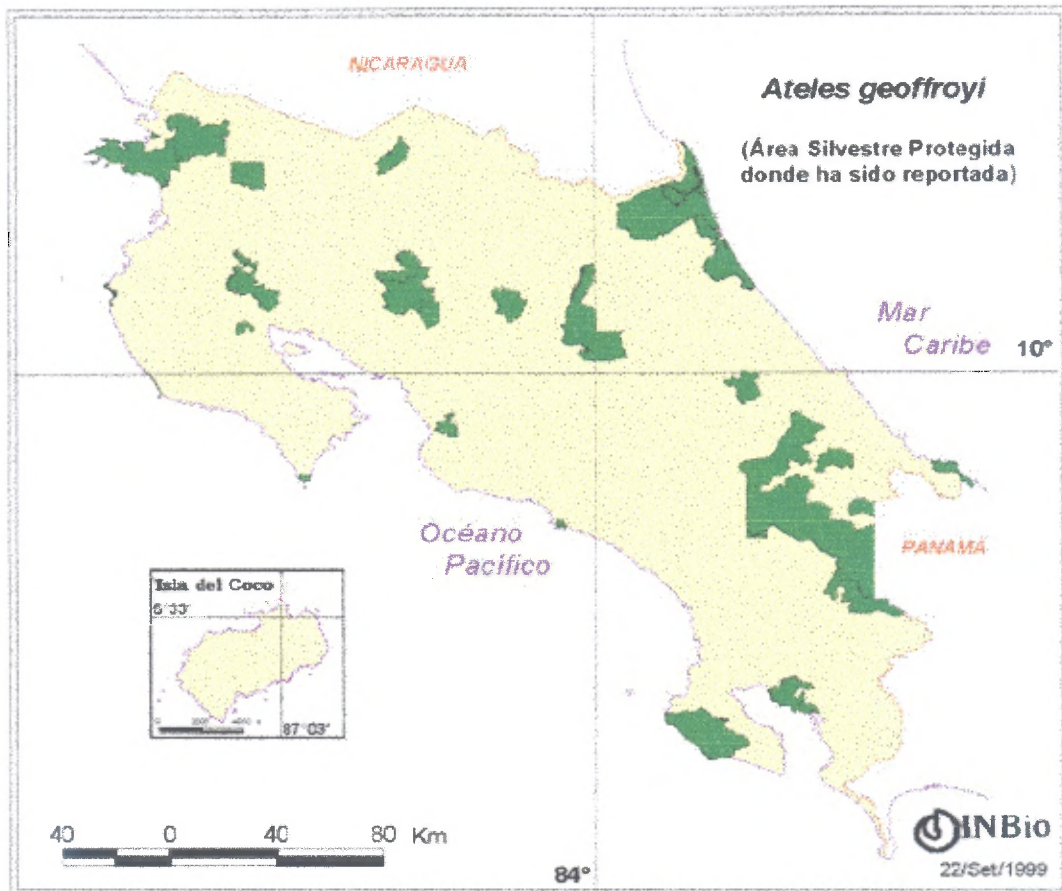


FIGURA 3

Bacterias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

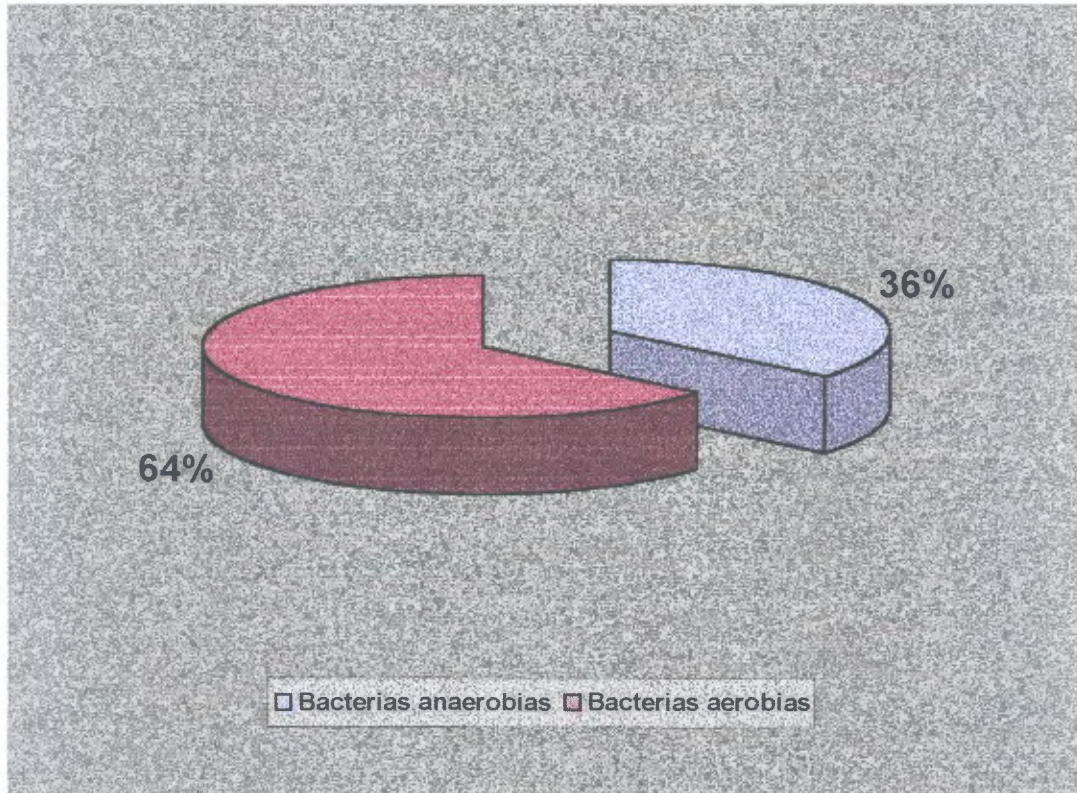


FIGURA 4

Bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

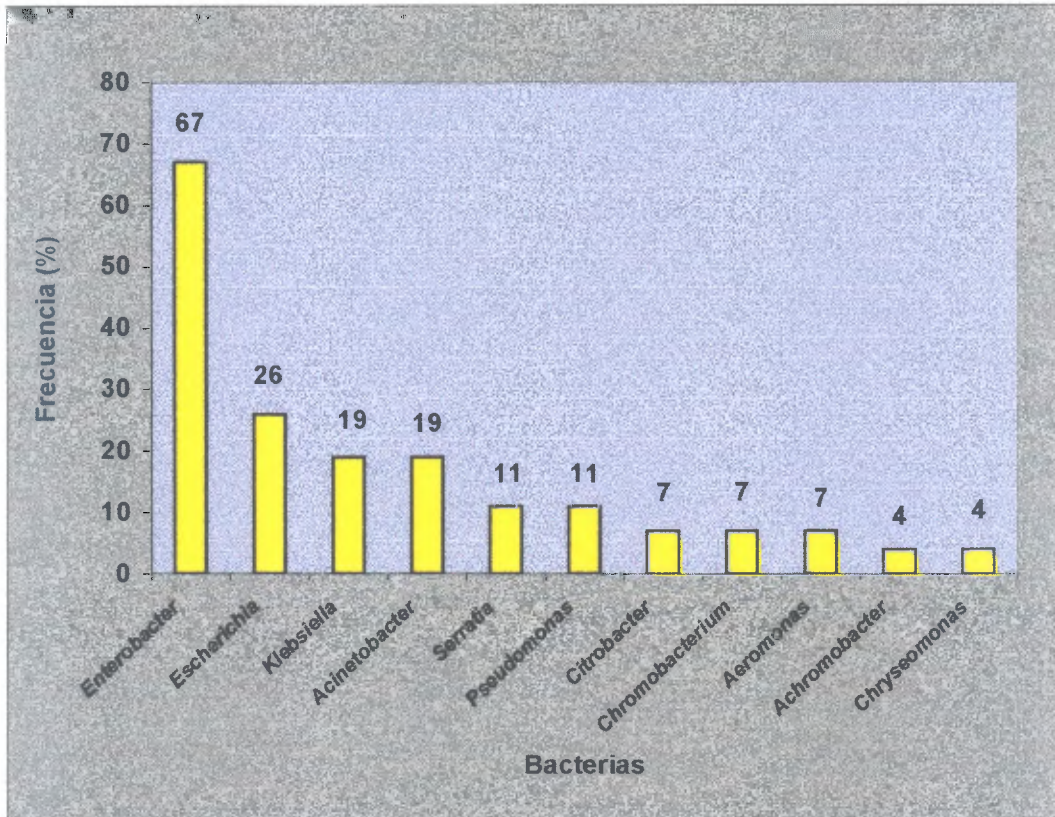


FIGURA 5

