

Resistencia a antibióticos en bacterias recolectadas en agua de mar en las proximidades de bases antárticas

Antibiotic resistance in bacteria from seawater surrounding antarctic stations

Nancy Calisto-Ulloa¹, Claudio Gómez-Fuentes¹, Patricio Muñoz²

Resumen

Se estudió la presencia y distribución de bacterias con resistencia a antibióticos en el agua de mar próxima a distintas bases antárticas. Se tomaron muestras distribuidas uniformemente alrededor de las descargas de aguas residuales de siete bases antárticas y se aislaron colonias de *Escherichia coli*. Los patrones de susceptibilidad de las bacterias a distintos agentes microbianos se determinaron utilizando el método de difusión en disco y analizando diferentes grupos de antibióticos: penicilinas, carbapenémicos, aminoglicosidos, quinolonas, tetraciclinas, fenicoles y trimetoprim. Para el control de calidad del método se utilizó la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

Se analizaron 216 muestras de agua de mar y en el 58% de éstas se detectó la presencia de *E. coli*. Las muestras más cercanas a las descargas de aguas residuales presentaron los mayores conteos de *E. coli* observándose una disminución significativa del número de bacterias a medida que aumenta la distancia de la muestra a la descarga. En 70 cepas aisladas de *E. coli* se estudió la susceptibilidad a los distintos agentes microbianos. En las cepas estudiadas se observó resistencia a 16 de los 17 antibióticos probados. Treinta y seis cepas fueron susceptibles a todos los antibióticos evaluados, 34 cepas fueron resistentes a al menos un antibiótico y 20 mostraron resistencia a la ampicilina. Doce cepas estudiadas fueron resistentes a múltiples agentes microbianos. Finalmente, se detectó la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en dos cepas estudiadas.

La presencia de bacterias con resistencia a distintos

agentes antimicrobianos en el medio ambiente antártico es indicativa de cuán extendida se ha vuelto la situación mundial de resistencia a antibióticos.

Palabras clave:

Base Frei, Base Carlini, Base Bellingshausen, Base Great Wall, Base Escudero, Base Prat.

Abstract

Antimicrobial resistant bacteria are widespread in aquatic environments. The aim of the present study was to obtain information on the occurrence of bacteria with antimicrobial resistance in seawater surrounding Antarctic stations.

Escherichia coli strains were isolated from seawater. The samples were collected from sites distributed around the sewage outfalls of seven Antarctic stations. Antibiotic susceptibility patterns were determined with the disk diffusion method using different groups of antibiotics: penicillins, carbapenems, aminoglycosides, quinolones, tetracycline, phenicols and trimethoprim. *Escherichia coli* ATCC 25922 was used as the control for the susceptibility tests.

A total of 216 samples were analysed. *Escherichia coli* were detected in 58 % of the samples. The highest

¹ Centro de Investigación y Monitoreo Ambiental Antártico, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Magallanes, Avenida Bulnes 01855.

² Laboratorio de microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Magallanes, Avenida Bulnes 01855.
✉ claudio.gomez@umag.cl

bacterial counts were found in seawater surrounding the sewage outfalls. However, the bacterial counts decreased rapidly with increasing distance from the outfall. Seventy strains isolated were studied to determine antibiotic susceptibility. The strains studied showed resistant to 16 out of the 17 antibiotics tested. Thirty-six strains were susceptible to all the antibiotics tested. Thirty-four were resistant to at least one antibiotic, 12 were multidrug resistant and 20 showed resistant to Ampicillin. Finally, the presence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) was determined in two strains studied

The presence of bacteria with antimicrobial resistance in the Antarctic environment is indicative of how widespread the global antibiotic resistance situation has become.

Key words:

Frei Station, Carlini Station, Bellingshausen Station, Great Wall Station, Escudero Station, Prat Station.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, una gran cantidad de micro contaminantes orgánicos se han liberado en el medio ambiente como resultado de actividades antropogénicas. Entre ellos, los productos farmacéuticos humanos y veterinarios son motivo de preocupación debido al posible impacto de estos compuestos en el medio acuático. A largo plazo, preocupan especialmente, los efectos toxicológicos en los organismos vivos y el efecto combinado de la exposición a múltiples compuestos, en particular los antibióticos (Richardson, 2012).

