

SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN FECAL AISLADAS DE AGUAS Y SEDIMENTOS MARINOS DE PLAYAS DE LA ISLA DE MARGARITA, VENEZUELA

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF FAECAL POLLUTION INDICATOR BACTERIA ISOLATED FROM MARINE WATER AND SEDIMENTS AT BEACHES ON MARGARITA ISLAND, VENEZUELA

YEISY CASTAÑEDA R.¹, PEDRO LÓPEZ GUAIMACUTO², YUDI FIGUEROA R.¹, JOSÉ LUIS FUENTES Z.²

¹Escuela de Ciencias, Departamento de Biología, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

²Centro Regional de Investigaciones Ambientales (CRIA), Núcleo de Nueva Esparta, Universidad de Oriente

E-mail: plopez@ne.uo.edu.ve

RESUMEN

Se determinó la susceptibilidad a antibióticos de bacterias indicadoras de contaminación fecal aisladas de aguas y sedimentos marinos de cuatro playas de la Isla Margarita, noreste de Venezuela. Los ensayos de susceptibilidad se realizaron usando las técnicas de difusión en agar y la de dilución seriada en caldo (Concentración Mínima Inhibitoria, CMI), probándose cinco antibióticos (Ampicilina, Eritromicina, Cefotaxima, Cefepime y Levofloxacina). Se aislaron 133 cepas, 92 de muestras de agua y 41 de sedimento. Se identificaron 12 especies: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus equinus*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter diversus*, *Enterococcus faecalis*, *Providencia alcalifaciens*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans* y *Serratia marcescens*. Todas las especies aisladas fueron resistentes a la ampicilina. El 100% de las especies resultaron ser resistentes a la eritromicina, excepto *S. marcescens* y *E. equinus*. *E. faecalis* y *E. equinus* mostraron 100% de resistencia tanto al cefepime como a la cefotaxima, mientras que *K. pneumoniae* fue resistente sólo a este último. *H. alvei* y *E. cloacae* presentaron altos porcentajes de sensibilidad al cefepime; *S. marcescens* mostró una marcada sensibilidad a las cefalosporinas (cefepime y cefotaxima). Las cepas estudiadas mostraron valores de sensibilidad a la levofloxacina mayores al 90%. El Anova indicó diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) en las CMI de los fármacos usados frente a las especies *E. aerogenes*, *C. diversus*, *E. coli*, *E. equinus*, *E. faecalis* y *K. pneumoniae*; diferencias muy significativas ($p < 0,01$) para las especies *C. freundii* y *H. alvei* y diferencias significativas ($p < 0,05$) para *E. cloacae*. La levofloxacina fue el antibiótico más eficaz.

PALABRAS CLAVE: Susceptibilidad a antibióticos, bacterias, enterobacterias, enterococos.

ABSTRACT

The occurrence and antibiotic susceptibility of faecal indicator bacteria isolated from water and sediments at four beaches on Margarita Island, Venezuela were determined. Susceptibility was evaluated using the agar diffusion and broth dilution techniques (Minimal Inhibitory Concentration, MIC). The antibiotics tested were ampiciline, erythromicine, cefotaxime, cefepime and levofloxacin. Overall, 133 strains were isolated, 92 from water and 41 from sediments and 12 species were identified: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus equinus*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter diversus*, *Enterococcus faecalis*, *Providencia alcalifaciens*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, and *Serratia marcescens*. All the identified species were resistant to ampiciline. Only *S. marcescens* and *E. equinus* were susceptible (100 and 85.71%) to erythromicine. *E. faecalis* and *E. equinus* were 100% resistant to cefepime and cefotaxime, while *K. pneumoniae* was susceptible to all the antibiotics except cefotaxime. *H. alvei* and *E. cloacae* were highly susceptible to cefepime. *S. marcescens* was highly susceptible to cefepime and cefotaxime. All of the strains were susceptible to levofloxacin (90% or more). The ANOVA indicated highly significant differences ($p < 0.001$) for the MIC's of the antibiotics used against *E. Aerogenes*, *C. diversus*, *E. coli*, *E. equinus*, *E. faecalis* y *K. pneumoniae*, very significant differences ($p < 0.01$) for *C. freundii* and *H. alvei*, and significant differences ($p < 0.05$) for *E. cloacae*. Levofloxacin was the most efficient antibiotic among those tested.