Cocos Gram positivos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

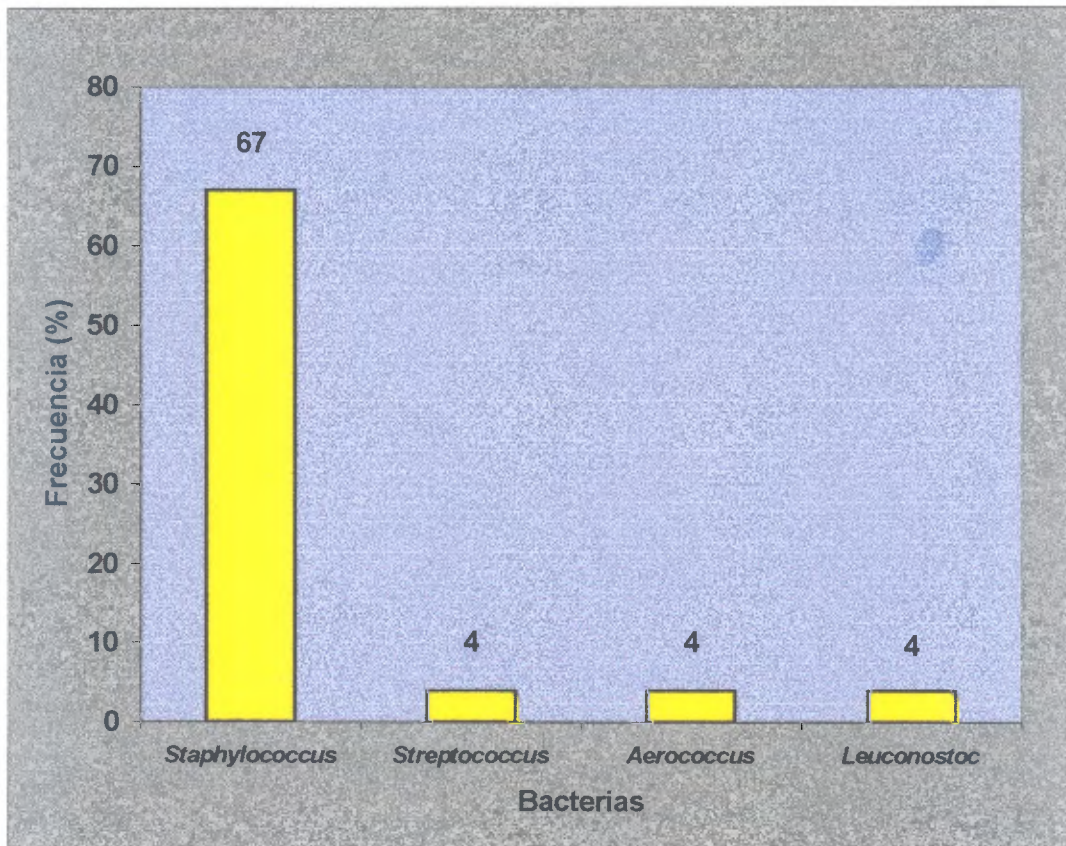


FIGURA 6

Bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

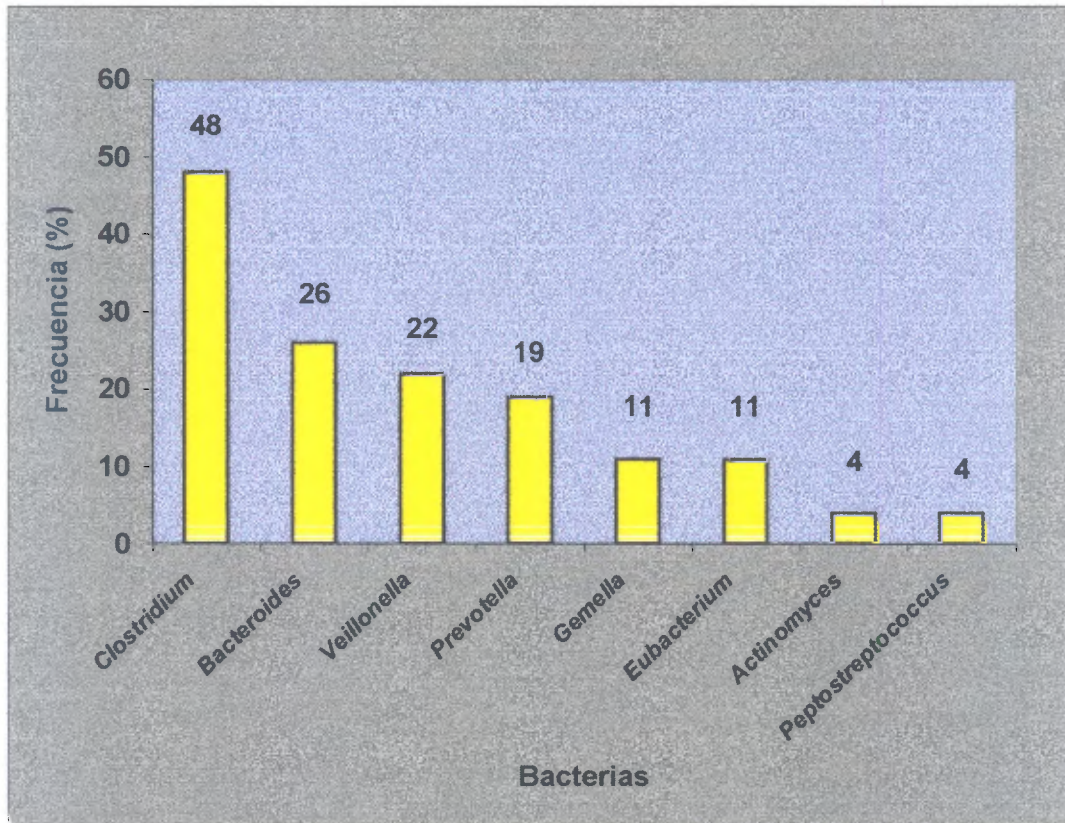


FIGURA 7

Resistencia a los antimicrobianos de 49 bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