La utilización de antibióticos con fines clínicos o agrícolas favorece la selección y supervivencia de microorganismos resistentes (Teuber, 2001; Livermore, 2005). Por lo tanto, es previsible que los residuos de hospitales o granjas contengan como contaminantes, tanto antibióticos como genes de resistencia. Debe notarse que el destino de ambos tipos de contaminantes es probablemente diferente. En el caso de los antibióticos, varios de éstos son compuestos naturales que han estado en contacto con la microbiota ambiental durante millones de años y, por lo tanto, son biodegradables, e incluso sirven como alimento para varios microorganismos

(Dantas *et al.* 2008). Por otro lado, los genes de resistencia son elementos auto-replicativos que se pueden mantener en las poblaciones microbianas, excepto cuando esta mantención implica un costo biológico significativo a las bacterias receptoras. Algunos trabajos han demostrado que la reducción de la carga de antibióticos en los ecosistemas naturales también puede reducir la resistencia a los antibióticos (Gonzalo *et al.* 1989; Aarestrup *et al.* 2001). Sin embargo, la situación real es más compleja, se ha descrito, por ejemplo, que aunque la incidencia de la resistencia disminuye, esta disminución es lenta y parte de la población permanece resistente (Andersson, 2003). Además, la presencia de los mismos genes de resistencia actualmente presentes en patógenos humanos se ha reportado en ambientes sin antecedentes de contaminación por antibióticos (Pallecchi *et al.* 2008). Estos entornos incluyen poblaciones remotas de humanos y animales sin una exposición conocida a los antibióticos, lo que podría indicar una alta prevalencia de resistencia a pesar de no recibir ningún antibiótico (Gilliver *et al.* 1999; Livermore *et al.* 2001; Grenet *et al.* 2004; Bartoloni *et al.* 2009).

El grado de resistencia a los antibióticos en las comunidades bacterianas de un entorno dado, se ha relacionado con frecuencia con las actividades antropogénicas, por lo tanto, en áreas en las que la actividad humana es limitada, se espera que las bacterias contengan pocos genes de resistencia a los antibióticos. Un ejemplo de esto es el continente antártico, donde el impacto antropogénico ha aumentado en los últimos años con actividades turísticas y científicas (Bonnedahl *et al.* 2008; Cowan *et al.* 2011; Skurnik *et al.* 2006). Los principales vectores de introducción de microorganismos extraños en la Antártida son las personas que habitan en Bases de investigación y animales antárticos, principalmente aves (Cowan *et al.* 2011; Hughes, 2003). Varios estudios han reportado la presencia de coliformes fecales, así como *E. coli*, cerca de las descargas de aguas residuales en diferentes lugares de la Antártica, lo que sugiere que las aguas residuales son una fuente extrínseca de microorganismos no nativos en el área del Tratado Antártico (Delille & Delille, 2000; Delille & Gleizon, 2003).

Uno de los métodos para destruir bacterias patógenas, o sus grupos indicadores, de las aguas

residuales es su tratamiento en plantas depuradoras. Las depuradoras presentan condiciones hostiles para la supervivencia de dichas bacterias debido a su temperatura ambiente, las condiciones físico-químicas de los reactores y la gran abundancia de depredadores (organismos bacterívoros y virus). En general, las depuradoras reducen en 1-3 logaritmos la abundancia de bacterias del agua de entrada (Hirata *et al.* 1993). Sin embargo, esta reducción en la abundancia de bacterias no va acompañada de una reducción de bacterias resistentes. Algunos estudios indican que las plantas de tratamiento convencionales de aguas residuales (lodos activados) tienden a aumentar el porcentaje de bacterias resistentes en su efluente como consecuencia de la gran abundancia de bacterias en el reactor biológico y del tiempo de contacto entre ellas, lo que incrementa las tasas de intercambio genético (conjugación, transformación y transducción), y por tanto, el porcentaje de bacterias resistentes a antibióticos (Da Costa *et al.* 2006).

Para el continente antártico el primer estudio de resistencia a los antibióticos en *E. coli* aislada de muestras antárticas se realizó en 2011 (Hernández *et al.* 2012). En este estudio, se aislaron ocho cepas de *E. coli* resistentes a tetraciclina, ampicilina, ácido nalidíxico, trimetoprima-sulfonamida y/o estreptomycin de muestras de agua de mar cercanas a descargas de aguas residuales. Sobre la base de sus patrones de resistencia a los antibióticos, los investigadores concluyeron que las cepas eran de origen humano. Cinco años más tarde, Rabbia *et al.* (2016) informaron patrones de resistencia similares en cepas aisladas de la misma área. Lo anterior demuestra que la presencia de bacterias con resistencia a antibióticos es un problema que se encuentra presente en el continente antártico, siendo ésta una problemática ambiental emergente, por lo que resulta interesante ampliar los estudios a otros sectores antárticos con la finalidad de tener más claridad de la situación en la que se encuentra este continente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del sitios y del muestreo

Las muestras se recolectaron durante el

mes de enero del año 2017 en sitios distribuidos uniformemente alrededor de las descargas de aguas residuales tratadas de 7 bases antárticas. Cinco ubicadas en la Isla Rey Jorge (Bases: Frei, Carlini, Bellingshausen, Great Wall y Escudero-Estación Marítima de Bahía Fildes), una en la Isla Greenwich (Base Prat), ambas islas pertenecientes al archipiélago de las Shetland del Sur y finalmente, una base ubicada en la Península Antártica (Base O'Higgins) (Fig. 1).