KEY WORDS: Antibiotic susceptibility, coliform, enterobacteria, enterococci.

INTRODUCCIÓN

La calidad sanitaria de aguas recreacionales y de

bebidas frecuentemente se basan solo en la enumeración de las bacterias indicadoras (coliformes totales, coliformes fecales y enterococos), con relativamente pocos intentos

sobre el estudio del espectro de resistencia a antibióticos a pesar de su importancia en la salud pública (Morgan *et al.* 1976). Tal tipo de estudios puede contribuir de manera significativa al entendimiento de la resistencia a antibióticos en ambientes acuáticos y los potenciales riesgos ambientales y a la salud de las personas expuestas (Watkinson *et al.* 2007). La Organización Mundial de la Salud considera que la exposición a microorganismos patógenos en aguas recreacionales es inaceptable, más aún si hay posibilidad que estos porten o transmitan resistencia a los antimicrobianos (WHO 2003).

El uso indiscriminado de los antibióticos en prácticas médicas, veterinarias y pecuarias contribuye a la dispersión de bacterias resistentes (Butaye *et al.* 2001; Zambrano *et al.* 2002). Adicionalmente, es común que los centros de atención en salud, especialmente los hospitales, viertan sus aguas residuales a la red pública y se constituyan en importantes focos de contaminación, ocasionando un fuerte impacto en la composición física, química y principalmente biológica del agua (Ferreira da Silva *et al.* 2005).

Esas descargas líquidas ejercen una presión selectiva sobre la biota presente en los cuerpos receptores, contribuyendo a la selección de microorganismos con patrones de resistencia múltiple a antibióticos, ya sea por la presencia de estas drogas en las descargas o por la transmisión de factores de resistencia hacia las bacterias (Sandaa y Enger 1994).

Este trabajo tuvo como finalidad evaluar la susceptibilidad a antibióticos de bacterias indicadoras de contaminación fecal aisladas de aguas y sedimentos de cuatro playas de la Isla de Margarita, Venezuela, las cuales se caracterizan por ser de gran afluencia turística durante todo el año, siendo esta condición de relevancia para la economía regional.

METODOLOGÍA

Área de Estudio

Durante un periodo de seis meses (julio a diciembre 2004) se realizaron muestreos en cuatro playas de la Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, noreste de Venezuela. Las playas donde se procedió a tomar las muestras fueron: El Agua (11°09'55" N, 63°50'40" O), Parguito (11°08'50" N, 63°49'58" O), Guacuco (11°03'20" N, 63°47'00" O) y El Yaque (10°54'20" N, 63°56'20" O) (Figura 1).

Colección de las Muestras

En las playas objeto de estudio se seleccionaron, dependiendo de la longitud de estas, tres o cuatro estaciones, equidistantes, colectándose muestras de agua y sedimentos. Las muestras de agua fueron tomadas con envases estériles de vidrio de 250 ml de capacidad, a una profundidad de 20 a 30 cm por debajo de la superficie y entre 15 y 20 m perpendicular a la orilla. Las muestras de sedimentos se colectaron de los 10 primeros cm de profundidad mediante un tubo de polivinilo (PVC 10 cm de Ø y 14 de longitud), las mismas fueron colocadas en bolsas plásticas de 100 g y de cierre hermético, previamente identificadas. Todas fueron transportadas en cavas con hielo al laboratorio de Microbiología del Centro Regional de Investigaciones Ambientales (CRIA), Universidad de Oriente, Núcleo de Nueva Esparta, donde se realizaron los análisis respectivos.

Aislamiento e Identificación Bacteriana

Las cepas provenientes de las muestras de agua se aislaron directamente de filtros de membrana en agar Chromocult (Merck), mientras que las cepas de sedimentos se aislaron de los tubos positivos de la prueba confirmatoria en caldo verde bilis brillante (Merck) y caldo enterococos (Merck).

Las cepas se purificaron mediante siembras sucesivas en medios selectivos agar EMB (Merck), para coliformes totales y fecales y agar streptococcus KF (Millipore) para enterococos. En ambos casos, en las colonias bacterianas desarrolladas se observó características macroscópicas, tales como: forma, color, borde, centro, superficie y elevación. La identificación se realizó mediante la aplicación de pruebas bioquímicas diferenciales convencionales, usando las tablas y claves del Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.* 1994).