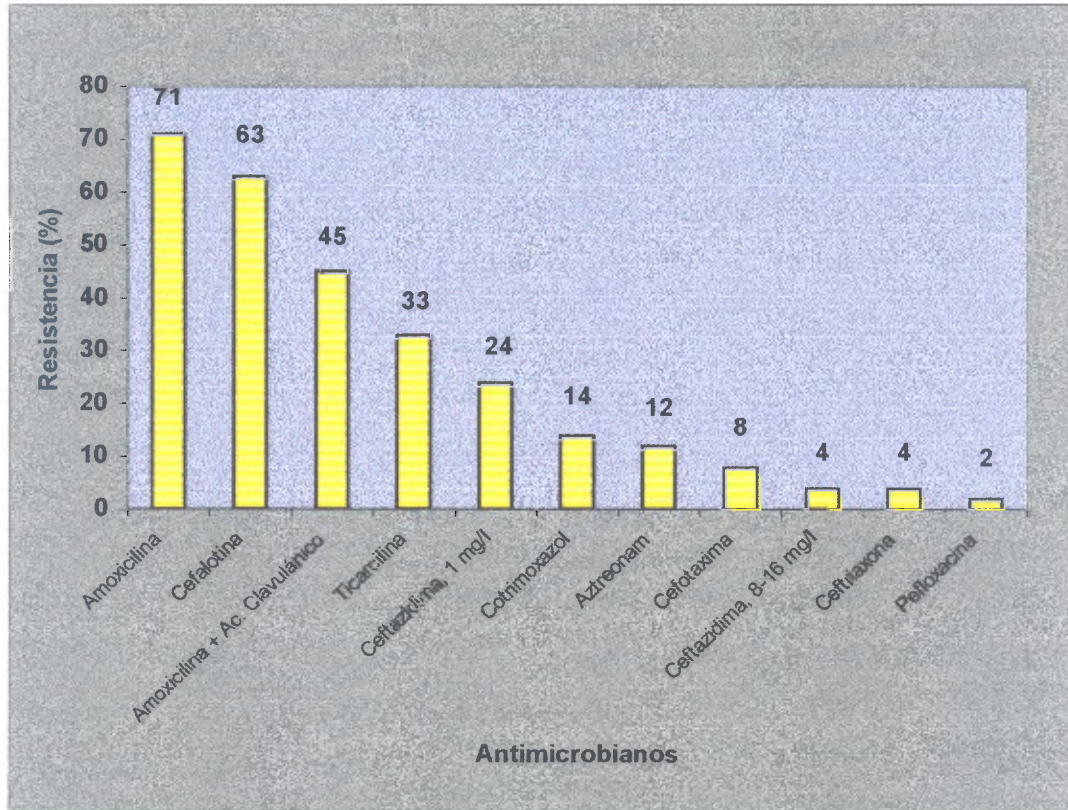


FIGURA 8

Resistencia a los antimicrobianos de 18 *Staphylococcus* sp aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

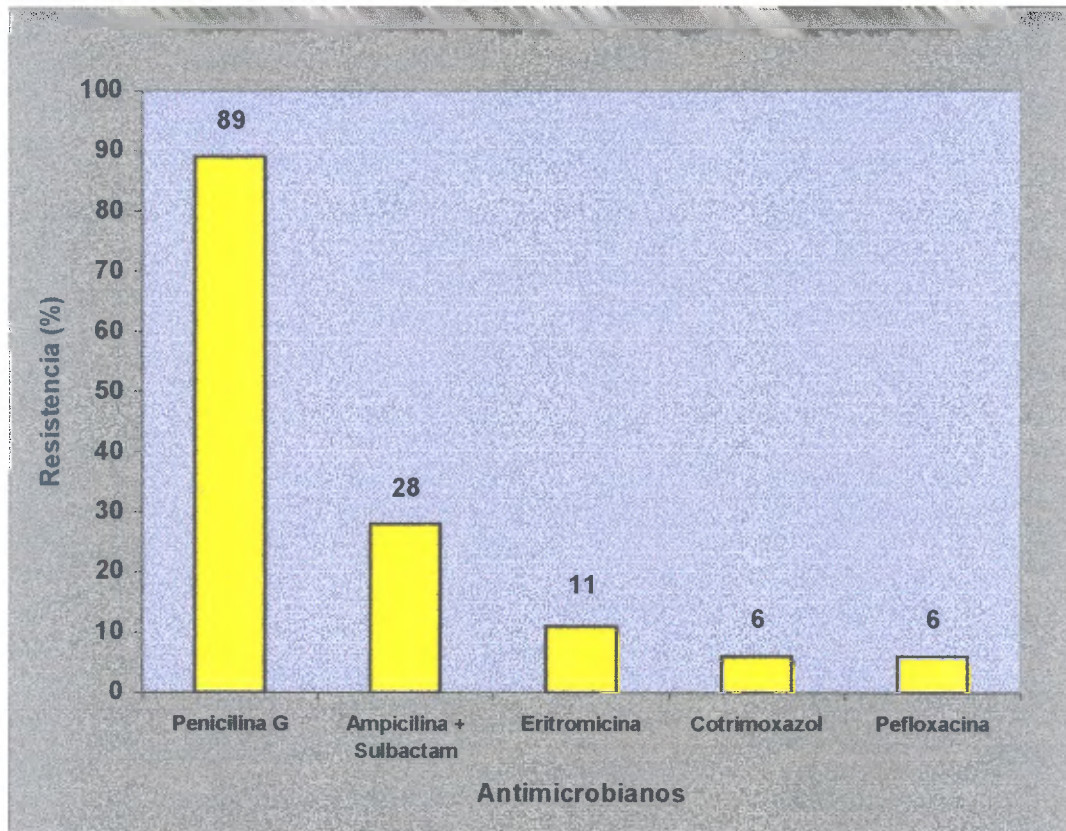


FIGURA 9

Resistencia a los antimicrobianos de 39 bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