Se recolectaron un total de 216 muestras de agua de mar superficial, 120 recolectadas en el borde costero y 96 en el mar abierto del área de estudio., a distancias de 0, 10, 25, 50 y 150 m de las descargas de las plantas de tratamiento de cada bases. Adicionalmente, se recolectaron muestras fuera de la zona de influencia de las descargas de aguas residuales de cada base para ser utilizadas como blancos. Los puntos utilizados como blancos fueron los siguientes: Isla Rey Jorge, 2 km mar adentro en frente de las instalaciones de Base Frei (UTM 21 E 400000 3101929), Isla Greenwich, en la entrada a la Bahía a 600 metros aproximadamente desde la descarga (UTM 21 E 0362740 E 3069092), Base O'Higgins (21 E 454187 2979199).

Recuento bacteriano y aislamiento de E. coli

El recuento de bacterias coliformes totales y *E. coli* en las muestras de agua de mar se determinó utilizando el método de filtración por membrana. Se utilizó el agar Chromocult Coliform (Merck, Alemania). Éste es un medio cromogénico selectivo que permite el recuento de coliformes totales y *E. coli* en muestras de agua, la US-EPA lo ha aprobado como un método para la detección de *E. coli* y coliformes totales en agua (US Environmental Protection Agency, 2002). Las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C y luego se contaron las colonias de *E. coli*, de color azul, y las colonias de coliformes totales, que corresponden a la suma de las colonias azules mas las rojas-rosadas.

Posterior al recuento de bacterias fecales, colonias típicas de *E. coli* de cada muestra de agua se seleccionaron aleatoriamente, se aislaron y se subcultivaron en nuevas placas de agar Chromocult Coliform para el posterior estudio de los perfiles de resistencia a antibióticos.

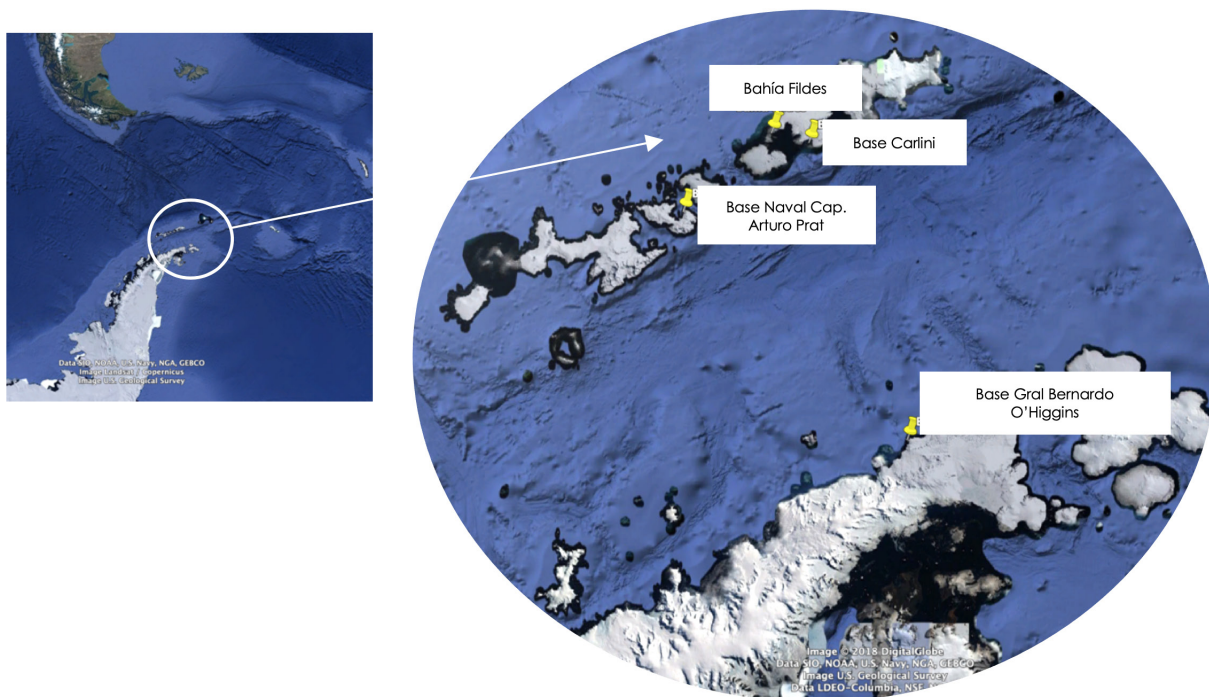


Fig. 1. Ubicación de sitios de muestreo.