Prueba de Susceptibilidad a Antibióticos

El efecto de los antibióticos sobre las diferentes cepas bacterianas se determinó mediante dos técnicas: (1) difusión en agar o antibiograma (Bauer *et al.* 1966) y (2) Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (Sacaquispe Velásquez 2002).

En la prueba difusión en agar o antibiograma se usaron discos comerciales de los antibióticos ampicilina (10 µg), cefotaxima (30 µg), cefepime (30 µg), levofloxacin (5 µg) y eritromicina (15 µg).

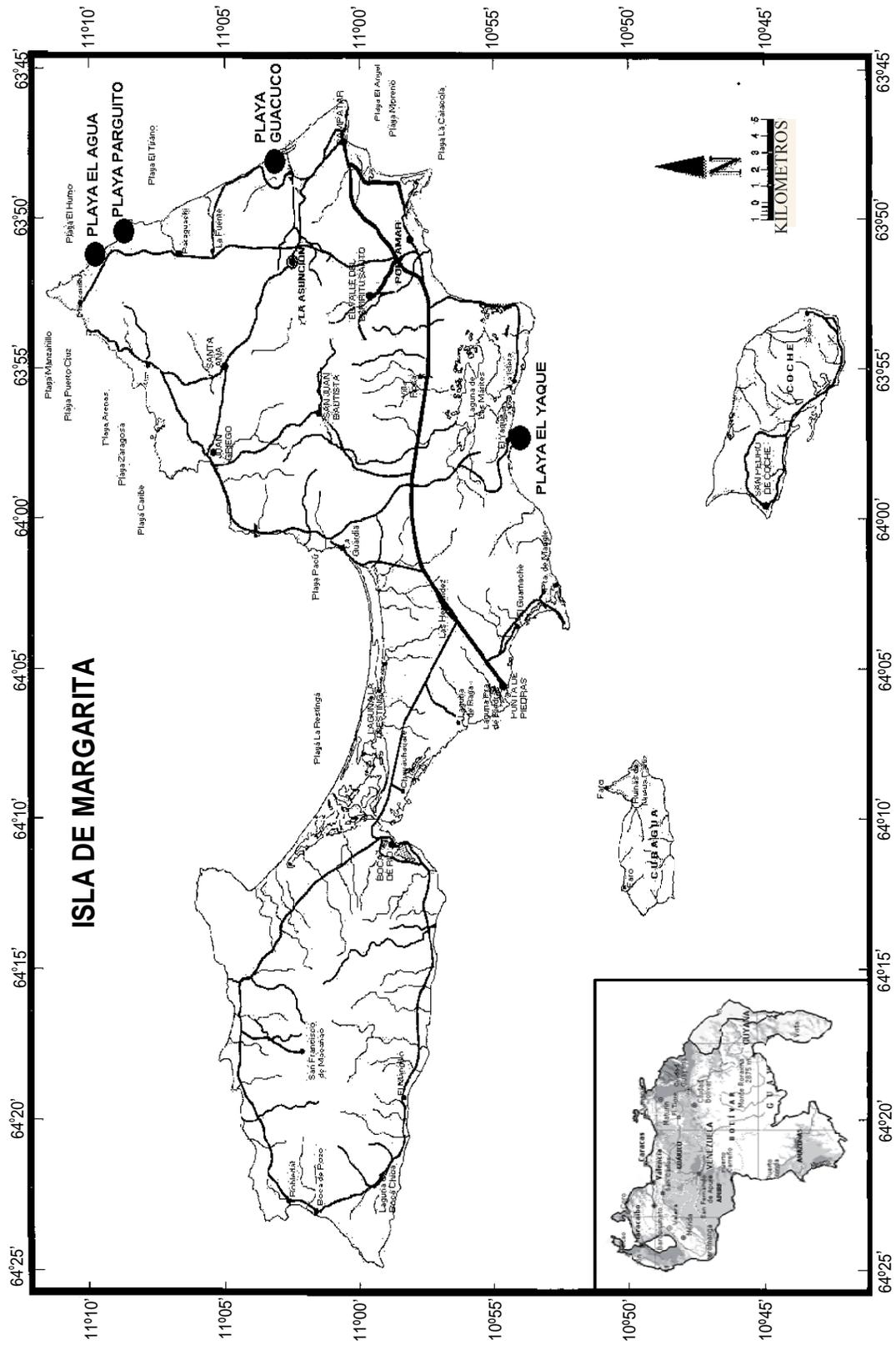


Figura 1. Ubicación geográfica e las playas (●) El Agua, Guacuco, El Yaque y Parguito en las isla de margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