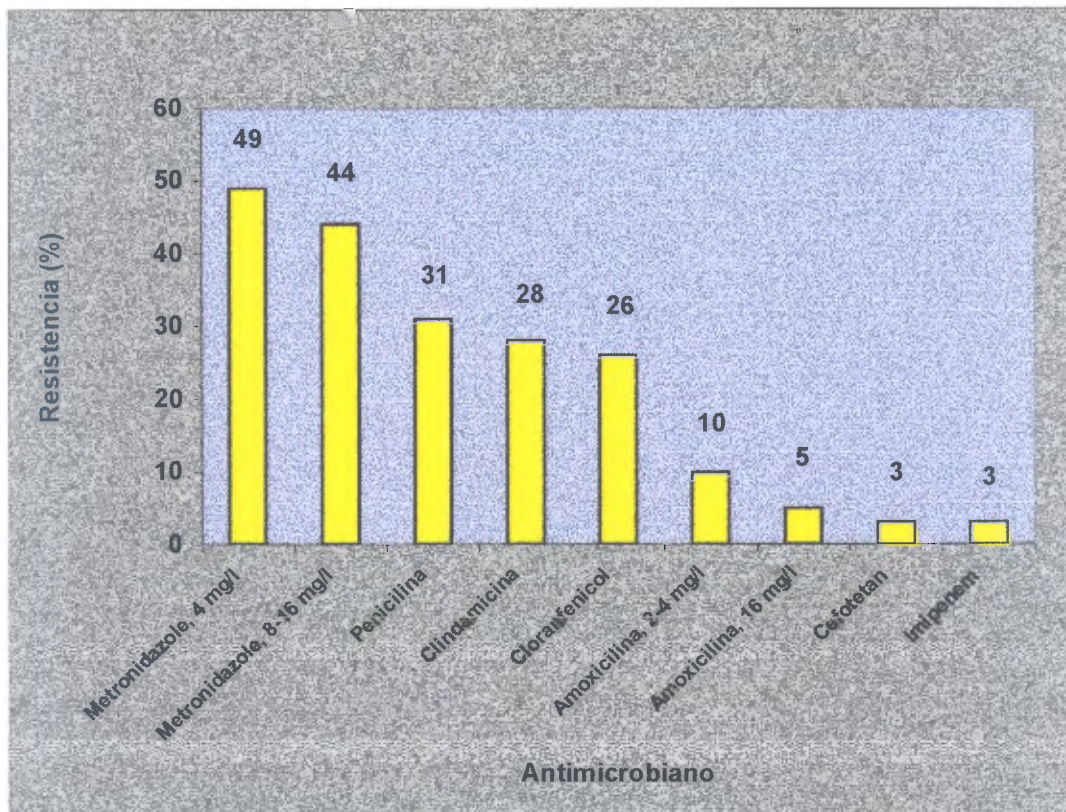


FIGURA 10

Resistencia múltiple de 49 bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

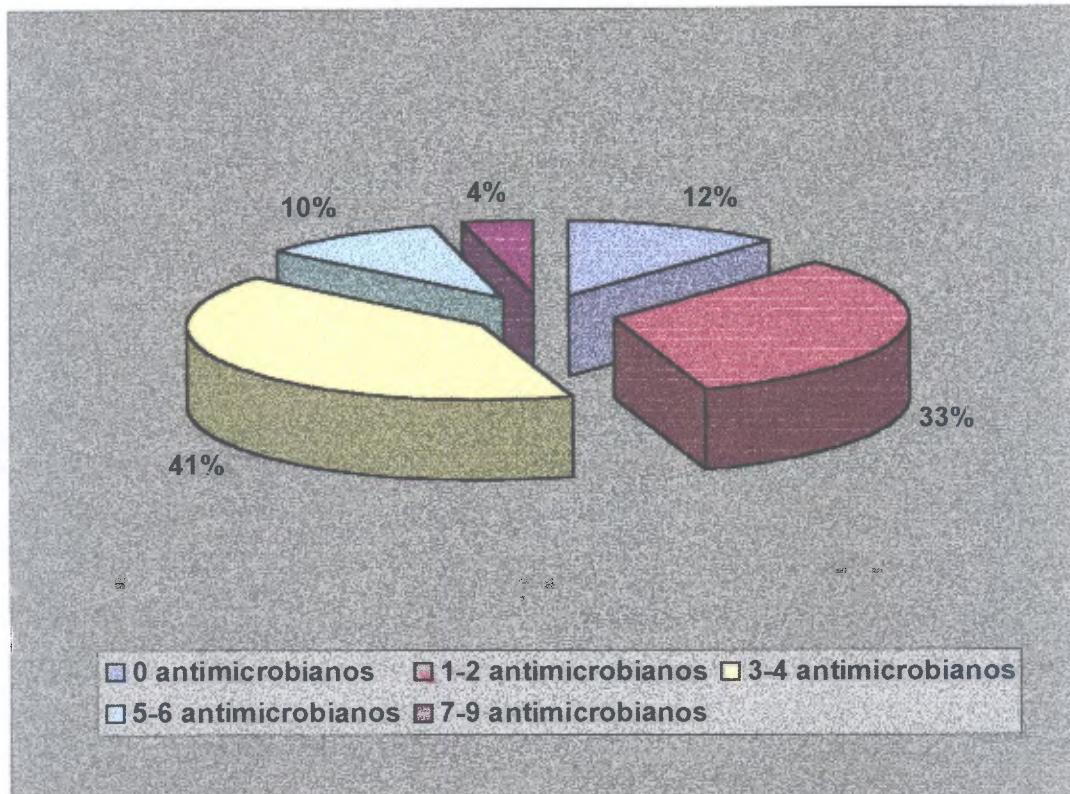


FIGURA 11

Resistencia múltiple de 18 *Staphylococcus* sp aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