Perfiles de resistencia a antibióticos

Los perfiles de resistencia se determinaron a 70 cepas de *E. coli* que fueron aisladas aleatoriamente, usando el método de difusión en disco de acuerdo a la metodología establecida por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015). Para ello se utilizaron placas de agar Mueller-Hinton y discos de antibióticos pertenecientes a distintas familias (Tabla 1). Las placas fueron incubadas por 18-24 h a 37 °C. Las bacterias se clasificaron como sensibles, intermedias o resistentes, según lo indicado en el por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017). Para el control de calidad de las pruebas de susceptibilidad se utilizaron cepas de *E. coli* ATCC25922.

Detección de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

A las cepas que presuntivamente fueron productoras de BLEE, según los criterios descritos en documento M100S del CLSI (CLSI, 2016), se les realizó el test fenotípico de sinergia de doble disco y el test de disco combinado.

La selección inicial de las cepas productoras de BLEE se realizó utilizando discos de ceftazidima (CAZ) y cefotaxima (CTX); si el resultado del antibiograma indicaba un halo de inhibición para $CTX \leq 27$ mm o para $CAZ \leq 22$ mm, se consideraba a la cepa probable productora de BLEE.

Para la confirmación utilizando el método de sinergia del doble disco se utilizó una placa de Agar Mueller Hinton y se inoculó con una suspensión bacteriana sospechosa preparada de igual manera que en el método de difusión de disco en agar. Se colocó un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (AMC, 20/10 µg) en el centro de una placa de Petri y alrededor, a 25 mm de distancia, discos de CAZ, CTX, Ceftriaxona (CRO, 30 µg). y Cefpodoxina (CPD, 10 µg). La presencia de BLEE se manifestó por el efecto sinérgico del inhibidor y los discos -efecto de huevo, cola de pez o balón de fútbol americano-

Para el método del disco combinado las placas de agar Mueller Hinton fueron inoculadas con las cepas sospechosas, colocándose discos de susceptibilidad antimicrobiana de CAZ, ceftazidima/ácido clavulánico (CAZ/CAZ-CLA, 30/10 µg),

CTX, cefotaxima/ácido clavulánico (CTX/CXT-CLA, 30/10 µg). Una diferencia mayor o igual a 5 mm en los halos de inhibición entre los discos de CAZ-CLA y CAZ solos o CXT-CLA y CTX, fue interpretada como resultado positivo

Se utilizaron como control positivo de BLEE cepas *E. coli* ATCC700603 y como control negativo cepas *E. coli* ATCC25922.

RESULTADOS

Detección y recuento de Coliformes totales y E. coli

En 151 muestras, correspondientes al 70% de las muestras analizadas, se detectó la presencia de Coliformes totales y en 126 muestras, 58%, se detectó la presencia de *E. coli*. En el 76% de las muestras recolectadas en la costa se detectó la presencia de Coliformes totales mientras que en las muestras de mar abierto se detectaron estas bacterias en el 63% de las muestras. La detección de *E. coli* en las muestras de la costa fue de un 65% y para el mar abierto se detectaron en un 50% de las muestras. Solo en una de las muestra blanco se detecto la presencia de una colonia de Coliformes totales y no siendo detectada la presencia de *E. coli* en estas muestras.

En la Tabla 2 se presentan los rangos de variación de la cuantificación de Coliformes totales

y *E. coli* en función de la distancia al punto de descarga de aguas residuales de las distintas bases.

Perfiles de resistencia a Antibióticos

Se analizaron 70 cepas de *E. coli* para determinar su resistencia a los antibióticos indicados en la Tabla 1, 34 de las cepas analizadas, 49%, mostraron resistencia a por lo menos un antibiótico, 12 cepas mostraron ser multiresistentes (Tabla 3), es decir fueron resistentes a antibióticos de por lo menos 3 grupos diferentes (Magiorakos *et al.* 2012). Finalmente, dos cepas presentaron resistencia intermedia a distintos antibióticos, una de ellas a Ampicilina (AMP) y estreptomycin (STR) y la otra a ácido nalidixico (NAL) y cloramfenicol (CLO). En la Tabla 4 se muestra el detalle para cada base antártica del número de cepas de *E. coli* analizadas y la cantidad de cepas que presentaron resistencia a antibióticos.

En la Fig. 2, se presenta la relación entre el número de cepas resistentes y la cantidad de antibióticos a los cuales fueron resistentes, en este gráfico se puede observar que 18 cepas, 34%, fueron resistentes a un solo antibiótico y se puede destacar que las 5 cepas que presentaron resistencia a 3 antibióticos también fueron multiresistentes.