La CMI se determinó por el método de dilución seriada en caldo. En esta prueba se usaron los mismos antibióticos antes mencionados en la técnica de difusión en agar, pero a una concentración de 500 mg. Para tal efecto se prepararon, por separado, soluciones stock de estos antibióticos en caldo Mueller Hinton (Himedia) estéril y, a partir de estas soluciones, se realizaron diluciones seriadas de concentraciones 40, 30, 20, 15, 10 y 5 µg/ml y un tubo control que no contenía antibiótico. Los rangos de susceptibilidad se establecieron siguiendo los criterios de Sacaquispe y Velásquez (2002).

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de variancia (ANOVA) de una vía para comparar las CMI de cada antibiótico con respecto a las especies aisladas (Sokal y Rohlf 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron 133 cepas bacterianas de las cuales 92 provenían de muestras de agua de mar y 41 de sedimentos.

El 91,0 % de las cepas aisladas fueron bacilos gramnegativos y el 9,0 % estreptococos grampositivos. En las muestras de agua se identificaron 12 especies: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *E. agglomerans*, *Enterococcus equinus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *C. diversus*, *P. alcalifaciens*, *H. alvei* y *S. marcescens*. (Tabla 1).

En las muestras de sedimentos se identificaron nueve especies: *E. aerogenes*, *C. diversus*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *H. alvei*, *P. alcalifaciens*, *E. equinus* y *E. faecalis*.

En general, tanto para las muestras de agua como para las de sedimento, las especies de mayor porcentaje de aislamiento fueron *E. coli*, seguida de *E. aerogenes* y de *K. pneumoniae*. La Tabla 1, resume las especies bacterianas y su frecuencia de aislamiento en los diferentes sitios de muestreo.

Susceptibilidad a Antibióticos

Con la técnica de difusión en agar, se pudo determinar que las especies exhibieron resistencia a la ampicilina (100%). De la Parte-Pérez *et al.* (2001) mencionaron que la resistencia a la ampicilina se ha mantenido a lo largo de décadas en cifras superiores al 90%. Andersen (1993) y Harwood *et al.* (2000) detectaron un porcentaje

significativo de cepas de coliformes de origen humano que fueron resistentes a los antibióticos de la familia de los betalactámicos, entre ellos la ampicilina. Silva *et al.* (2005) aislaron cepas de cinco especies diferentes de enterococos: *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. durans* y *E. gallinarum*, y observaron de manera general una resistencia moderada a la ampicilina. Los trabajos antes mencionados, concuerdan en gran parte con los obtenidos en el presente estudio.

Los β-lactámicos siguen siendo los antimicrobianos más usados. Sin embargo, por ser los primeros antibióticos introducidos en clínica, la resistencia bacteriana ante estos fármacos se ha constituido en un problema por más de 40 años (Martín *et al.* 2002). En tal sentido, tres de las doce especies bacterianas identificadas mostraron altos niveles de resistencia a los antibióticos cefotaxima y cefepime (β-lactámicos). Investigaciones previas han señalado que el mecanismo más frecuente de resistencia a este tipo de antibióticos, es la producción de enzimas inhibidoras denominadas β-lactamasas (Shah *et al.* 2004).

Para la eritromicina (macrólido), se obtuvo que las cepas fueron 100% resistentes a este fármaco, excepto *E. equinus* y *S. marcescens* las cuales presentaron porcentajes de sensibilidad de 85,7% y 100%, respectivamente. Álvarez *et al.* (2004) encontraron en cepas de *Aeromonas hydrophila* y *Klebsiella pneumoniae* una resistencia a la eritromicina de 100%. Así mismo, Tzoc *et al.* (2004) obtuvieron 100% de resistencia a este antibiótico en aislados de *E. coli* y *Aeromonas* sp.

