

Higiene y Sanidad Ambiental, 7: 238-250 (2007)

El tratamiento secundario de aguas residuales como mecanismo redistribuidor de genes de resistencia en bacterias: análisis y evaluación de riesgo

Mariano GÓMEZ LÓPEZ¹, Manuel ARAUJO PRADO², María Teresa DÍAZ DÍAZ¹, Joaquín GARRIDO VÁZQUEZ², Rosana SUEIRO² y Susana SUÁREZ²

¹ LABAQUA S.A., Laboratorio de Santiago de Compostela. E15702. Santiago de Compostela.
E-mail: mariano.gomez@labaqua.com

² Instituto de Investigación e Análise Alimentarios. Universidade de Santiago de Compostela.
C/Constantino Candela s/n. 15860 Santiago de Compostela

INTRODUCCIÓN

El desarrollo y diseminación de propiedades de resistencia a antimicrobianos está generando una preocupación creciente por los problemas que plantea: las bacterias resistentes producen infecciones más difíciles de tratar, más difíciles de controlar, requieren antimicrobianos más difíciles de conseguir que, encima, resultan ser más caros y, con frecuencia, más tóxicos. En consecuencia, no es exagerado afirmar que estas propiedades de resistencia se está convirtiendo, si es que no lo es ya, en un problema sanitario, ecológico y económico de gran envergadura. Por dar un ejemplo numérico, se estima que las infecciones causadas por bacterias resistentes en Estados Unidos de América, originan un sobrecoste del orden de los cuatro mil millones de dólares. Por lo tanto, no puede extrañarnos que sucesivos llamamientos y posicionamientos de organismos nacionales e internacionales (American Academy of Microbiology, WHO, Codex Alimentarius, Oficina Internacional de Epizootias, etc.), reclamen nuestra atención sobre lo que, en palabras de David Byrne, ex-comisario Europeo para la Salud y Protección del Consumidor, es un problema multifactorial que requiere una aproximación multisectorial.

Pese a la existencia de algunos datos que lo ponen en duda, está ampliamente aceptado que las propiedades de resistencia aparecen como consecuencia de la presión selectiva que ejerce el uso

inadecuado de antibióticos en seres humanos, animales, acuicultura y plantas. Desde cualquiera de estos campos de aplicación, las resistencias pueden diseminarse, produciendo los efectos indeseables que conocemos. Por tanto, parece lógico que se afirme que si el uso que se hace de los antibióticos en estos campos fuese prudente, sin duda que ayudaría a contener la diseminación de estas propiedades.

Entre las medidas que diferentes países han tomado, puede destacarse la creación en Francia, en 1997, del ONERBA (Observatorio Nacional de Epidemiología de la Resistencia de las Bacterias a los Antibióticos), el establecimiento del programa ENTERNET, coordinado por el Reino Unido y financiado por la DG XII de la EEC (programa biomed), el proyecto EARSS (European Antimicrobial Surveillance System), coordinado por los países bajos y financiado por la DG V de la EEC, en la ECC como tal, en 1998 el Comité Económico y Social publicó el documento: "Resistance to Antibiotics as a Threat to Public Health". En EE.UU. el centro para el control de enfermedades (CDC) también ha instaurado un sistema de control y análisis de las resistencias de las bacterias a agentes antimicrobianos e incluso ha publicado, en el año 2000 un documento "Public Health Action Plan to Combat Antimicrobial Resistance", redactado entre el CDC, la FDA (Agencia para la alimentación y las drogas), la EPA (Agencia de Protección Ambiental) y el NIH (Instituto Nacional de la Salud). En Australia se

publicó en 1999 el documento "The Use of Antibiotics in Food Producing Animals: Antibiotic resistant Bacteria in Animals and Humans", publicado por el Joint Expert Technical Advisory Committee on Antibiotic Resistance (JETACAR) que se creó en 1998.

El uso de antibióticos en general y los de última generación en particular, es obligado en centros sanitarios de atención especializada. Estos centros disponen de sistemas de eliminación de residuos sólidos bien implantados, pero, pese a que deberían contar con sistemas especiales de tratamiento de sus aguas residuales, suelen descansar en último término en las estaciones de depuración de aguas residuales (EDAR) de las poblaciones en las que están asentados, para resolver el problema que representa la especial composición de los residuos líquidos que liberan. Sin embargo, las EDAR, en particular las que se limitan a hacer un tratamiento secundario (la mayoría), no son totalmente eficaces para asegurar la reducción de la carga microbiana, de ahí que estos residuos fecales hospitalarios deberían de tratarse de forma separada y particularizada.

En este contexto, se admite generalmente que las EDAR juegan un papel importante en la redistribución, recrecimiento y diseminación de propiedades de resistencias a antimicrobianos entre bacterias (Gibss y cols., 1997; Vilanova y cols., 2004; Silva y cols., 2006). En términos prácticos, la permanente presencia de niveles de antibióticos en sus aguas, genera un entorno propicio para que tales propiedades se mantengan entre los microorganismos allí presentes. De ahí a pensar en lo sencillo que resulta su liberación al ambiente natural a través del efluente, de los lodos producidos en la EDAR o de la variedad de ecosistemas interconectados, con todo lo que esto significa, no hay mas que un paso.

Si damos esto por cierto, no habría duda de que sería imprescindible analizar pormenorizadamente los eventos que tienen lugar durante el tratamiento secundario (mecanismos de transferencia horizontal de genes, permeabilización de biofilms para facilitar depuración de antimicrobianos, etc.), con el fin de minimizar la probabilidad de que tales hechos sucedan.

Sin embargo, desde nuestra perspectiva, el estado de cosas no es tan claro como parece, pues hay resultados aparentemente contradictorios. Por una parte, conocemos por experiencia propia y ajena (Silva y cols., 2006; Gómez y cols., 2006), que las EDAR liberan bacterias resistentes y multirresistentes; incluso, ocasionalmente hemos constatado mayor número de multirresistentes en el efluente que en el influente. Por otra parte, también hay investigaciones que han demostrado lo contrario, lo que puede estar relacionado con diferencias en la eficiencia de distintas EDAR para eliminar bacterias resistentes. Hasta donde sabemos, la eficiencia con la que las EDAR hacen frente a este problema no está debidamente analizado, ni convenientemente cuantificado, ni el riesgo que representa la liberación de

tales bacterias, claramente establecido. A nuestro juicio, no tiene mucho sentido acometer el análisis de lo que sucede en la "caja negra" que representa el tratamiento secundario, sin antes valorar el riesgo de liberación de bacterias resistentes o multirresistentes al ambiente, a través del efluente o de los lodos.

