



Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias
Escuela de Ciencias

PROFESOR PATROCINANTE
Dr. Eduardo Valenzuela Flores.
Instituto de Bioquímica
y Microbiología.
Facultad de Ciencias

ENTEROBACTERIAS AISLADAS DESDE FECAS DE BANDURRIA
(*Theristicus melanopsis*), Y SU RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Seminario de Graduación
presentada como parte de los
requisitos para optar al Grado de
Licenciado en Ciencias Biológicas

JAVIER ANTONIO MARTÍNEZ VILLAR
VALDIVIA – CHILE

2013

Dedico la presente investigación primero que todo a mi madre María, por ser un pilar fundamental en mi vida, y entregarme valores, cariño, espíritu de superación y fortaleza, todos estos años de educación.

A mi familia, en especial a mis tías Patricia, Edith y Odett por el gran apoyo, confianza y cariño cuando más lo necesité.

A mis primos Matías y Carla por su preocupación y apoyo. Mis amigos Jennifer, David, Patricio, Gerardo, Rodrigo, Nicolás, Sebastián y Geordy que me ayudaron en todo momento siendo fundamental en mi formación académica y también como persona.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer al Dr. Eduardo Valenzuela por ayudarme a realizar y colaborar con esta investigación.

Agradezco también a los profesores Oscar Martínez y Ronald Jara, por ser parte de mi comisión y por la entrega de conocimientos para desarrollar el presente estudio.

Agradezco también a mis compañeros de laboratorio por la ayuda y simpatía brindada en los momentos de trabajo experimental.

Agradecer a todo el personal del Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Austral De Chile en especial a Don Nelson por el apoyo y recomendaciones entregadas.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

		Pág.
1	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
2	INTRODUCCIÓN	2
	Hipótesis	6
	Objetivo general	7
	Objetivos específicos	7
3	MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1.1	Material biológico	8
3.1.2	Reactivos	8
3.1.3	Equipos	8
3.1.4	Otros	9
3.2	Métodos	9
3.2.1	Descripción área de estudio	9
3.2.2	Recolección de fecas de bandurria	9
3.2.3	Aislamiento de enterobacterias	10
3.2.4	Obtención e Identificación Taxonómica de cultivos puros obtenidos desde fecas de bandurria	11

3.2.5	Determinación de bacterias seleccionadas, a antibióticos de uso frecuente para tratar patologías entéricas.	14
4	RESULTADOS	16
5	DISCUSIÓN	20
	Conclusiones	23
6	BIBLIOGRAFÍA	24
7	ANEXO	30

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Test de inhibición de cepas de <i>Enterobacteriaceae</i> con estreptomicina	19
Figura 2	Test de inhibición de cepas de <i>Enterobacteriaceae</i> con ampicilina	19
Figura 3	Número de cepas asociado a su género bacteriano en dos épocas del año	44
Figura 4	Susceptibilidad frente a estreptomicina	45
Figura 5	Susceptibilidad frente a ampicilina	45

1. RESUMEN

Las aves silvestres pueden transportar y diseminar bacterias patógenas con mayor facilidad que otros animales silvestres, las bacterias del intestino de las aves tienen importancia para esta, pero podrían causar alguna patología entérica en humanos y otros animales. La presente investigación planteó que enterobacterias presentes en depósitos fecales de bandurrias (*Theristicus melanopis*) poseen resistencia a dos antibióticos de uso frecuente para tratar enfermedades entéricas. Mediante tómulas estériles se recolectaron en invierno y primavera, fecas de bandurrias desde el suelo en la Isla Teja y sus alrededores, Valdivia – Chile. Las fecas se sembraron en placas Petri que contenían agar eosina azul de metileno y agar Salmonella – Shigella, se incubaron a 37 °C por 24 h. La taxonomía de las cepas bacterianas se basó en la tinción de Gram y pruebas bioquímicas y para determinar la susceptibilidad a antibióticos, se realizó un antibiograma. En total se aislaron 120 cepas bacterianas, indiferente de la estación en que se realizó el muestreo, la mayoría correspondió a *Escherichia* (91 cepas). 108 de 110 cepas de enterobacterias fueron susceptibles a estreptomycin (2,75 mg de estreptomycin/10,3 mL de agar Müller Hinton (MH), equivalente a 8 mg de estreptomycin/1000 mL) y 66 cepas enterobacterias fueron susceptibles a ampicilina (0,34 a 34,330 mg de ampicilina/10,3 mL de agar MH, que son equivalentes a 1 a 100 mg de ampicilina/1000 mL).