En la Tabla 2 se indica que la mayoría de las especies bacterianas aisladas mostraron resistencia intermedia a la cefotaxima. Mientras que *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus equinus* y *E. faecalis* fueron 100% resistentes a este fármaco. De la Parte-Pérez *et al.* (2001) indicaron que las betalactamasas de espectro expandido (β-LEE) son una causa frecuente de resistencia de las enterobacterias, especialmente *Klebsiella*, a las cefalosporinas de tercera generación como lo es cefotaxima. Las especies *E. aerogenes*, *C. diversus*, *E. cloacae*, *E. coli*, *P. alcalifaciens*, *H. alvei*, *C. freundii* y *E. agglomerans* presentaron altos valores de resistencia intermedia a este antibiótico (Tabla 2). Sin embargo, la cepa bacteriana aislada de *S. marcescens* fue sensible, este resultado coincide con lo obtenido por Nodarse (1998) donde *S. marcescens* presentó sensibilidad frente a la cefotaxima, a pesar de la relativa frecuencia con que este microorganismo exhibe resistencia.

La Tabla 3 pone en evidencia que *E. equinus* y *E. faecalis* fueron 100% resistentes a la cefalosporina de

cuarta generación, como el cefepime, confirmándose así la resistencia natural a este grupo de antibióticos. Se observa también que *E. aerogenes*, *C. diversus*, *E. coli*, *C. freundii* y *K. pneumoniae* presentaron los mayores valores de

resistencia intermedia. *P. alcalifaciens* y *E. agglomerans* mostraron 50% de resistencia intermedia y 50% de sensibilidad a esta cefalosporina. *S. marcescens*, *H. alvei* y *E. cloacae*, mostraron altos valores de sensibilidad.

Tabla 1. Frecuencia de la especies bacterianas aisladas en muestras de agua y sedimento provenientes de las playas muestreadas.

	Especies	El Agua		Guacuco		El Yaque		Parguito	
		Nº de cepas	(%)						
1	<i>Escherichia coli</i>	10	25,64	10	28,57	12	40	12	41,4
2	<i>Enterobacter aerogenes</i>	12	30,77	9	25,71	5	16,67	3	10,3
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	15,38	8	22,86	3	10	7	24,1
3	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	5,13	1	2,86	-	-	-	-
8	<i>Enterococcus equinus</i>	2	5,13	3	8,57	2	6,67	-	-
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	2,56	1	2,86	3	10	-	-
4	<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	2,56	-	-	1	3,33	-	-
7	<i>Citrobacter freundii</i>	2	5,13	-	-	1	3,33	-	-
10	<i>Providencia alcalifaciens</i>	1	2,56	1	2,86	2	6,67	-	-
6	<i>Citrobacter diversus</i>	2	5,13	-	-	-	-	3	10,3
11	<i>Hafnia alvei</i>	-	-	2	5,71	1	3,33	3	10,3
12	<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	1	3,5
	Total	39	100	35	100	30	100	30	100

Tabla 2. Porcentaje de resistencia de las especies bacterianas aisladas frente a la Cefotaxima.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)		
	Resistente	Intermedio	Sensible
2 <i>Enterobacter aerogenes</i>	--	93,10	6,90
6 <i>Citrobacter diversus</i>	--	80	20
3 <i>Enterobacter cloacae</i>	--	100	--
1 <i>Escherichia coli</i>	15,92	72,73	11,36
10 <i>Providencia alcalifaciens</i>	--	100	--
11 <i>Hafnia Alvei</i>	--	100	--
12 <i>Serratia marcescens</i>	--	--	100
7 <i>Citrobacter freundii</i>	--	100	--
5 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	100	--	--
4 <i>Enterobacter agglomerans</i>	--	100	--
8 <i>Enterococcus equinus</i>	100	--	--
9 <i>Enterococcus faecalis</i>	100	--	--

Tabla 3. Porcentaje de resistencia de las especies bacterianas aisladas frente al Cefepime.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)		
	Resistente	Intermedio	Sensible
2 <i>Enterobacter aerogenes</i>	--	58,62	41,38
6 <i>Citrobacter diversus</i>	--	80	20
3 <i>Enterobacter cloacae</i>	--	33,33	66,67
1 <i>Escherichia coli</i>	--	72,73	27,27
10 <i>Providencia alcalifaciens</i>	--	50	50
11 <i>Hafnia alvei</i>	--	16,67	83,33
12 <i>Serratia marcescens</i>	--	--	100
7 <i>Citrobacter freundii</i>	--	100	--
5 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	--	83,33	16,67
4 <i>Enterobacter agglomerans</i>	--	50	50
8 <i>Enterococcus equinus</i>	100	--	--
9 <i>Enterococcus faecalis</i>	?	--	--