Y eso es justamente el objetivo que nos hemos propuesto abordar en este trabajo, haciendo uso de la ventaja que supone disponer de un "sistema experimental" constituido por la ciudad de Santiago de Compostela, el sistema de abastecimiento de agua potable y su sistema de recogida de aguas residuales que nos permite evaluar por separado, la contribución independiente de cada componente del problema a su generación.

Dicho "sistema experimental", representado gráficamente en la Figura 1, nos ha permitido comparar la contribución relativa que tienen los dos componentes principales del problema de liberación de resistentes debidos al uso humano de antibióticos: una institución hospitalaria como el Clínico-Universitario de Santiago y la propia población, a causa del conocido (pero nunca cuantificado) problema de "automedicación" y seguimiento incompleto de los tratamientos prescritos por los médicos, o debido a su eliminación por procedimientos inadecuados. Con esto, estaremos en condiciones de conocer la eficiencia que el tratamiento secundario tiene para eliminar estos microorganismos. Finalmente, evaluaremos el riesgo de su liberación, analizando su persistencia en el ambiente, tanto líquido (efluente líquido en río) como ambiental (mejillones y rías).

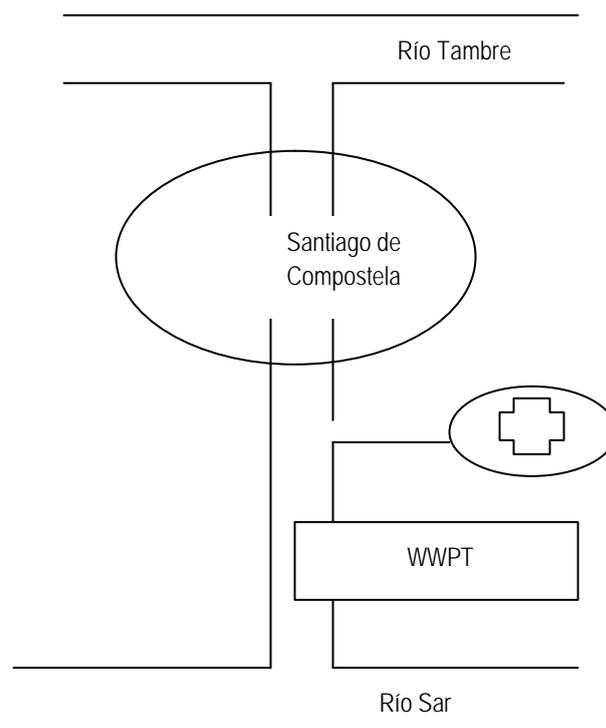


FIGURA 1

El trabajo que se describe a continuación se basó en la hipótesis de que en las plantas de tratamiento de aguas residuales se puede incrementar la prevalencia de cepas bacterianas resistentes a agentes antibacterianos procedentes de las aguas residuales urbanas y, en mayor medida, de aguas residuales de origen hospitalario. Una vez evaluado el riesgo de liberación de organismos resistentes, será el momento de abordar los problemas que se susciten como consecuencia del resultado obtenido.

Para alcanzar este objetivo principal, se propuso el presente proyecto cuyo plan de trabajo se ha diseñado con el objeto de:

1. Investigar la presencia de bacterias con un probable origen hospitalario en agua, sedimentos y moluscos presentes en los bancos marisqueros de la desembocadura del río Ulla en la Ría de Arousa.
2. Evaluar la capacidad de los microorganismos multirresistentes de origen hospitalario para atravesar la barrera de la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) de Silvouta en Santiago de Compostela.
3. Estudiar la incidencia de microorganismos multirresistentes característicos de un vertido hospitalario en los residuos fecales del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.
4. Analizar las características genotípicas de los microorganismos multirresistentes aislados a partir de los diferentes tipos de muestras (agua residual, agua de río, agua de mar, sedimentos y moluscos) con el objeto de establecer la relación epidemiológica existente entre los microorganismos presentes en los residuos fecales del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, en el efluente de la EDAR y en los bancos marisqueros de la desembocadura del río Ulla en la Ría de Arousa.

MATERIAL Y MÉTODOS

El modelo que nos propusimos emplear para demostrar o rechazar la hipótesis de partida estuvo compuesto por los siguientes componentes:

- Colector general de aguas residuales de la ciudad de Santiago de Compostela.
- Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.
- Estación depuradora de aguas residuales de Silvouta en la que son tratadas las aguas residuales urbanas de Santiago y del Complejo Hospitalario.
- Río Sar al que vierte el efluente de la EDAR.

Este modelo hizo uso de las ventajas que supone tener las instalaciones del Hospital General de Galicia en Santiago, con la posibilidad de muestrear sus vertidos independientemente de la red general de Santiago; con la ventaja de disponer de personas conocedoras de la política de antibióticos del propio hospital formando parte del trabajo a desarrollar; con la posibilidad de disponer de un cauce de río (Tambre) para la producción de agua potable distinto

del río (Sar) que recibe el vertido de la estación de tratamiento de aguas residuales, donde monitorizar la presencia de los parámetros que se definan; con la ventaja de conocer los rendimientos de depuración de dicha instalación; y, con el hecho de que el río mencionado (Sar), desemboca en las proximidades de una zona de cultivos de moluscos.

Entre los microorganismos indicadores de contaminación fecal, *Escherichia coli* está considerado como uno de los más adecuados para detectar la presencia de residuos de origen fecal en ecosistemas acuáticos (McLellan y cols., 2001; Scott y cols., 2002). De la misma forma, los enterococos también son considerados como buenos indicadores de polución fecal, especialmente en ambientes marinos (Scott y cols., 2002).

La producción de β -lactamasas de amplio espectro entre las enterobacterias, en particular *E. coli* o *Klebsiella pneumoniae*, ha emergido como un importante mecanismo de resistencia a los antibióticos β -lactámicos (que representan en torno al 50% de los antimicrobianos consumidos) que ha conducido en los últimos años a un incremento de las infecciones producidas por estos microorganismos, los cuales además adquieren resistencia a otros grupos de antimicrobianos (Spanu y cols., 2002). Por otra parte, el extensivo empleo de antibióticos glicopeptídicos ha conducido a un incremento selectivo de enterococos resistentes a la vancomicina en el intestino del hombre, que a su vez son resistentes a otros agentes antimicrobianos (Tomita y cols., 2002). De acuerdo con lo expuesto, una parte más o menos importante de los miembros de *E. coli* o *Enterococcus* spp. presentes en las aguas residuales hospitalarias estarán dentro del grupo de los *E. coli* productores de β -lactamasas (ECPL) y de enterococos resistentes a la vancomicina (ERV).