Palabras claves: fecas de bandurrias, enterobacterias, taxonomía, antibióticos

SUMMARY

Wild birds can carry and spread pathogenic bacteria more easily than wild animals, bacteria from bird's intestine are important for this, but could cause some enteric disease in humans and other animals. This research suggested that Enterobacteriaceae present in fecal depositions of black-faced ibis (*Theristicus melanopis*) are resistant to two antibiotics commonly used to treat enteric diseases. Black faced ibis faeces were collected using sterile swabs during winter and spring, from the ground in Isla Teja and surroundings in Valdivia – Chile. Faeces were seeded in Petri dishes containing agar eosin methylene blue and agar Salmonella - Shigella, incubated at 37 °C for 24 h. The taxonomy of the bacterial strains was based on Gram staining and biochemical tests. To determine the susceptibility to antibiotics, an antibiogram was performed. A total of 120 bacterial strains were isolated, indifferent of the season in which the sampling was performed, most corresponded to *Escherichia* (91 strains). 108 of 110 strains of Enterobacteriaceae were susceptible to streptomycin (2.75 mg streptomycin/10, 3 mL of Mueller Hinton agar (MH), equivalent to 8 mg of streptomycin/1000 mL) and 66 Enterobacteriaceae strains were susceptible to ampicillin (0, 34 to 34,330 mg of ampicilin/10, 3 mL MH agar which are equivalent to 1 to 100 mg of ampicilin/1000 mL).

Key words: black faced ibis faeces, enteric bacteria, taxonomy, antibiotics.

2. INTRODUCCIÓN

Las *Enterobacteriaceae* son bacterias Gram negativas, mayoritariamente anaerobias facultativas, de tamaño variable y de morfología en su mayoría bacilo, generalmente se presentan como bacilos cortos. Son quimioheterótrofos, algunas poseen flagelo peritrico, son no esporulados, de acuerdo al 16S rRNA pertenecen a las gamma-Proteobacteria. Los principales exponentes de esta familia, pertenecen a los géneros: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Yersinia* entre otros (Madigan et al., 2003). En el caso de las aves, esta microbiota tiene características bien definidas según la localización que le corresponde. La composición y el número de bacterias varían considerablemente a lo largo del tracto gastrointestinal (Barbosa et al., 2005). Las bacterias juegan un rol muy importante en el tracto gastrointestinal de las aves, ya que tienen efecto en su morfología, metabolismo, patogénesis y respuesta inmune. (Mead, 2000), además se debe tomar en cuenta que en las aves silvestres se pueden transportar y diseminar microorganismos patógenos con mayor facilidad que en otros animales silvestres (Peterson et al., 2003).

Para conocer el ave en estudio y sus bacterias, se necesita entender la distribución de la microbiota en el tracto gastrointestinal de las aves. En el buche habitan un gran número de bacterias aerobias y anaerobias facultativas como *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., y *Enterobacteriaceae* (Lu et al., 2003). La microbiota del intestino delgado de las aves en general está formada fundamentalmente por *Lactobacillus* spp., que producen ácido láctico (Stern et al., 2006), los géneros

predominantes incluyen *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* y *Streptococcus*. En el íleon terminal se encuentran niveles altos de bacterias anaerobias, tales como *Clostridium* spp, *Bacteroides* spp y *Bifidus* spp. (Langhout, 1998).

El estudio de Tel y Keskin, (2012), avala que en las bacterias del intestino grueso de *Ibis eremita* (*Geronticus eremita*) ave filogenéticamente emparentada con *Thersisticus melanopis* Gmelin, se encuentran géneros tales como: *Yersinia* spp., y *Aeromonas* spp., pues el intestino grueso posee condiciones favorables, como un pH que fluctúa entre 7,0-7,5 que permite vivir a las bacterias de los géneros antes mencionados. Para interiorizar más en el tema es necesario conocer la biología del ave en estudio, *T. melanopis* conocida popularmente como bandurria, es un ave de la familia *Threskiornithidae*, que se distribuye en Latinoamérica: Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. En Chile se distribuye desde Antofagasta (Paposo) hasta Tierra del Fuego (Magallanes), tiene como hábitat bosques pantanosos, orillas de lagos y lagunas. La bandurria se caracteriza por poseer un largo de 73-75 cm (pico a cola), es grande, robusta y de alas anchas, su cabeza y cuello son de color amarillento ocráceo con corona y nuca más oscuras. Pecho blanquecino, separado del cuello por una línea gris, lados del pecho y abdomen de color negro. Pico largo curvado hacia abajo, de color negro la mitad basal y córnea el resto. Piel facial negra, rodeando el ojo rojo, y con carúncula negra bajo el pico (Jaramillo, 2005). Su alimentación consta de sapos, renacuajos, insectos y lombrices. Son de comportamiento gregario, la nidada consta de 2 a 3 huevos de fondo blanco con pequeñas pintas café. Las posturas de sus huevos son entre octubre y diciembre (Araya y Millie, 1992).