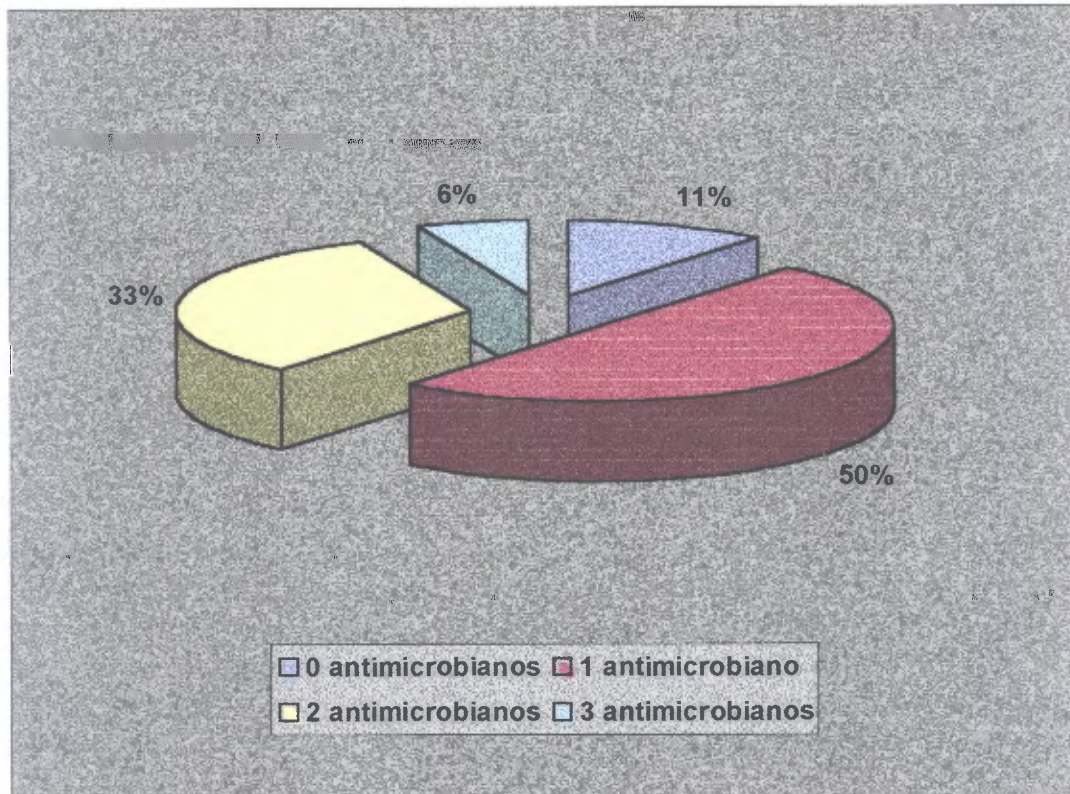
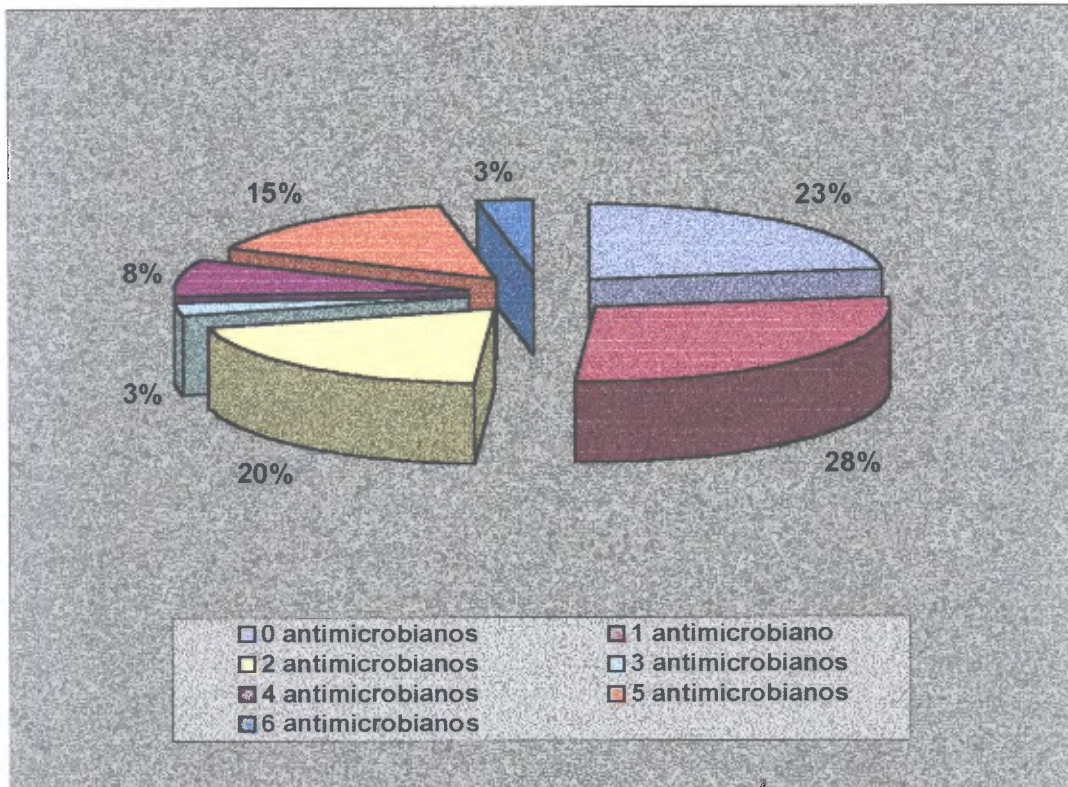


FIGURA 12

Resistencia múltiple de 39 bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).



VI. CUADROS

CUADRO 1

Distribución de muestras de cavidad oral de monos, según área geográfica y sexo de los animales.

Lugar	Machos	Hembras	Total de muestras
Chomes	4	5	9
Cahuita	1	0	1
Cahuita	2	1	3
San Ramón	1	0	1
Limón	0	4	4
Palo Verde	3	6	9
Total	11	16	27

CUADRO 2

Antibióticos incluidos en la galería comercial ATB G5 para la prueba de sensibilidad a antibióticos de los bacilos Gram negativos aerobios.

Antibiótico	Abreviatura	Concentración (mg/l)
Amoxicilina	AMO	8-16
Amox. + Ac .Clavulánico	AMC	8/4 – 16/8
Piperacilina	PIC	16-64
Piperacilina+ tazobactam	TZP	16/4 – 64/4
Ticarcilina	TIC	16
Cefalotina	CFT	8
Cefotaxima	CTX	8-32
Ceftriaxona	CRO	8-32
Ceftazidima I	CAI	1
Ceftazidima	CAZ	8-16
Aztreonam	ATM	8
Imipenem	IMI	4
Cotrimoxazol	TSU	2-8
Tobramicina	TOB	4
Amikacina	AKN	16
Gentamicina	GEN	4
Netilmicina	NET	8
Pefloxacina	PEF	2-4
Ciprofloxacina	CIP	1-2

CUADRO 3

Antibióticos incluidos en la galería comercial ATB-Staph para la prueba de sensibilidad a antibióticos de *Staphylococcus* sp.