Muestreo

Para la detección de la presencia de diferentes grupos de bacterias resistentes a agentes antibacterianos se llevó el muestreo de agua residual en los efluentes de diferentes hospitales de Santiago de Compostela, así como en el influente y efluente de la EDAR de Santiago de Compostela:

Durante este tiempo se llevaron a cabo los siguientes muestreos:

Invierno: 16 de enero y 11 de febrero de 2004.

Primavera: 14 y 22 de abril de 2004.

Otoño: 17 y 24 de septiembre de 2004.

Invierno: 3 y 10-11 de febrero de 2005.

Verano: 17 y 24 de junio de 2005.

Se recogieron muestras en los siguientes puntos:
CG CHUS: colector general, punto localiza antes de la conexión con el efluente del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago.

CHUS 1: efluente del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago en la carretera de Noia secundaria.

CHUS 2: efluente del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago en la carretera de Noia principal.

CHUS 3: efluente del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago en la carretera de la rúa Hospicio.

PROV: efluente del Hospital Principal de Conxo (Santiago).

CG PROV: colector general, punto localiza antes de la conexión con el efluente del Hospital Principal de Conxo (Santiago).

EDAR-I: influente de la EDAR de Santiago de Compostela.

EDAR-E: efluente de la EDAR de Santiago de Compostela.

Además de las aguas residuales procedentes de los complejos hospitalarios de Santiago, de las del colector general y las de entrada y salida de la EDAR de Silvouta, se muestrearon y analizaron muestras de agua recogidas en 3 puntos del río Sar (ADEP: antes de la EDAR de Santiago; BERTAM: Bertamirás; SAR-ULLA: desembocadura del río Sar en el río ULLA) y en 5 puntos del banco Marisquero de Carril.

Análisis microbiológico

En todas las muestras de agua, sedimentos y berberechos se evaluó la presencia de los siguientes grupos de bacterias resistentes a agentes antibacterianos:

- Coliformes totales, *E. coli*, y *E. coli* productores de β -lactamasas (ECPL).

- Enterococos y enterococos resistentes a la vancomicina (ERV).

El aislamiento de coliformes totales y de ECPL a partir de las muestras de agua se llevó a cabo mediante la inoculación de 1 ml de diferentes diluciones decimales en agar Coli-ID (bioMérieux, France) e incubación a 35 °C/24 h (Araujo y cols., 2001). En todos los casos, el agar Coli-ID se suplementó con 2 μ g/ml de los siguientes agentes antibacterianos especificados por el Comité Nacional sobre Estándares de Laboratorios Clínicos de EEUU para la selección de bacterias productoras de β -lactamasas (Steward y cols., 2001): cefpodoxima, ceftazidima, aztreonam, cefotaxima y ceftriaxona. A mayores en los muestreos posteriores al primero, se empleó la gentamicina como antibiótico adicional.

Cuando fue necesario, con el objeto de aumentar la sensibilidad del análisis, las muestras se inocularon en el medio de enriquecimiento caldo lauril triptosa suplementado con los mismos agentes antibacterianos empleados en el agar Coli-ID. Tras la incubación de este medio de cultivo a 35°C/48 h (APHA, 1998), se inocularon alícuotas del mismo en agar Coli-ID suplementado con antibióticos. Tanto con los sedimentos como con las muestras de berberechos, se inocularon porciones de 100 g de muestra en medio de cultivo apropiado.

La confirmación de la producción de β -lactamasas por las cepas aisladas a partir del agar Coli-ID suplementado se llevó a cabo mediante el test especificado por Steward y cols. (2001).

El aislamiento de enterococos ERV a partir de las muestras de agua se llevó a cabo mediante la inoculación de 1 ml de diferentes diluciones decimales en agar Slanetz-Bartley (Oxoid, Germany) e incubación a 35 °C/48 h (Norma ISO 7899-2). En todos los casos, el agar Slanetz-Bartley se suplementó con 32 μ g/ml de vancomicina (Murray y cols., 1995).

A partir de cada muestra, se seleccionó un número representativo de cepas multirresistentes que se caracterizaron bioquímicamente y se sometieron a pruebas de sensibilidad a una batería de 12 agentes antibacterianos de uso exclusivo clínico para determinar la concentración mínima inhibitoria, CMI, empleando el sistema ATB (bioMérieux), según el método recomendado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS 2002 Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically 3rd Edition. Approved Standard M7-A5. Wayne, Pa. USA).

Análisis genotípico

Además de la cuantificación del riesgo de la presencia de bacterias resistentes, se llevó a cabo un estudio de la relación epidemiológica existente entre los microorganismos presentes en los diferentes puntos o áreas de muestreo con el objeto de establecer el grado de interrelación entre los mismos.

Las cepas de *E. coli* y *Enterococcus* spp. con características fenotípicas idénticas se sometieron a un análisis genotípico mediante la técnica de electroforesis en campo pulsado (PFGE) que es considerada como una técnica de tipificación de microorganismos altamente discriminativa y más adecuada que otros métodos de tipificación molecular o bioquímica (Olive y Bean, 1999) para estudios epidemiológicos.

En ambos casos se empleó el sistema CHEF-DR III (Bio-Rad) para llevar a cabo la electroforesis. El análisis de los geles se realizó mediante un sistema de documentación y análisis de imagen GEL DOC 2000 (Bio-Rad) y los programas "quantity one" y "diversity database". A partir de este análisis se estableció el grado de relación epidemiológica entre las diferentes cepas seleccionadas.

RESULTADOS

Patrones de resistencia de los microorganismos

Los patrones de resistencia de algunos de los microorganismos aislados, en los diferentes puntos de muestreo se representan en las figuras que siguen a continuación. Se trata de valores medios de resistencia de los diferentes microorganismos de cada especie aislados en cada uno de los puntos que se indican en los gráficos (Figuras 1-3).