En la Tabla 5, se presenta la lista de antibióticos estudiados y la cantidad de cepas que fueron resistentes a cada uno de. Se puede

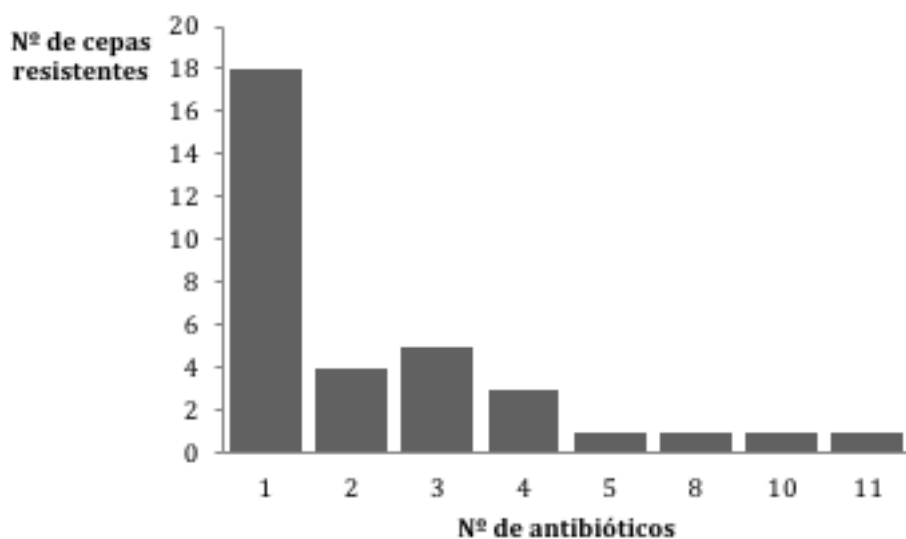


Fig. 2. Número de cepas resistentes en función de la cantidad de antibióticos a los cuales presentaron resistencia.

Tabla 1. Lista de antibióticos utilizados para determinar los perfiles de resistencia a antibióticos en cepas de *E. coli*.

Grupo	Antibiótico	Cantidad de antibiótico (µg)	Código
Penicilinas	Ampicilina	10	AMP
Cefalosporinas	Cefepime	30	FEP
	Cefotaxima	30	CTX
	Cefoxitin	30	FOX
	Cefuroximo	30	CXM
	Ceftazidima	30	CAZ
Carbapenémicos	Ertapenem	10	ETP
	Meropenem	10	MEM
Aminoglicósidos	Gentamicina	10	GEN
	Amikacina	30	AMK
	Kanamicina	30	KAN
	Estreptomina	10	STR
Quinolonas	Ciprofloxacina	5	CIP
	Ácido nalidixico	30	NAL
Fenicoles	Cloramfenicol	30	CLO
	Trimetoprim	5	TMP
	Tetraciclina	30	TET

Tabla 2. Rangos de variación de la cuantificación de Coliformes totales y *E. coli* en función de la distancia al punto de descarga de aguas residuales de las bases antárticas.

Distancia a la descarga de aguas residuales (m)	Número de muestras	Coliformes Totales (UFC/100ml)	<i>E. coli</i> (UFC/100ml)
0	16	3 - 3600000	1 - 1 800 000
10	42	0 - 15000	0 - 627
25	48	0 - 627	0 - 448
50	38	0 - 375	0 - 196
150	64	0 - 88	0 - 22
Blanco	8	0 - 1	0 - 0

observar que las cepas analizadas presentaron resistencia a 16 de los 17 antibióticos probados, siendo el aminoglicósido amikacina (AMK) el único al cual todas las cepas estudiadas fueron sensibles. El 29% de las cepas analizadas presentaron resistencia a la AMP y en todas las bases estudiadas se encontraron cepas con resistencia a este antibiótico.

Detección de BLEE

Se detectaron 3 cepas que presuntamente fueron productoras de BLEE, a las cuales se les realizó el test de sinergia de doble disco y el de disco combinado. Solo dos cepas fueron confirmadas como BLEE, una correspondiente a una cepa recolectada en la base Prat y otra

Tabla 3. Cepas multiresistentes: resistentes a antibióticos de por lo menos 3 grupos diferentes.