Antibiótico	Abreviatura	Concentración (mg/l)
Penicilina G	PEN	0.12
Cefalotina	CFT	8-16
Ampicilina + Sulbactam	FAM	8-16
Gentamicina	GEN	4-8
Netilmicina	NET	8-16
Eritromicina	ERY	0.5-4
Clindamicina	CLI	0.5-2
Pefloxacina	PEF	2-4
Ciprofloxacina	CIP	1-2
Tetraciclina	TET	4-8
Cotrimoxazol	TSU	2
Nitrofurantoína	FUR	32
Rifampicina	RFA	1-2
Vancomicina	VAN	4-16
Teicoplanina	TEC	8-16

CUADRO 4

Antibióticos incluidos en la galería comercial ATB-Strep para la prueba de sensibilidad a antibióticos de cocos Gram positivos aerobios, no *Staphylococcus* sp.

Antibiótico	Abreviatura	Concentración (mg/l)
Penicilina	PEP	0.06-1
Penicilina	PEE	8
Penicilina	PES	0.12-2
Ampicilina	AMPS	0.12-2
Ampicilina	AMPE	8
Cefalotina	CFT	8-16
Cefuroxima axetil	CXO	4-16
Piperacilina	PIC	16-64
Eritromicina	ERY	0.5-4
Clindamicina	CLI	0.5
Tetraciclina	TET	4
Cotrimoxazol	TSU	0.5-2
Rifampicina	RFA	1
Ciprofloxacina	CIP	1
Vancomicina	VAN	4
Teicoplanina	TEC	8
Nitrofurantoina	FUR	32
Gentamicina	GEH	500
Kanamicina HC	KAH	500

CUADRO 5

Antibióticos incluidos en la galería comercial ATB ANA para la prueba de sensibilidad a antibióticos de bacterias anaerobias.

Antibiótico	Abreviatura	Concentración (mg/l)
Amoxicilina	AMO	2-4
Amoxicilina	AMO16	16
Amox. + Ac. Clavulánico	AMC	4/2 – 8/4
Amox. + Ac. Clavulánico	AMC16	16/2
Penicilina	PEN	0.5-2
Piperacilina	PIC	32-64
Piperacilina + Tazobactam	TZP	32/4 – 64/4
Cefoxitina	CXT	16-32
Cefotexan	CTT	16-32
Imipenem	IMI	4-8
Clindamicina	CLI	2-4
Cloranfenicol	CMP	8-16
Metronidazole	MTR4	4
Metronidazole	MTR	8-16
Ticarcilina	TIC64	64
Ticarc. + Ac. Clavulánico	TCC	32/2 – 64/2

CUADRO 6

Bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Género	Total de cepas n=49	Frecuencia (%) n=27
<i>Enterobacter</i>	18	67
<i>Escherichia</i>	7	26
<i>Klebsiella</i>	5	19
<i>Acinetobacter</i>	5	19
<i>Serratia</i>	3	11
<i>Pseudomonas</i>	3	11
<i>Citrobacter</i>	2	7
<i>Chromobacterium</i>	2	7
<i>Aeromonas</i>	2	7
<i>Achromobacter</i>	1	4
<i>Chryseomonas</i>	1	4

CUADRO 7

Cocos Gram positivos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Género	Total de cepas n=21	Frecuencia (%) n=27
<i>Staphylococcus</i>	18	67
<i>Streptococcus</i>	1	4
<i>Aerococcus</i>	1	4
<i>Leuconostoc</i>	1	4

CUADRO 8

Bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Género	Tinción de Gram	Total de cepas n=39	Frecuencia
			(%) n=27
<i>Clostridium</i>	Bacilos Gram positivos	13	48
<i>Bacteroides</i>	Bacilos Gram negativos	7	26
<i>Veillonella</i>	Cocos Gram negativos	6	22
<i>Prevotella</i>	Bacilos Gram negativos	5	19
<i>Gemella</i>	Cocos Gram positivos	3	11
<i>Eubacterium</i>	Bacilos Gram positivos	3	11
<i>Actinomyces</i>	Bacilos Gram positivos	1	4
<i>Peptostreptococcus</i>	Cocos Gram positivos	1	4

CUADRO 9

Especies bacterianas aisladas de cavidad oral de monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Bacilos Gram negativos aerobios
<i>Acinetobacter</i> sp
<i>Chromobacterium violaceum</i>
<i>Chryseomonas luteola</i>
<i>Citrobacter div./amalonat.</i>
<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Enterobacter agglomerans</i>
<i>Enterobacter amnigenus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Serratia ficaria</i>
<i>Serratia marcescens</i>
Cocos Gram positivos aerobios
<i>Aerococcus viridans</i>
<i>Leuconostoc</i> sp
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus aureus/ S. Intermedius</i>
<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Staphylococcus lentus</i>
<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Streptococcus sanguis</i>

CUADRO 9
(Continuación)

Especies bacterianas aisladas de cavidad oral de monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Bacterias anaerobias
<i>Actinomyces naeslundii</i>
<i>Bacteroides capillosus</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Bacteroides merdae</i>
<i>Bacteroides ovatus</i>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>
<i>Clostridium beijerincki/butiricum</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>
<i>Clostridium cadaveris</i>
<i>Clostridium clodriiforme</i>
<i>Clostridium histolyticum</i>
<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordelii</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>
<i>Eubacterium lentum</i>
<i>Gemella morbillorum</i>
<i>Peptostrepto</i> sp
<i>Prevotella buccae</i>
<i>Prevotella denticola</i>
<i>Veillonella</i> sp

CUADRO 10

Resistencia a los antimicrobianos de 49 bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Antimicrobiano	Número	Resistencia (%)
Amoxicilina	35	71
Cefalotina	31	63
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	22	45
Ticarcilina	16	33
Ceftazidima, 1 mg/l	12	24
Cotrimoxazol	7	14
Aztreonam	6	12
Cefotaxima	4	8
Ceftriaxona	2	4
Ceftazidima, 8-16 mg/l	2	4
Pefloxacina	1	2
Piperacilina	0	0
Piperacilina + Tazobactam	0	0
Imipenem	0	0
Tobramicina	0	0
Amikacina	0	0
Gentamicina	0	0
Netilmicina	0	0
Ciprofloxacina	0	0

CUADRO 11

Resistencia a los antimicrobianos de 18 cepas de *Staphylococcus* sp. aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Antimicrobiano	Número	Resistencia (%)
Penicilina G	16	89
Ampicilina + Sulbactam	5	28
Eritromicina	2	11
Cotrimoxazol	1	6
Pefloxacina	1	6
Cefalotina	0	0
Gentamicina	0	0
Netilmicina	0	0
Clindamicina	0	0
Ciprofloxacina	0	0
Tetraciclina	0	0
Nitrofurantoína	0	0
Rifampicina	0	0
Vancomicina	0	0
Teicoplanina	0	0