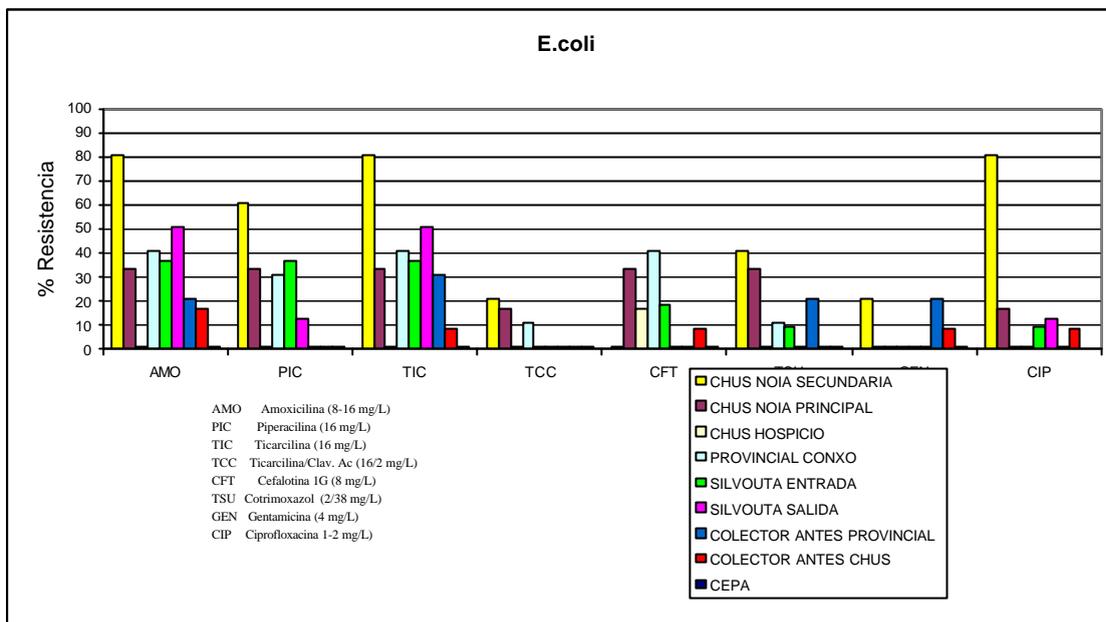


FIGURA 1. Resistencias a diferentes antibióticos en *E. coli* aisladas en los diferentes puntos de muestreo.

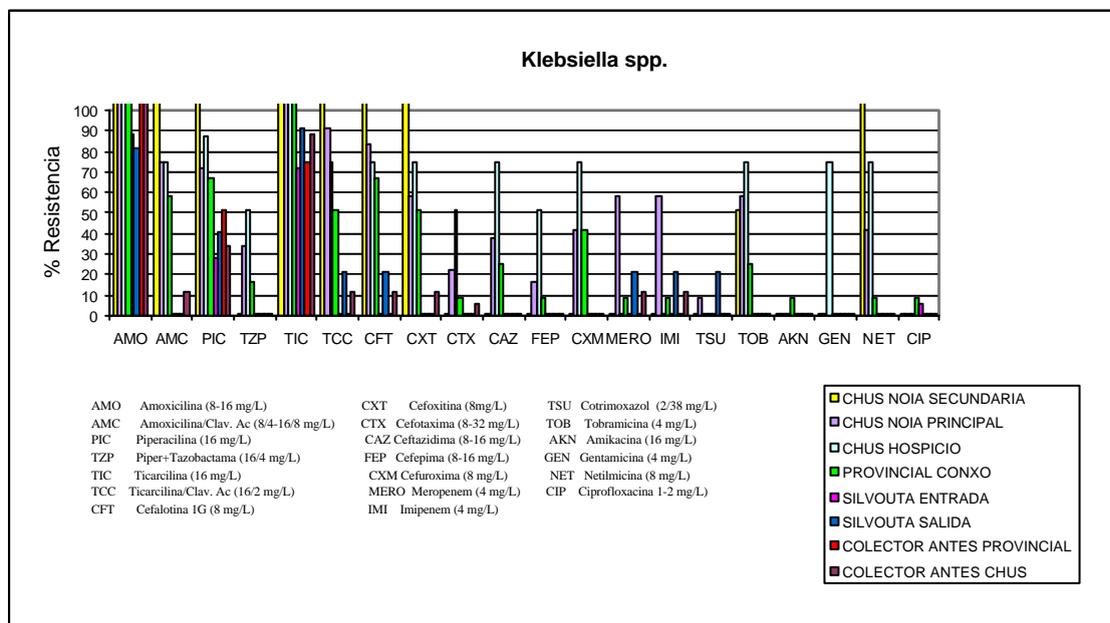


FIGURA 2. Resistencias a diferentes antibióticos en *Klebsiella spp.* aisladas en los diferentes puntos de muestreo.

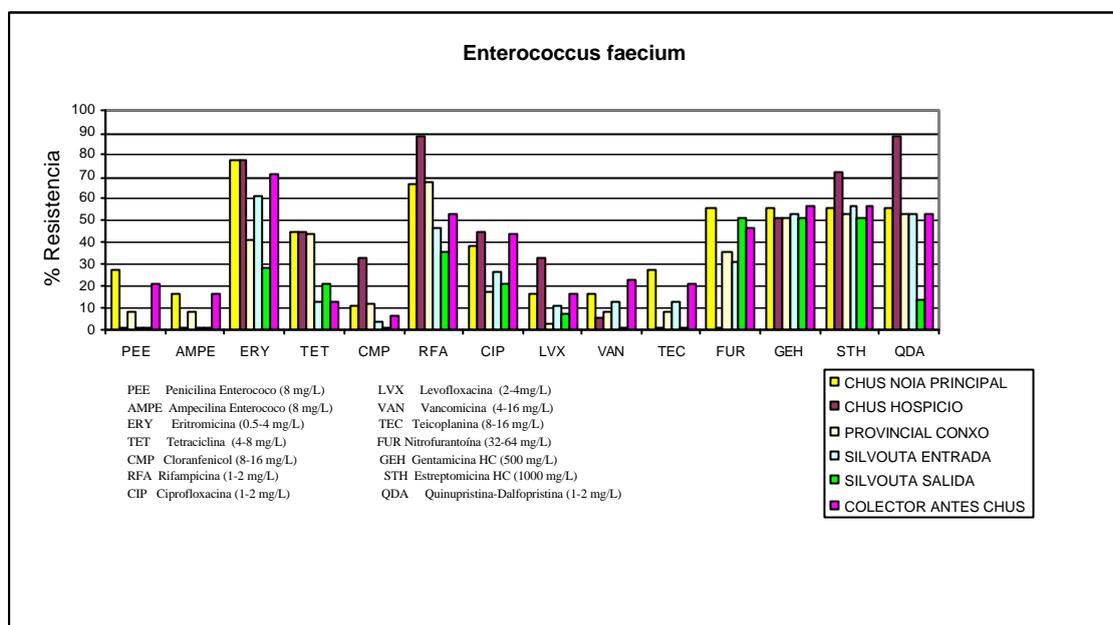


FIGURA 3. Resistencias a diferentes antibióticos en *Enterococcus faecium* aisladas en los diferentes puntos de muestreo.