Base Antártica	Código de la Cepa	Antibióticos*
Base Frei	F+10	AMP-FOX-CXM-NAL-TMP
Base Bellingshausen	R	AMP-FOX-CXM-TMP
Base Carlini	AR+10	AMP-FOX-CXM-GEN-STR-NAL-TMP-CLO
	AR-25	CTX-CAZ-ETP-STR-TMP
	AR-R	AMP-FOX-NAL
Base O'Higgins	OM	AMP-STR-CLO
	OMU	AMP-STR-TMP
Base Prat	PM1	AMP-FOX-CXM-TMP
	PM10	AMP-NAL-TMP
	PM50	AMP-FEP-CTX-FOX-CAZ-ETP-MEM-STR-NAL-TMP
Base Great Wall	CHMU	FOX-STR-NAL-TMP
	CH	AMP-CTX-CXM-GEN-KAN-STR-TET-CIP-NAL-TMP-CLO

* Antibióticos a los cuales las cepas indicadas presentaron resistencia.

Tabla 4. Número de cepas de *E. coli* analizadas en cada base antártica y resultados de los estudios de resistencia a antibióticos.

Base Antártica	Nº de cepas analizadas	Nº cepas resistentes ¹	Nº de cepas multiresistentes ²	Nº de cepas BLEE
Base Prat	12	6	3	1
Base O'Higgins	9	4	2	
Base Frei	6	2	1	
Base Carlini	18	10	3	1
Base Great Wall	6	2	2	
Base Escudero-Estación Marítima B.F.	8	2	0	
Base Bellingshausen	11	8	1	
TOTAL	70	34	12	2

¹ Cepas que presentaron resistencia a por lo menos un antibiótico.

² Cepas resistentes a antibióticos de por lo menos 3 grupos diferentes.

recolectada en la base Carlini (Tabla 4). La cepa recolectada en la Base Carlini corresponde a una muestra tomada a 25 metros de la descarga de aguas residuales y fue resistente a los siguientes antibióticos: CTX-CAZ-ETP-STR-TMP. La cepa recolectada en la Base Prat, corresponde a una muestra tomada a 50 metros de la descarga de aguas residuales y presentó resistencia a los siguientes antibióticos: AMP-FEP-CTX-FOX-CAZ-ETP-MEM-STR-NAL-TMP.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, los recuentos bacterianos más altos se registraron en el agua de mar más cercana a las descargas de aguas residuales de las bases y se observó que estos recuentos disminuyen rápidamente al aumentar la distancia desde el punto de descarga (Tabla 1), este patrón de disminución de recuentos bacterianos se observó para todas las bases antárticas estudiadas en este trabajo.

Tabla 5. Resultados de la cantidad de cepas resistentes a cada uno de los antibióticos analizados en las distintas bases antárticas estudiadas.

Grupo	Antibiótico	Base Prat	Base O'Higgins	Base Frei	Base Carlini	Base Great Wall	Base Escudero-Estación Marítima B.F.	Base Bellingshausen	N° Total cepas resistentes
Penicilinas	AMP	3	2	2	5	1	1	6	20
Cefalosporinas	FEP	1							1
	CTX	1			1	1			3
	FOX	3	2	1	3	1	1	1	12
	CXM	1		1	1	1		1	5
	CAZ	1			1				2
Carbapenémicos	ETP	1			1				2
	MEM	1							1
Aminoglicósidos	GEN				1	1			2
	AMK								0
	KAN					1			1
	STR	2	2		2	2			8
Quinolonas	CIP					1			1
	NAL	2		1	2	2		1	8
Fenicoles	CLO	1	1		1	1			4
	TMP	5	1	1	6	2		2	17
	TET				1	1			2
	N° de antibióticos*	12	5	5	12	12	2	5	16

*Corresponde al número total de antibióticos a los cuales por lo menos una cepa presentó resistencia en la Base indicada.

Se han realizado relativamente pocos estudios para analizar los impactos ambientales de las descargas de aguas residuales en la Antártica, pero varios de estos estudios han detectado evidencia de éstas a distancias que varían entre los 50 m y los 2 Km desde el punto de descarga (Stark, 2016) y se han informado patrones de contaminación microbiológica decrecientes, al aumentar la distancia desde el emisario, similares a los encontrados en este estudio (Hughes, 2004; Delille, 2003).

La presencia de resistencia a antibióticos en las cepas de *E. coli* aisladas del agua de mar alrededor de las bases antárticas estaría asociada con las aguas residuales tratadas que se descargan en el área, ya que estas bacterias presentan una clara relación con la proximidades del emisario. Las plantas de tratamiento de aguas residuales

biológicas crean un entorno potencialmente adecuado para el desarrollo y la propagación de la resistencia a los antibióticos, ya que combinan varios factores favorables, entre los que se destacan una alta densidad celular sostenida por un entorno rico en nutrientes y un ingreso constante de antibióticos y bacterias resistentes (Rizzo, 2013).