En cuanto a la fluoroquinolona (levofloxacin), la gran mayoría de las especies aisladas presentaron valores de sensibilidad mayores al 92%. La fluoroquinolona, es el fármaco más nuevo en el mercado comparado con los otros antibióticos utilizados en esta investigación, Trucco (2000), afirmó que los bacilos gramnegativos del grupo de enterobacterias, en los estudios comparativos de las nuevas moléculas de quinolonas versus sus antecesoras, demostraron que todas las drogas ensayadas (levofloxacin, sparfloxacin, trovafloxacin y grepafloxacin) poseen buena actividad frente a estos microorganismos.

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron que muchas de las cepas probadas presentaron resistencia a varios de los fármacos usados. En este sentido, Bell *et al.* (1983) y Mackeon *et al.* (1995), han establecido que la multiresistencia a antibióticos provee a las cepas de ventajas selectivas y la evidencia de laboratorio demuestra que bacterias con resistencia a múltiples antibióticos pueden mantener esta por muchos años en medios de mantenimiento y sin la incorporación de antibiótico. Por lo tanto, existe una gran probabilidad de que la utilización de agua en actividades recreacionales, eventualmente permita la exposición humana a cepas bacterianas multirresistentes.

En la prueba de dilución seriada en caldo, se evidenció, al igual que en la prueba del antibiograma, la eficacia del antibiótico levofloxacin, por ser este el fármaco que inhibió el crecimiento de todas las cepas bacterianas a la más baja concentración, la ampicilina y eritromicina siguen siendo los antibióticos menos eficaces. Sin embargo, para la cefotaxima se observó con estas dos técnicas diferencias relativamente bajas en cuanto a su acción frente a algunas cepas, tal es el caso de *E. aerogenes*, *C. diversus* y *E. coli* donde la cefotaxima alcanzó valores de CMI mayores a 20 µg/ml para inhibir sus crecimientos, mientras que en la prueba de antibiograma estos microorganismos presentaron valores de resistencia intermedia o moderada mayores al 90%. A los resultados obtenidos en esta prueba (dilución seriada en caldo), se realizaron análisis de varianza de una vía para comparar los valores de CMI alcanzados por los antibióticos probados, con respecto a las especies bacterianas aisladas.

En el análisis estadístico no se incluyó a *S. marcescens* y a *E. agglomerans*, debido a que solo se aisló una y dos cepas respectivamente de estas especies. De igual manera los antibióticos ampicilina y eritromicina fueron excluidos del análisis ya que las cepas en estudio mostraron una amplia resistencia a estos fármacos. Mediante el análisis

de varianza de una vía, en las CMI de los antibióticos probados se hallaron diferencias significativas ($F_s=7,80$ y $p<0,05$) con las cepas de *E. cloacae*; diferencias muy significativas con las cepas de *C. freundii* ($F_s=26,00$ y $p<0,01$) y con las de *H. alvei* ($F_s=8,70$ y $p<0,01$); diferencias altamente significativas para con las cepas de *E. aerogenes* ($F_s=67,23$ y $p<0,001$), *C. diversus* ($F_s=23,52$ y $p<0,001$), *E. coli* ($F_s=135,70$ y $p<0,001$), *E. equinus* ($F_s=27,35$ y $p<0,001$), *E. faecalis* ($F_s=23,58$ y $p<0,001$) y *K. pneumoniae* ($F_s=88,10$ y $p<0,001$); para *P. alcalifaciens* el análisis de una vía demostró que no existieron diferencias significativas ($F_s=1,09$ y $p>0,05$) en los valores de CMI con las cepas de esta especie ante los antibióticos probados.