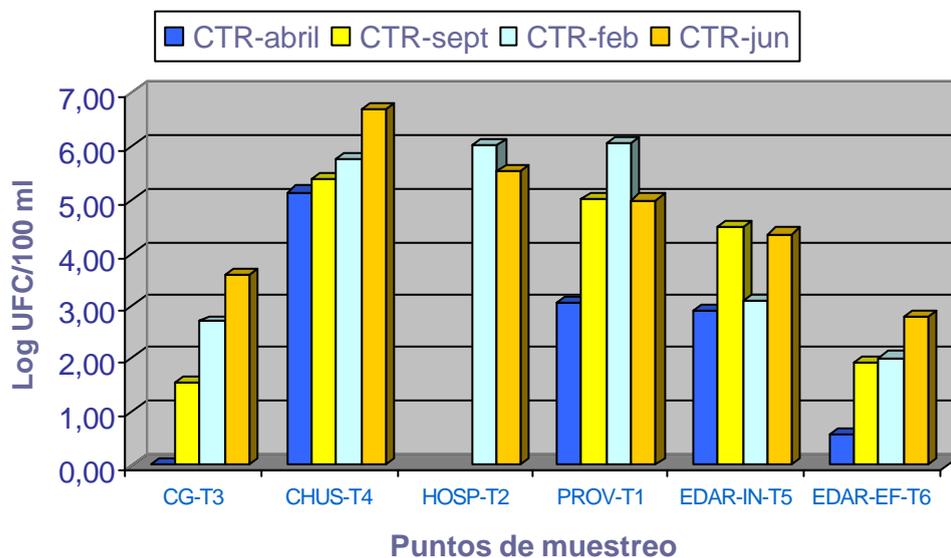


FIGURA 4. Recuentos de coliformes totales resistentes a cefalosporinas y gentamicina (CTR) obtenidos en las aguas recogidas en abril, septiembre (sept), febrero (feb) y junio (jun).

Microorganismos resistentes en aguas residuales

En las Figuras 4 y 5 se representan de forma conjunto los recuentos de coliformes y *E. coli* resistentes a cefalosporinas y gentamicina correspondientes a los cuatro muestreos llevados a cabo en cuatro épocas del año bien diferenciadas. En estos gráficos puede observarse que las aguas residuales del Complejo Hospitalario de Santiago (CHUS-T4 y HOSP-T2), además de las del Hospital Provincial (PROV-T1) liberan importantes cantidades de bacterias fecales resistentes a agentes antibacterianos a lo largo del tiempo, independientemente de la época del año que se tenga en cuenta.

Otro aspecto que se deriva del análisis de estas figuras, es que a la planta depuradora de aguas residuales llegan importantes cantidades de bacterias resistentes, superiores a las que se detectan en el colector general antes de la descarga de los colectores procedentes de los complejos hospitalarios. Aunque durante el proceso de depuración se produce un descenso importante en el nivel de microorganismos resistentes, estos continúan liberándose tras dicho proceso. En este sentido, la depuración en estas condiciones no provoca una eliminación total de este tipo de microorganismos.

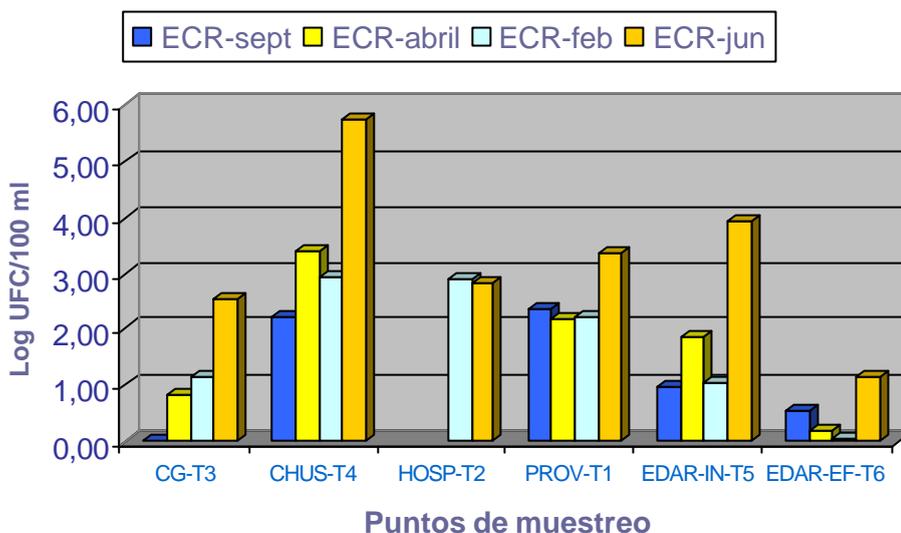


FIGURA 5. Recuentos de *Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas y gentamicina (ECR) obtenidos en las aguas recogidas en abril, septiembre (sept), febrero (feb) y junio (jun).

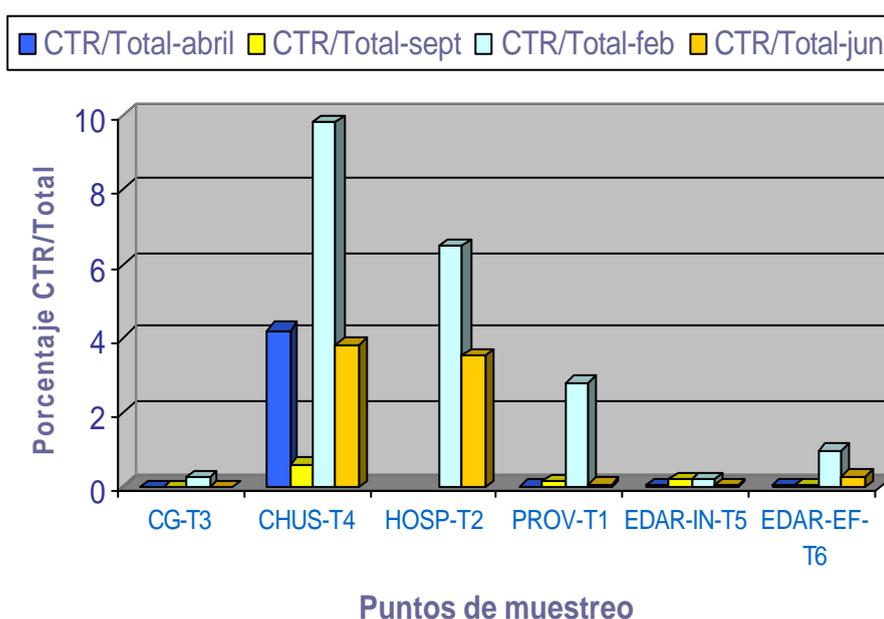


FIGURA 6. Proporción coliformes resistentes a cefalosporinas y gentamicina (CTR) respecto al total de coliformes en las aguas recogidas en abril, septiembre (sept), febrero (feb) y junio (jun).

Un análisis más en detalle de las figuras 4 y 5, permite comprobar que en general los mayores niveles de bacterias resistentes se detectaron en el colector de las aguas residuales procedentes del Complejo Hospitalario Universitario. En este sentido es de destacar la alta carga de *E. coli* resistentes eliminada por este colector durante el mes de junio.