El primer estudio que ha reportado resistencia a antibióticos en cepas de *E. coli* y la presencia de bacterias productoras de BLEE aisladas en muestras de agua de mar de la península antártica y de las islas Shetland del Sur, se publicó en 2012 (Hernández *et al.*, 2012), en este trabajo se reportó que la AMP fue el antibiótico al cual más cepas de *E. coli* presentaron resistencia, resultado similar al obtenido en el presente estudio. En el año 2013 (Rabbia *et al.*, 2016) se reportaron

patrones de resistencia a antibióticos similares a los obtenidos en este trabajo para muestras de agua de mar en la Península Fildes de la Isla Rey Jorge. Por lo tanto, los resultados de este estudio para las bases de este sector (Bases: Frei, Bellingshausen, Great Wall y Escudero-Estación Marítima de Bahía Fildes) indicarían la presencia continua de cepas bacterianas con resistencia a antibióticos en el agua de mar, atribuible a las descargas de aguas residuales ininterrumpidas que se realizan en esta zona. Finalmente, es importante destacar que, en este trabajo, se reportan resultados de resistencia a antibióticos en las aguas de mar próximas a la Base Carlini, sector donde no se han realizados reportes anteriores de presencia de bacterias *E. coli* con resistencia a antibióticos ni reportes de bacterias productoras de BLEE.

Los perfiles de resistencia a los antibióticos de *E. coli* aisladas del agua de mar alrededor de las descargas de aguas residuales, de las bases antárticas estudiadas en este trabajo, son preocupantes, especialmente considerando los altos conteos de *E. coli* en el área próxima a las descargas de aguas residuales, la cantidad de cepas que presentaron resistencia (49%) y la multiresistencia encontrada en el 17% de las cepas analizadas. Adicionalmente es importante destacar que solo se ha analizado la resistencia a antibióticos de *E. coli*, sin embargo en las descargas de aguas residuales estas bacterias solo son una fracción de la carga bacteriana emitida al medio ambiente antártico. Un ejemplo de esto puede observarse al comparar los rangos de variación de los recuentos de coliformes totales con los recuentos de *E. coli* (Tabla 2).

La presencia de bacterias con resistencia antimicrobiana en el ambiente antártico es indicativa de cuán extendida se ha vuelto la situación global de resistencia a los antibióticos. Los perfiles de resistencia a los antibióticos de *E. coli* aislados de agua de mar alrededor de las bases antárticas son motivo de preocupación, especialmente considerando la posibilidad de transferencia horizontal de genes de resistencia genética a bacterias antárticas autóctonas (Rabbia *et al.*, 2016).

Actualmente, los esfuerzos para suprimir el desarrollo y la dispersión de la resistencia se centran en reducir el consumo de antibióticos. Sin embargo, se presta menos atención a los factores

que mantienen y quizás facilitan una mayor dispersión de la resistencia en ambientes naturales (por ejemplo, el tratamiento de aguas residuales) (Hernández *et al.*, 2012).

Los datos obtenidos en este trabajo confirman la presencia de bacterias *E. coli* con resistencia a antibióticos en los alrededores de todas las bases antárticas monitoreadas, la presencia de estas bacterias en el medioambiente marino antártico estaría relacionada con las descargas de aguas residuales de las bases. Esta situación indicaría que las precauciones existentes y el tratamiento de aguas residuales en las bases parecen inadecuados para evitar este tipo de contaminación. Claramente, esta situación justifica el aumento de los monitoreos en el medioambiente antártico, así como un mayor esfuerzo para reducir la posible introducción de bacterias relacionadas con las actividades humanas, que pueden afectar la estructura y la actividad de las poblaciones microbianas en ambientes antárticos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el apoyo del proyecto INACH MA_01-12.

LITERATURA CITADA

- Aarestrup, F. M., Seyfarth, A. M., Emborg, H. D., Pedersen, K., Hendriksen, R. S., & Bager, F. (2001) Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 45, 2054-2059.
- Andersson, D. I. (2006) The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions?. *Current Opinion in Microbiology*, 9, 461-465.
- Bartoloni, A., Pallecchi, L., Rodriguez, H., Fernandez, C., Mantella, A., Bartalesi, F., Strohmeyer, M.,... & Rossolini, G. M. (2009) Antibiotic resistance in a very remote Amazonas community. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33, 125-129.