CUADRO 12

Resistencia a los antimicrobianos de 39 bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Antimicrobiano	Número	Resistencia (%)
Metronidazole, 4 mg/l	19	49
Metronidazole, 8-16 mg/l	17	44
Penicilina	12	31
Clindamicina	11	28
Cloranfenicol	10	26
Amoxicilina, 2-4 mg/l	4	10
Amoxicilina, 16 mg/l	2	5
Cefotetan	1	3
Imipenem	1	3
Ticarcilina	1	3
Amoxicilina + Ac. Clavulánico, 4/2- 8/4 mg/l	0	0
Amoxicilina + Ac. Clavulánico, 16/2 mg/l	0	0
Piperacilina	0	0
Piperacilina + Tazobactam	0	0
Cefoxitina	0	0
Ticarcilina + Ac. Clavulánico	0	0

CUADRO 13

Resistencia múltiple de 49 bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Número de antimicrobianos	Cepas resistentes	Porcentaje
0	6	12%
1-2	16	33%
3-4	20	41%
5-6	5	10%
7-9	2	4%
Total	49	100%

CUADRO 14

Resistencia múltiple de 18 cepas de *Staphylococcus* sp. aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Número de antimicrobianos	Cepas resistentes	Porcentaje
0	2	11%
1	9	50%
2	6	33%
3	1	6%
Total	18	100%

CUADRO 15

Resistencia múltiple de 39 bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Número de antimicrobianos	Cepas resistentes	Porcentaje
0	9	23%
1	11	28%
2	8	20%
3	1	3%
4	3	8%
5	6	15%
6	1	3%
Total	39	100%

VII. BIBLIOGRAFIA

AdSolution (elmago@umailme.com). "Antibióticos". En: Monografias.com (<http://www.monografias.com/trabajos5/antibio/antibio.shtml>). 2002.

Aldridge, KE, Ashcraft, D, Cambre, K, Pierson, CL, Jenkins, SG & Rosenblatt, JE. Multicenter survey of the changing *in vitro* antimicrobial susceptibilities of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, and *Peptostreptococcus* species. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 45: 1238-43. 2001.

Allen, SD, Emery, CL & Moncla, BJ. *Clostridium*. In: Murray, PR (ed.). *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. ASM Press, Washington. 1999.

Barquero, M. Módulo sobre betalactamas. Departamento de Farmacología y toxicología clínica de la Escuela de Medicina, U.C.R., San José, Costa Rica. Pág. 6-29. 1996.

Bovre, K. Genus II *Moraxella*. In : Krieg, NR & Holt, JG (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.

Boyanova, L, Petrov, D, Osmanliev, D, Mitov, I, Usunova, I, Minchev, T, Goranov, E, Plochev, M & Dimitrov, J. Anaerobic Bacteriology in 75 Cases of Thoracic Empyema in Sofia, Bulgaria. *Anaerobe* 6: 81-85. 2000.

Cáceres, M, Carrera, E, Palma, A, Berrios, G, Weintraub, A & Nord, CE. Antimicrobial Susceptibility of Anaerobic and Aerobic Bacteria Isolated from Patients with Mixed Infections in Nicaragua. *Rev. Esp. Quimioter.* 12:332-9. 1999.

Cáceres, M, Zhang, G, Weintraub, A & Nord, CE. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in Children with Diarrhoea in Nicaragua. *Anaerobe* 6: 143-8. 2000.

Chartone, E. Las bacterias resistentes, una guerra casi perdida. *Revista de divulgación y tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy.* 23: 26-35. 1998.

Collin, MD & Cummins, CS. Genus *Corynebacterium*. In : Sneath, PHA (ed.). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1986.

Diniz, CG, Santos, SG, Pestana, CNR, Farias, LM & Carvalho, MAR. Chromosomal Breakage in the *B. fragilis* Group Induced by Metronidazole Treatment. *Anaerobe* 6: 149-53. 2000.

Elizondo, L (alherrer@inbio.ac.cr). "*Alouatta palliata*". En: Unidades básicas de información del INBio (<http://guest.guest@darnis.inbio.ac.cr/ubis/>). 1999.

Elizondo, L (alherrer@inbio.ac.cr). "*Ateles geoffroyi*". En: Unidades básicas de información del INBio (<http://guest.guest@darnis.inbio.ac.cr/ubis/>). 1999.

Engelkirk, PG & Duben-Engelkirk, J. Anaerobes of Clinical Importance. In: Mahon, CR & Manuselis, G. **Diagnostic Microbiology**, 2nd ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia. 2000.

Engelkirk, PG, Engelkirk JD & Dowell, VR. Susceptibility Testing, Chap. 10. In: **Principles and Practice of Clinical Anaerobic Bacteriology**. Star Publishing Company, Belmont. 1992.

Evans, JB. Genus *Aerococcus*. In : Sneath, PHA (ed.). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1986.

Fang, H, Hedberg, M, Edlung, C, Jarstrand, C, Fodor, E & Nord, CE. Characterization of β -lactam-resistant *Bacteroides fragilis* Isolates by Use of PCR Fingerprinting. *Anaerobe* 5: 11-8. 1999.

Fefer, E. Uso racional de medicamentos: políticas, reglamentación y normas regionales. En: Salvatierra-González, R & Benguigui, Y. (ed.). **Resistencia antimicrobiana en la Américas: Magnitud del problema y su contención**. Organización Panamericana de la Salud. Washington. 2000.

- Fix, D. "Antimicrobial chemotherapy". En: Bacteriology.com (<http://www.cehs.siu.edu/fix/med,icro/normal.htm>). 2002.
- Fundación Sira Carrasco. "Bacterias multirresistentes en fibrosis quística" (<http://www.fundacionfibrosisquistica.org>). 2002.
- Gamboa, MM, Rodríguez, E & Vargas, P. Diversidad de clostridios mesófilos en suelos de Costa Rica. Rev. Biol. Trop. Enviado. 2002.
- Garvie, EI. Genus *Leuconostoc*. In : Sneath, PHA (ed.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1986.
- Guerrero, L. " Una resistencia peligrosa" (<http://www.antibióticos125.htm>). 2000.
- Grimont, PAD & Grimont, F. Genus VIII. *Serratia*. In : Krieg, NR & Holt, JG (ed.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.
- Hall, GS. Nonfermenting Gram-Negative Bacilli and Miscellaneous Gram-Negative Rods. In: Mahon, CR & Manuselis, G. Diagnostic Microbiology, 2nd ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia. 2000.
- Hecht, DW. Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. In: Murray, PR (ed.). Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. ASM Press, Washington. 1999.
- Hudspeth, M, Hunt, G, Maiden, M, Citron, D & Goldstein, E. Characterization of *Bacteroides forsythus* strains from cat and dog bite wounds in humans and comparison with monkey and human oral strains. Journal of Clinical Microbiology. 37: 2003-6. 1999.
- Isenberg, HD & D'Amato, RF. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. In: Murray, PR (ed.). Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. ASM Press, Washington. 1995.