Cuando se representan las proporciones de coliformes totales o *E. coli* resistentes a cefalosporinas y gentamicina (CTR) respecto al total de coliformes o *E. coli* (Figuras 6 y 7), se pone de manifiesto claramente la más alta proporción de bacterias

resistentes en el colector del Complejo Hospitalario Universitario.

El recuento de enterococos resistentes a la vancomicina obtenido a lo largo de los cuatro muestreos estacionales realizados a partir de las aguas residuales, se muestra en la Figura 8. Los resultados obtenidos confirman lo comentado con anterioridad, en el sentido de que estos microorganismos son muy abundantes en todas las aguas residuales, si bien en una proporción muy superior en las procedentes del Complejo Hospitalario de Santiago.

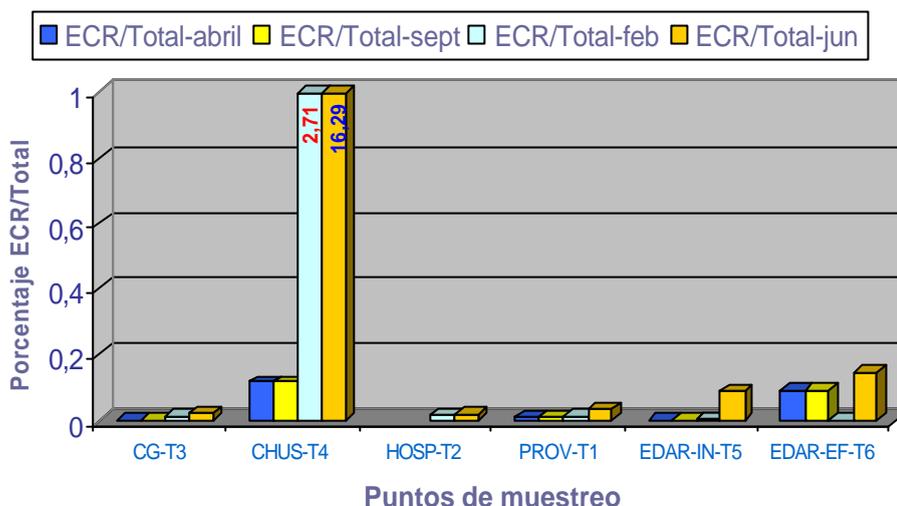


FIGURA 7. Proporción *E. coli* resistentes a cefalosporinas y gentamicina (ECR) respecto al total de *E. coli* en las aguas recogidas en abril, septiembre (sept), febrero (feb) y junio (jun).

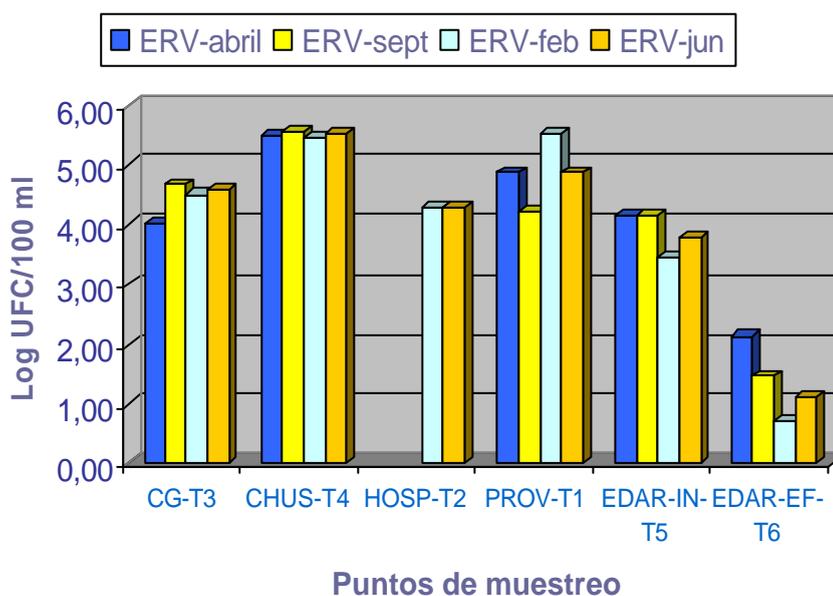


FIGURA 8. Recuentos de Enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) obtenidos en las aguas recogidas en abril, septiembre (sept), febrero (feb) y junio (jun).

Microorganismos resistentes en aguas del río Sar y Banco Marisquero de Carril

Además de las aguas residuales procedentes de los complejos hospitalarios de Santiago, de las del colector general y las de entrada y salida de la EDAR de Silvouta, se muestrearon y analizaron muestras de agua recogidas en 3 puntos del río Sar (ADEP: antes de la EDAR de Santiago; BERTAM: Bertamiráns; SAR-ULLA: desembocadura del río Sar en el río ULLA) y en 5 puntos del banco Marisquero de Carril.

Los recuentos medios de coliformes resistentes a cefalosporinas y gentamicina (CTR) obtenidos a lo largo de 6 muestreos llevados a cabo en el río Sar y banco Marisquero de Carril se presentan en la figura

9. En esta figura se puede observar un incremento significativo del nivel de coliformes resistentes en las aguas recogidas en Bertamiráns (a unos 8 Km del vertido de la EDAR de Silvouta), con respecto a los valores detectados en las aguas del río Sar recogidas antes de la EDAR. Este incremento se observó, no sólo en valores absolutos, sino también en valores relativos (Figura 10).

Por lo que respecta a las muestras de sedimentos y moluscos, los resultados obtenidos permiten concluir que en este tipo de muestras no se detectó la presencia de coliformes resistentes a las cefalosporinas y gentamicina.