En líneas generales, se puede decir que la levofloxacin, parece ser el antibiótico más útil en cuanto a inhibir el desarrollo de las especies bacterianas aquí estudiadas. Con este compuesto se alcanzaron valores de CMI en el rango de 5 a 10,0 µg/ml; sin embargo, se presentaron cepas de *P. alcalifaciens* que requirieron concentraciones más altas (15,0 µg/ml) de antibiótico para lograr la inhibición de su desarrollo. El siguiente antibiótico en efectividad general fue el cefepime, presentando valores de CMI en el rango de 5 a 30 µg/ml. Para el otro compuesto antimicrobiano (cefotaxima) se encontraron rangos de CMI muchos mayores.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Trucco (2000), donde la levofloxacin presentó mayor actividad frente a cocos grampositivo y mejoró la actividad antibacteriana frente a bacilos gramnegativos.

Por otra parte, para los fármacos ampicilina y eritromicina, se obtuvo que la mayoría de las cepas estudiadas no fueran inhibidas por estas drogas, es decir, resultaron totalmente resistentes.

Las dos cepas aisladas de *E. agglomerans* fueron inhibidas por el antibiótico levofloxacin, mientras que la ampicilina y eritromicina no inhibieron su desarrollo. Para el cefepime y cefotaxima se obtuvieron valores de 15-10 µg/ml y 15-20 µg/ml respectivamente.

De manera general, se pudo observar que los menores valores de CMI oscilaron de 5 a 10 µg/ml y fueron alcanzados por la fluoroquinolona levofloxacin frente a todas las cepas probadas. No obstante para los antibióticos cefepime y cefotaxima se obtuvieron valores de CMI desde 10 hasta 30 (µg/ml) para inhibir el desarrollo de las cepas bacterianas.

Nuestros resultados indican que la resistencia a

antibióticos es un problema creciente en cepas bacterianas de origen ambiental, lo cual puede incidir seriamente en la salud pública y son similares a otras investigaciones. Del 63 al 81% de las cepas de bacterias coliformes aisladas de aguas marinas mostraron resistencia a uno o más de los antibióticos probados (Cooke 1976); mientras que en el presente trabajo los porcentajes de resistencia estuvieron entre 15,9 a 100%. La resistencia múltiple a antibióticos en cepas de *E. coli* estuvo asociada con fuentes puntuales y no puntuales de contaminación en aguas de la bahía de Apalachicola (Parveen *et al.* 1997). Mudryk (2005) indicó que hasta un 30% de las cepas de bacterias heterótrofas marinas aisladas de aguas y arenas de playas en Polonia, mostraron resistencia a varios antibióticos, y que entre 24,6 a 48,4% de las cepas fueron resistentes a la ampicilina; mientras que en nuestro caso dicho porcentaje fue de 100%.

La técnica del análisis del perfil de resistencia a antibióticos de las bacterias indicadoras de contaminación fecal, ha probado ser una herramienta útil para establecer las fuentes de contaminación en aguas subtropicales (Harwood *et al.* 2000).

CONCLUSIONES

Se confirmó la presencia de altos niveles de resistencia múltiple a los antibióticos ensayados entre las cepas bacterianas estudiadas.

La levofloxacina fue el antibiótico de mejor acción, posiblemente por ser de aparición más reciente.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro sincero agradecimiento al Centro Regional de Investigaciones Ambientales, del Núcleo de Nueva Esparta de la Universidad de Oriente, por el apoyo brindado en cuanto a infraestructura, equipos, suministros y logística para la realización del presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ J., AGURTO C., ÁLVAREZ A., OBREGÓN J. 2004. Resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de tilapias, agua y sedimento en Venezuela. *Rev. Cient. FCV-LUZ.* 6(14): 491-499 pp.
- ANDERSEN R. 1993. Effects of waste water treatment on the species composition and antibiotic resistance of coliform bacteria. *Curr. Microbiol.* 26: 97-103 pp.
- BAUER A., KIRBY W., SHERRIS I., TURCK M. 1966. Antibiotic susceptibility testing a standardized single disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 45: 493-496 pp.
- BELL J., ELLIOT G., SMITH D. 1983. Influence of sewage treatment and urbanization on selection multiple resistances in faecal coliform populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 227-32 pp.
- BUTAYE P., DEVRISSE L., HAESBROUCK F. 2001. Differences in antibiotic resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from farm and pet animals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1374-1378 pp.
- COOKE M. D. 1976. Antibiotic resistance among coliform and fecal coliform bacteria isolated from sewage, seawater and shellfish. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:879-884 pp.
- DE LA PARTE-PÉREZ M., BRITO A., GUZMÁN M., CARMONA O., GVRB. 2001. Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela. Análisis de una década. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 21(2). 14-22 pp.
- FERREIRA DA SILVA M., TIAGO I., VERISSIMO A., BOAVENTURA R., NUNES O., MANAIA C. 2005. Antibiotic resistance in enterococci and related bacteria in an urban wastewater treatment plant. *FEMS Microbiol. Ecol.* 45:1-8 pp.
- HARWOOD V., WHITLOCK J., WITHINGTON V. 2000. Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminate analysis; use in predicting the source of faecal contamination in subtropical waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3698-3704 pp.
- HOLT J., KRIEG P., SNEATH J., STALEY H., WILLIAMS M. (Ed.). 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 9th ed. Williams & Wilkins Company. Baltimore. 787 pp.
- MACKEON D., CALABRESE J., BISSONNETTES G. 1995. Antibiotic resistant Gram negative bacteria in rural ground water supplies. *Wat. Res.* 29: 1902-8 pp.
- MARTÍN N., CARMONA O., GUZMÁN B., GRUPO VENEZOLANO DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA BACTERIANA (GVRB). 2002. Efecto de inhibidores de β -lactámicos en bacilos gramnegativos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 22: 37-43 pp.