Por otra parte, el amplio uso de antibióticos en todo el mundo con distintos fines, ya sea en medicina humana y animal (tratar enfermedades o con el bienestar animal), combates de focos de infección (ambiental), combate de fitopatógenos (agrícola) o microorganismos que tienen que ver con el biodeterioro (industrial), si no se aplican en las dosis correctas tienden a terminar seleccionando cepas resistentes de bacterias, creando un problema crítico para la salud pública (Levy, 2002). Aunque las aves silvestres, como en el caso de la bandurria propuesta en el presente estudio, tienen poco contacto frecuente con agentes antimicrobianos, sin embargo pueden ser infectadas o colonizadas por bacterias resistentes.

De acuerdo a Cole et al., (2005) y Kozak et al., (2009), el contacto con el agua, y la adquisición a través de los alimentos parecen ser los principales aspectos de la transmisión de bacterias resistentes de origen humano, o veterinario, a los animales silvestres. Las aves silvestres y animales salvajes en general pueden servir como reservorios de bacterias resistentes a los antimicrobianos, esto se debería a factores genéticos de resistencia (Dolejska et al., 2007).

Generalmente para tratar enfermedades originadas por enterobacterias se utilizan antibióticos pertenecientes a la familia aminoglicósidos, los cuales son compuestos constituidos por moléculas de aminoazúcares conectadas por enlaces glicosídicos, dentro de esta familia de antibióticos se encuentran: estreptomicina, neomicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, etc. El mecanismo de acción de estas drogas es, la unión a la subunidad 30S del ribosoma, e inhiben la síntesis proteica (Mensa *et al.*, 2008). Otro grupo de antibióticos que se puede utilizar para tratar

enfermedades entéricas son los betalactámicos, el modo de acción de estos antibióticos es interrumpir la síntesis de péptidoglicano, constituyente de la pared celular, por ende bloquea la síntesis de pared celular de la bacteria. Dentro de esta familia se encuentra el aztreonam (monobactámico), ampicilina, amoxicilina etc. (Mensa *et al.*, 2008). Una manera de poder comprobar la sensibilidad o resistencia a estos antibióticos frente a cepas bacterianas, es por medio del antibiograma. El gran número de especies dentro de la familia *Enterobacteriaceae* conlleva una gran variabilidad de patrones de sensibilidad natural. Esta diversidad se ve además incrementada por la posibilidad de adquirir genes de resistencia, tanto de microorganismos de la misma especie como de otras (Navarro, 2002).

De acuerdo a lo expuesto en la presente investigación se aislarán desde fecas de bandurrias (*Theristicus melanopis*) cepas de bacterias de interés para la salud médico humano-animal y serán sometidas a tratamientos con antibióticos, para así poder determinar su resistencia.

En base a los antecedentes expuestos se plantea la siguiente hipótesis de trabajo, objetivo general y objetivos específicos.

Hipótesis

Enterobacterias presentes en depósitos fecales de bandurrias (*Theristicus melanopis*) poseen resistencia a dos antibióticos de uso frecuente para tratar enfermedades entéricas.

Objetivo general

Aislamiento de enterobacterias, en los depósitos fecales de la bandurria (*T. melanopis*) del Campus Isla Teja, Universidad Austral de Chile y sus alrededores, y su posterior determinación *in vitro* de la susceptibilidad a antibióticos de uso frecuente contra enterobacterias.

Objetivos Específicos

- Recolectar muestras de fecas de bandurrias (*T. melanopis*) en el Campus Isla Teja, Universidad Austral de Chile y sus alrededores, en dos épocas del año (invierno y primavera), y aislar desde las fecas enterobacterias.
- Identificar taxonómicamente hasta el rango de género las cepas bacterianas aisladas, desde fecas de bandurrias.
- Determinar *in vitro* la susceptibilidad o resistencia de las cepas obtenidas en cultivo puro, frente a dos antibióticos de uso general para tratar enfermedades entéricas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material biológico

En esta investigación se utilizaron 120 cepas bacterianas, obtenidas desde fecas de bandurria (*T.melanopis*) en el sector de muestreo Isla Teja y alrededores, en dos épocas de recolección, invierno y primavera respectivamente.

3.1.2 Reactivos

Agar citrato de Simmons, agar eosina-azul de metileno (EAM), agar Nitrato, agar peptona, agar Salmonella-Shigella (SS), agar urea, alcohol 70%, antibióticos estreptomicina (2,75 mg de estreptomicina/10,3 mL de agar Müller Hinton) y ampicilina (0,34; 1,373; 2,75; 10,99 y 34,33 mg de ampicilina/10,3 mL de agar MH), caldo MR-VP, caldo peptona, cloruro de sodio (NaCl), extracto de carne, lugol, peróxido de hidrógeno, reactivo de Barrit (solución A y solución B), reactivo Kovac, reactivo nitrato (solución A y solución B), reactivo Rojo metilo, safranina 0,25 %, solución alcohol acetona, violeta de Genciana.