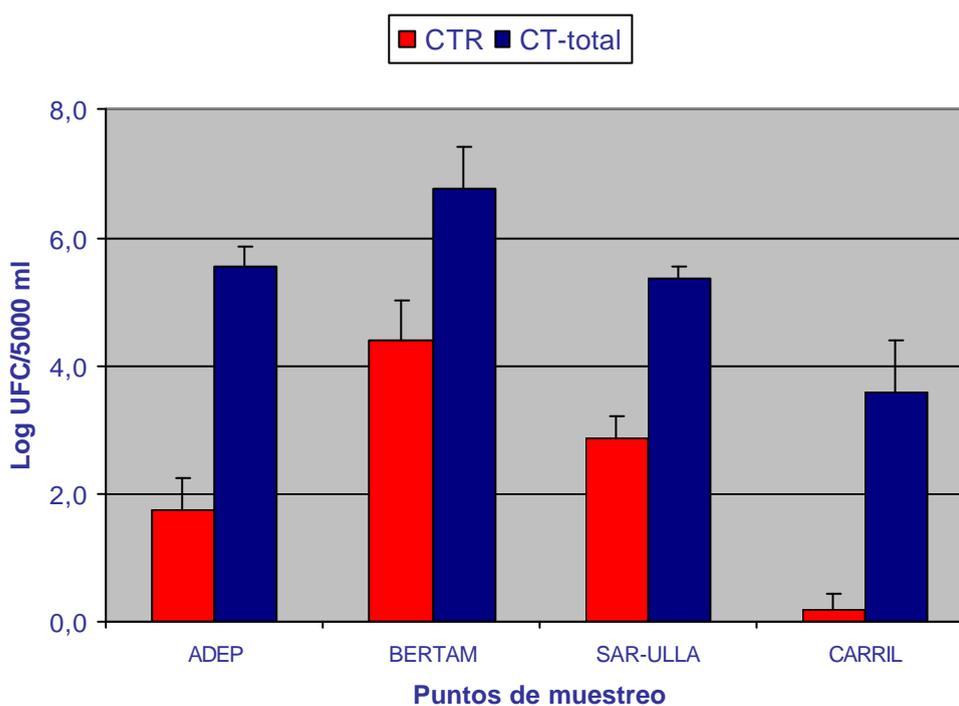


FIGURA 9. Recuentos de coliformes resistentes a cefalosporinas y gentamicina (CTR) obtenidos en agua procedente de distintos puntos del río Sar (ADEP: antes de la EDAR de Santiago; BERTAM: Bertamiráns; SAR-ULLA: desembocadura del río Sar en el río ULLA) y del banco marisquero de Carril.

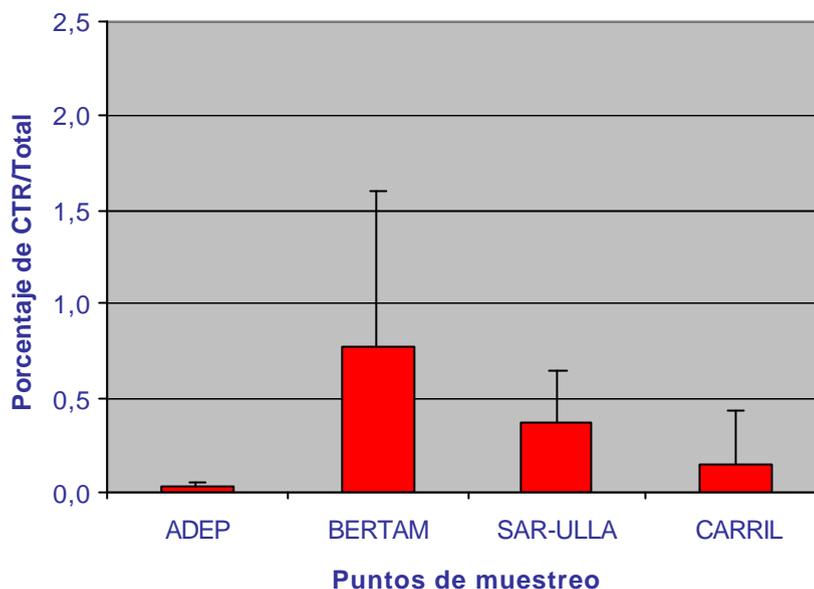


FIGURA 10. Proporción coliformes resistentes a cefalosporinas y gentamicina (CTR) respecto al total de coliformes en las aguas recogidas en distintos puntos del río Sar (ADEP: antes de la EDAR de Santiago; BERTAM: Bertamiráns; SAR-ULLA: desembocadura del río Sar en el río ULLA) y del banco marisquero de Carril.

TABLA 1. Cepas de *E. coli* resistentes sometidas a electroforesis en campo pulsado.

Origen	Punto de muestreo	Nº cepas	Nº patrones
HOSPITALES	Colector antes CHUS	23	11
	Colector CHUS 1	20	11
	Colector CHUS 2	36	13
	Colector Hosp. provincial	35	19
	Colector entrada depuradora	16	7
	Colector salida depuradora	15	11
CARRIL Y RÍO	Muestra 1	23	15
	Muestra 3	1	1
	Muestra 5	2	1
	Muestra 6	1	1
	Muestra 7	24	13
	Muestra 8	4	1
Total		200	104

Relación epidemiológica entre las cepas de *E. coli* resistentes aisladas de los diferentes tipos de muestras de agua

En la Tabla 1 se indica el número de cepas, el origen de las mismas y el número de patrones diferentes que se obtuvieron mediante su caracterización con electroforesis en campo pulsado.

De los 43 patrones obtenidos de las aguas residuales de los hospitales, 5 de ellos se encontraron en la entrada de la depuradora y uno de en la salida

de la depuradora. Este mismo patrón que se encontró en la salida de la depuradora, también fue encontrado en el agua del colector que está situado antes de los hospitales.

De los 32 patrones de cepas encontrados en las muestras obtenidas del río Sar y del banco Marisque-ro de Carril, ninguno presentó similitud con los patrones obtenidos de las cepas aisladas de aguas residuales de los hospitales.

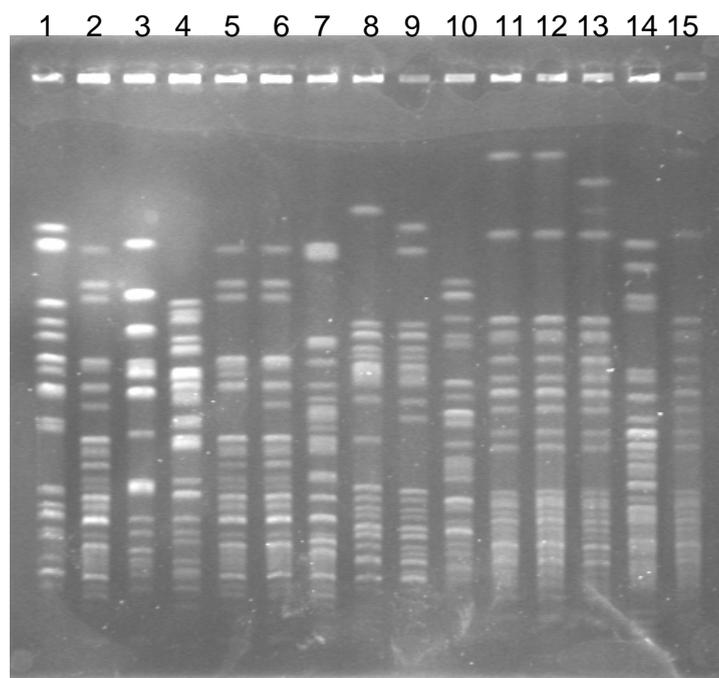


FIGURA 12. Patrones de PFGE de cepas de *E. coli* aisladas de las aguas residuales del CHUS.