- MORGAN R., GUERRY P., COLWELL R. 1976. Antibiotic resistant bacteria in Chesapeake Bay. *Chesapeake Sci.* 17:216-219 pp.
- MUDRYK Z. 2005. Occurrence and distribution antibiotic resistance of heterotrophic bacteria isolated from a marine beach. *Mar. Poll. Bull.* 50:80-86 pp.
- NODARSE R. 1998. Valoración *in vitro* de discos para antibiogramas de producción Nacional. *Rev. Cubana. Med. Milit.* 27(2): 106-12 pp.
- PARVEEN S., MURPHREE R., EDMISTON L., KASPAR C., PORTIER K., TAMPLIN M. 1997. Association of multiple-antibiotic-resistance profiles with point and nonpoint sources of *Escherichia coli* in Apalachicola Bay. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:2607-2612 pp.
- SACSAQUISPE R., VELÁSQUEZ J. 2002. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Ministerio de Salud del Perú. Instituto Nacional de Salud. Serie de Normas Técnicas N° 30. Lima. 67 pp.
- SANDAA R., ENGER O. 1994. Transfer in marine sediments of the naturally occurring plasmid pRAS1 encoding multiple antibiotic resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:4234-4238 pp.
- SHAH A., HASAN A., AHMED S., HAMEED A. 2004. Extended-spectrum β -lactamases (ESBLs): Characterization, epidemiology and detection. *Crit. Rev. Microbiol.* 30:25-32 pp.
- SILVA J., LOYOLA P., GALLEGUILLOS J., RODRÍGUEZ Y., COLQUE-
NAVARRO P., MOLLBY R., KUHN I. 2005. Prevalencia de Enterococos resistentes a antibióticos en aguas servidas en el norte de Chile. *Rev. Med. Chil.*, 133: 1201-1210 pp.
- SOKAL R., ROHLF F. 1995. Biometry – the principles and practice of statistics in biological research. W. H. Freeman and Company, Nueva York, EE.UU. 776 pp.
- TRUCCO O. 2000. Aspectos microbiológicos de las nuevas quinolonas: levofloxacina, sparfloxacina, trovafloxacina y grepafloxacina. *Rev. Chil. Infect.*, 17 (1): 67-72 pp.
- TZOC E., ANAS M., VALIENTE C. 2004. Efectos de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas* sp. *Rev. Biomed.*, 15:165-172 pp.
- WATKINSON A., MICALIZZI G., GRAHAM G., BATES J., CONSTANZO S. 2007. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* in wastewaters, surface waters, and oysters from an urban riverine system. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 5667-5670 pp.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2003. Guidelines for Safe Recreational Water Environments. Vol 1: Coastal and Freshwaters. WHO, Geneva. Italy. 253 pp.
- ZAMBRANO J., BOTEROL L., CAVAZZA M., AVILA M. 2002. Resistencia a antimicrobianos y presencia de plásmidos en cepas de *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales crudas y tratadas por lagunas de estabilización con fines de reuso en agricultura. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 22: 44-50 pp.