Janzen, D, Wilson, D. Mamíferos, Cap. 9. En: Historia natural de Costa Rica, 1^{era} ed. San José, Costa Rica. 1991.

Jawetz, E, Melnick, J & Adelberg, E. Agentes antibacterianos, Cap. 10. En: Microbiología médica, 15^a ed. México D.F. 1996.

Jousimies-Somer, H, Summanen, PH & Finegold, SM. *Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium*, and Other Anaerobic Gram-Negative Rods and Cocci. In: Murray, PR (ed.) Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. ASM Press, Washington. 1999.

Juni, E. Genus III. *Acinetobacter*. In : Krieg, NR & Holt, JG (ed.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.

Kandler, O & Weiss, N. Genus *Lactobacillus*. In : Sneath, PHA (ed.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1986.

Láñez, E. "Resistencia a antibióticos". En: Microbiología.com (<http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/microlinks.html>). 1998.

Mejía, GI, Botero, A, Rojas, W & Robledo, JA. Refractory Periodontitis in a Colombian Population: Predominant Anaerobic Bacterial Flora and Antibiotic Susceptibility. Clin. Infec. Dis. 20: S311-3. 1995.

Montiel, F. Flora Normal. Boletín Escuela de Medicina. Chile. 26: 133-139. 1997.

Moore, WEC, Holdeman, LV & Kelley, RW. Genus II *Fusobacterium*. In : Krieg, NR & Holt, JG (ed.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.

Morera, R. Uso de hábitats y plantas importantes en la alimentación de los monos congos (*Alouatta palliata*) y carablancas (*Cebus capuchinos*) en el bosque tropical seco. Tesis de maestría, Universidad Nacional, 1996.

Nagy, E, Soki, J, Urban, E, Szoke, I, Fodor, E & Edwards, E. Occurrence of Metronidazole and Imipenem Resistance among *Bacteroides fragilis* group clinical Isolates in Hungary. *Acta Biol. Hung.* 52:271-80. 2001.

Palleroni, NJ. Genus I. *Pseudomonas*. In : Krieg, NR & Holt, JG (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.

Popoff, M. Genus III. *Aeromonas*. In : Krieg, NR & Holt, JG (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.

Quesada, J & Del Pino, M. "Antibióticos". En: *La revista palabra* (<http://averroes.cec.junta-andalucia.es/~23002413/palabra/18/antibioticos.htm>) . 2001.

Quito. "OGM y resistencia". En: *Boletín No. 70* (<http://www.eurekaalert.org/releases/uiuc-arg043001.html>). 2001.

Reid, W, Laird, S, Meyer, C, Gámez, R, Sittenfeld, A, Janzen, D, Gollin, M & Juma, C. *La prospección de la biodiversidad: el uso de los recursos genéticos para el desarrollo sostenible*, 1ª ed.. San José, Costa Rica. Pág. 61- 62. 1994.

Rojas, N. *Infecciones bacterianas en piel, tejidos blandos, articulaciones y huesos*. Cátedra de Bacteriología Médica, U.C.R., San José, Costa Rica. Pág. 21- 25. 1999.

Rodloff, AC, Hillier, SL & Moncla, BJ. *Peptostreptococcus, Propionibacterium, Lactobacillus, Actinomyces* and Other Non-Spore-Forming Anaerobic Gram-Positive Bacteria. In: Murray, PR (ed.) *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. ASM Press, Washington. 1999.

Rodríguez, E, Gamboa, MM & Fernández B. Clostridios mesófilos en suelos de la Meseta Central de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 41:365-9. 1993

Sakasaki, R. Genus IV. *Citrobacter*. In: Krieg, NR & Holt, JG (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.

Sánchez, R. Utilización del hábitat, comportamiento y dieta del mono congo (*Alouatta palliata*) en un bosque premontano húmedo. Tesis de maestría, Universidad Nacional, 1991.

Shoemaker, NB, Vlamakis, H, Hayes, K & Salyers, AA. Evidence for Extensive Resistance Gene Transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and Other Genera in the Human Colon. *Appl. Environm. Microbiol.* 67 : 561-568. 2001

Sneath, PHA. Genus *Chromobacterium*. In: Krieg, NR & Holt, JG (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.

Sosa, A. La Alianza para el Uso Prudente de los antibióticos. Resistencia a los antibióticos en América Latina. . En: Salvatierra-González, R & Benguigui, Y. (ed.). Resistencia antimicrobiana en la Américas: Magnitud del problema y su contención. Organización Panamericana de la Salud. Washington. 2000.

Sullivan, J (webmaster@acguenecaste.ac.cr). "*Alouatta palliata*". En: Bosque seco virtual del área de conservación Guanacaste (http://www.acguanacaste.ac.cr/bosque_seco_virtual/bs_web_page/paginas_de_especies/alouatta_palliata.html). 2002.

Sullivan, J (webmaster@acguenecaste.ac.cr). "*Ateles geoffroyi*". En: Bosque seco virtual del área de conservación Guanacaste (http://www.acguanacaste.ac.cr/bosque_seco_virtual/bs_web_page/paginas_de_especies/ateles_geoffroyi.html). 2002.

Thompson, SR & Kla, JM. Uso veterinario de antimicrobianos en la producción pecuaria en América del Norte, América Latina y el Caribe. En: Salvatierra-González, R. & Benguigui, Y. (ed.). Resistencia antimicrobiana en América: Magnitud del problema y su contención. Organización Panamericana de la Salud. Washington. 2000.

Todar, K. "Normal flora of the human oral cavity". In: The bacterial flora of humans (<http://www.bact.wisc.edu/Bact303>). 2002.

Tzoc, E. Influencia de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas* sp. en el cuerpo receptor. Tesis de maestría, Universidad de Costa Rica, 2002.

Universidad de Oviedo. "Monitorización de la resistencia a antibióticos en bacterias orales". En: Laboratorio de microbiología oral (<http://www.uniovi.es/~microral/monitori.htm>). 2002.

Vergeest, F. The influence of tourism on the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*) in Cabo Blanco, Costa Rica. Report nr. 3031, Wageningen Agricultural University, 1992.

Wojcik-Stojek, B, Bulanda, M, Martirosian, G, Heczko, P & Meisel-Mikolajczyk, F. *In vitro* Antibiotic Susceptibility of *Bacteroides fragilis* Strains Isolated from Excised Appendix of Patients with Phlegmonous or Gangrenous Apendicitis. Acta Microbiol. Pol. 49: 171-5. 2000.