En la Figura 12 (carriles del 1 al 15) se muestra la fotografía de uno de los geles con los patrones de PFGE de cepas de *E. coli* aisladas de las aguas residuales del CHUS. Las muestras 1-5 proceden del colector CHUS y las muestras 6-15 del colector Rúa Hospicio. El patrón mostrado en el carril 1, se encontró también en las muestras analizadas de la entrada y salida de la depuradora de A Silvouta.

CONCLUSIONES

1. Los datos obtenidos pusieron de manifiesto que las aguas residuales de origen hospitalario liberan proporciones muy elevadas de bacterias fecales resistentes a agentes antibacterianos (pueden alcanzarse valores superiores a 106 bacterias/100 mL de agua residual), independientemente de la época del año que se tenga en cuenta.

2. Del análisis de los datos obtenidos a partir de los diferentes efluentes de origen hospitalario, puede deducirse que el efluente del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago es el que contribuye de forma más importante a la liberación de bacterias resistentes al colector general.
3. La planta depuradora de aguas residuales de A Silvouta (Santiago de Compostela) recibe importantes cantidades de bacterias resistentes a agentes antibacterianos, superiores a las que se detectan en el colector general antes de la descarga de los colectores procedentes de los complejos hospitalarios. Aunque durante el proceso de depuración se produce un descenso importante en el nivel de microorganismos resistentes, estos continúan liberándose tras dicho proceso. En este sentido, la depuración en estas condiciones no provoca una eliminación total de las bacterias resistentes a agentes antibacterianos.

4. El análisis de los resultados obtenidos a partir de las muestras de agua recogidas en el río Sar, pusieron de manifiesto un incremento significativo del nivel de bacterias fecales resistentes en las aguas recogidas en Bertamiráns (a unos 8 Km del vertido de la EDAR de Silvouta), con respecto a los valores detectados en las aguas del río Sar recogidas antes de la EDAR.
5. Por otra parte, también se pudo observar que la concentración de bacterias fecales resistentes, experimentó un descenso paulatino a partir de Bertamiráns, alcanzando niveles muy bajos o indetectables en las aguas del banco Marisquero de Carril.
6. Por lo que respecta a las muestras de sedimentos y moluscos, los resultados obtenidos permiten concluir que en este tipo de muestras no se detectó la presencia de *E. coli* resistentes a las cefalosporinas y gentamicina.
7. De los 43 patrones obtenidos de las aguas residuales de los hospitales, 5 de ellos se encontraron en la entrada de la depuradora y uno de en la salida de la depuradora. Este mismo patrón que se detectó en la salida de la depuradora, también fue hallado en el agua del colector que está situado antes de los hospitales.
8. De los 32 patrones de cepas detectados en las muestras obtenidas del río Sar y del banco Marisquero de Carril, ninguno presentó similitud con los patrones obtenidos de las cepas aisladas de aguas residuales procedentes de los hospitales.

BIBLIOGRAFÍA

ACRE Annual Report N4; 1996/97. Department of the Environment, Transport and the Regions. London

APHA. (1998). Standard Methods for the examination of water and wastewater, 20th Ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. (2005). Antimicrobial Resistance: an ecological perspective. Washington D.C. 20036.

SUEIRO, R.A., ARAUJO, M., SANTOS, C.J., ARAUJO, M., GÓMEZ, M.J., GARRIDO, M.J. (2001). Evaluation of Coli-ID and Mug Plus media for recovering *E. coli* and other coliform bacteria from groundwater samples. *Wat. Sci. Technol.* 43:213-216.

ARAUJO, M., SUEIRO, R.A., SANTOS, C.J., ARAUJO, M., GÓMEZ, M.J., GARRIDO, M.J. (2002). Evaluation of chromogenic selective Coli-ID medium as alternative approach for recovering *E. coli* and other coliform bacteria from food samples. Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Paris, Francia.

GIBBS, R.A., HU, C.J., HO, G.E., AND UNKOVICH, I. (1997). Regrowth of faecal coliforms and salmonellae in stored biosolids and soil amended with biosolids. *Wat. Sci. Tech.* 35 (11-12):269-275.

GUARDABASSIA, L., DANILO M.A. LO FO WONG, AND ANDERS DALSGAARD. (2002). The effects of tertiary wastewater treatment on the prevalence of antimicrobial resistant bacteria. *Water Research* 36: 1955-1964.

MCLELLAN Y COL. (2001). Clonal populations of thermotolerant Enterobacteriaceae in recreational water and their potential interference with fecal *Escherichia coli* count. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:4934-4938.

MURRAY Y COL. (1995). Manual of clinical microbiology, 6th Ed. American Society for Microbiology, Washington DC.

OLIVE D. M. AND BEAN P. (1999). Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J. Clinical Microbiol.* 37:1661-1669.

SCOTT Y COL. 2002. Microbial source tracking: current methodology and future directions. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:5796-5803.

SAENZ, Y., BRIÑAS, L., DOMÍNGUEZ, E., RUIZ, J., ZARAGOZA, M., VILA, J., AND TORRES, C. (2004). Mechanism of resistance in Multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of Human, Animal and food origins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48 (10):3996-4001.

SILVA, J; CASTILLO, G, CALLEJAS, L; LÓPEZ, H. Y OLMOS, J. (2006), Frequency of transferable multiple antibiotic resistance amongst coliform bacteria isolated from a treated sewage effluent in Antofagasta, Chile. *Electronic Journal of Biotechnology.* Vol 9, Nº 5 533-540

SPANU Y COL. (2002). Occurrence of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to β -lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:196-2002.

STEWART Y COL. (2001). Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended-spectrum β -lactamase detection methods. *J. Clin. Microbiol.* 39 :2864-2872.

TOMITA Y COL. (2002). Possible connection between a widely disseminated conjugative gentamicin resistance (pMG1-like) plasmid and the emergence of vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. *J. Clin. Microbiol.* 40:3326-3333.

VILANOVA, X; MANERO, A; CERDAS-CUELLAR, M. AND BLANCH, A.R. (2004). The composition and persistence of faecal coliforms and enterococcal populations in sewage treatment

- plants. *Journal of Applied Microbiology* 96 279-288
- VIBEKE THAMDRUP ROSDAHL ET AL. "The Copenhagen Recommendations. Report from the Invitational EU Conference on The Microbial Threat". Copenhagen. Denmark, 9-10 September. 1998. <http://www.sum.dk/publika/micro98/>
- W.H.O. "WHO Global principles for the Containment of Antimicrobial Resistance in Animals Intended for Food". WHO/CDS/CSR/APH/2000.4. Geneva, 2000