- Bonnedahl, J., Olsen, B., Aldenstrom, J., Broman, T., Jalava, J., Huovinen, P., & Osterblad, M. (2008) Antibiotic susceptibility of fecal bacteria in Antarctic penguins. *Polar Biology*, *31*, 759-763.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), (2015). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard, 12th ed. CLSI Document M02-A12. Wayne, Pennsylvania, USA.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), (2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, Pennsylvania, USA.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), (2017). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI Supplement M100. Wayne, Pennsylvania, USA.
- Cowan, D. A., Chown, S. L., Convey, P., Tuffin, M., Hughes, K., Pointing, S., & Vincent, W. (2011) Non-indigenous microorganisms in the Antarctic: assessing the risks. *Trends in Microbiology*, *19*, 540-548.
- Da Costa, P. M. M., Vaz-Pires P. M., & Bernardo F. M. (2006) Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. Isolated from wastewater isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plants. *Water Research*, *40*, 1735-1740.
- Dantas, G., Sommer, M. O., Oluwasegun, R. D., & Church, G. M. (2008) Bacteria subsisting on antibiotics. *Science*, *320*, 100-103.
- Delille, D., & Delille, E. (2000) Distribution of enteric bacteria in Antarctic seawater surrounding the Dumont d'Urville permanent station (Adelie Land). *Marine Pollution Bulletin*, *40*, 869-872.
- Delille, D., & Gleizon, F. (2003) Distribution of enteric bacteria in Antarctic seawater surrounding the Port-aux-Francais permanent station (Kerguelen Island). *Marine Pollution Bulletin*, *46*, 1179-1183.
- Gilliver, M. A., Bennett, M., Begon, M., Hazel, S. M., & Hart, C. A., (1999) Antibiotic resistance found in wild rodents. *Nature*, *401*, 233-234.
- Gonzalo, M. P., Arribas, R. M., Latorre, E., Baquero, F., & Martinez, J. L. (1989) Sewage dilution and loss of antibiotic resistance and virulence determinants in *E. coli*. *FEMS. Microbiology Letters*, *50*, 93-96.
- Grenet, K., Guillemot, D., Jarlier, V., Moreau, B., Dubourdieu, S., Ruimy, R., Armand-Lefevre, L.,... & Andremont, A. (2004) Antibacterial resistance, Wayampis Amerindians, French Guyana. *Emerging Infectious Diseases Journal*, *10*, 1150-1153.
- Hernández, J., Stedt, J., Bonnedahl, J., Molin, Y., Drobni M., Calisto-Ulloa, N., Gomez-Fuentes, C.,... & Olsena, B. (2012) Human-Associated Extended-Spectrum β -Lactamase in the Antarctic. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*, 2056-2058.
- Hirata, T., Kawamura, K., Yano, K., Kaneko, M., Moniwa, T., Tosa, K. & Taguchi, K. (1993) Removal efficiencies of microorganisms in wastewater treatment proceses. *Water Science Technology*, *28*(7), 55-61.
- Hughes, K. (2003) Influence of seasonal environmental variables on the distribution of presumptive fecal coliforms around an Antarctic research station. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*, 4884-4891.
- Livermore, D. M. (2005). Minimising antibiotic resistance. *Lancet Infectious Diseases*, *5*, 450-459.
- Livermore, D. M., & Warner, M., Hall, L. M., Enne, V. I., Projan, S. J., Dunman, P. M., Wooster, S. L., & Harrison, G., (2001) Antibiotic resistance in bacteria from magpies (*Pica pica*) and rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from west Wales. *Environmental Microbiology*, *3*, 658-661.
- Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth, S.,... & Monnet, D. (2012) Multidrug- resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, *18*, 268-281.
- Pallecchi, L., Bartoloni, A., Paradisi, F., & Rossolini,

- G. M. (2008) Antibiotic resistance in the absence of antimicrobial use: mechanisms and implications. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 6, 725-732.
- Rabbia, V., Bello-Toledo, H., Jiménez, S., Quezada, M., Domínguez, M., Vergara, L., Gómez-Fuentes, C.,... & González-Rocha, G. (2016). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from Antarctic bird feces, water from inside a wastewater treatment plant, and seawater samples collected in the Antarctic Treaty area. *Polar Science*, 10, 123-131
- Richardson, S. D. (2012). Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. *Analytical Chemistry*, 84, 747-778.
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M. C., Michael, I., & Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Science of the Total Environment*, 447, 345-360.
- Salyers, A. A., & Amabile-Cuevas, C. F., (1997). Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination?. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41, 2321-2325.
- Skurnik, D., Ruimy, R., Andremont, A., Amorin, C., Rouquet, P., Picard, B., & Denamur, E. (2006). Effect of human vicinity on antimicrobial resistance and integrons in animal faecal *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57, 1215-1219.
- Stark, J., Bridgen, P., Dunshea, G., Galton-Fenzi, B., Hunter, J., Johnstone, G., King, C.,... & Riddle, M. (2016). Dispersal and Dilution of Wastewater from an Ocean Outfall at Davis Station, Antarctica, and Resulting Environmental Contamination. *Chemosphere*, 152, 142-157.
- Teuber, M. (2001). Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 4,493-499.
- US Environmental Protection Agency, (2002). Rules and Regulations, Federal Register, 67, (209).