3.1.3 Equipos

Agitador Max Q 300, autoclave Market forge, balanza Ohaus Scout II, baño termoregulado Selecta, cámara de flujo laminar Labogard Class II Safety Cabinet, microonda LG, horno Pasteur, Incubadora Binder, microscopio Olympus CX-31; microscopio Olympus CX-21, refrigerador LG GM-343-SC.

3.1.4 Otros

Aceite de inmersión, agua destilada estéril, algodón, asa de siembra, botellas de vidrio de 500 mL, elásticos, cubreobjetos, espátula de metal, gradillas de metal, gradillas de plásticos, gasa, mecheros, papel con acetato de plomo, pinzas, pipetas Pasteur, pipetas volumétricas de 1,0 y 10 mL, placas Petri, plumón permanente, portaobjetos, probetas de 500 mL y 1000 mL, tijeras, toallas de papel, tubos de ensayo, tómulas estériles, vasos precipitados de 200 mL y 500 mL.

3.2 Métodos

3.2.1 Descripción del área de estudio

La toma de muestras de fecas de bandurria (*T. melanopsis*) se realizó en el campus Isla Teja, de la Universidad Austral de Chile (39°47'59.00"S 73°15'42.90"O) y sus alrededores, en dos épocas del año (invierno y primavera del 2012), y en el Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Austral de Chile se efectuó el trabajo de laboratorio, donde se aislaron enterobacterias de interés para la salud.

3.2.2 Recolección de fecas de bandurrias

Para la obtención de las muestras de fecas de bandurria (*T. melanopsis*), se realizaron dos muestreos invierno (15 muestras) y primavera (15 muestras). Para recolectar las fecas se usaron tómulas estériles humedecidas en agua destilada

estéril. Sobre la muestra respectiva de feca fresca, se depositó la tórula teniendo cuidado de no arrastrar tierra, luego la tórula conteniendo la muestra de feca, se depositó al interior de un tubo de ensayo estéril, el tubo fue rotulado (fecha y lugar). A continuación los tubos conteniendo las tóruas con fecas fueron transportados en una bolsa de plástico sellada al Instituto de Bioquímica y Microbiología. Las muestras se procesaron máximo 30 min., después de la toma de muestra.

3.2.3 Aislamiento de Enterobacterias

El aislamiento de las enterobacterias, se efectuó mediante el método de siembra con tórula, usando medios de cultivos diferenciales: agar eosina-azul de metileno (AEAM) y agar Salmonela - Shigella (SS). La tórula respectiva conteniendo la muestra de feca de bandurria se deslizó de un extremo al otro y sin devolverse sobre la superficie del AEAM contenido en la placa Petri. Una vez sembrado la placa se incubó a 37°C por 24 horas, de igual manera se procedió con el medio SS. En total se sembraron 15 placas con AEAM y 15 placas con SS. Luego de la incubación se seleccionaron las colonias aisladas (4 colonias por placa) y por medio de cultivo, estas se sembraron por estrías en tubos que contenían agar peptona al 2% (AP) inclinado, los tubos una vez sembrados se incubaron a 37 °C por 24 horas, y posterior al crecimiento se almacenaron a 4 °C, hasta realizar los estudios respectivos.

3.2.4 Obtención e identificación taxonómica de cultivos puros obtenidos desde fecas de bandurria

De cada uno de los tubos señalados en el punto 3.2.3, se extrajo en forma independiente una pequeña cantidad de inóculo y con él se realizó la tinción de Gram, luego las preparaciones fueron observadas al microscopio óptico, para determinar la pureza del cultivo, la morfología, agrupación y reacción al Gram (Gram positivas o negativas) de las bacterias en estudio. Una vez que se verificó la obtención de cultivos puros, se procedió a la identificación taxonómica en forma individual de cada cepa obtenida, esta se basó principalmente en características morfológicas, bioquímicas y fisiológicas. Se utilizaron las siguientes pruebas bioquímicas:

(a) Prueba del Indol: esta prueba permite determinar si la bacteria en estudio presenta la enzima triptofanasa. Se sembraron tubos que contenían caldo peptona, una vez sembrados los tubos fueron incubados durante 24 horas a 37°C, tras la incubación a cada tubo se le agregó 0,3 mL de reactivo Kovac. Una reacción positiva se denota por la formación de un anillo rojo-cereza en el menisco del caldo.

(b) Prueba del Rojo Metilo: esta prueba permite determinar si la bacteria en estudio realiza una fermentación fórmica tipo ácido mixta. Se sembraron tubos que contenían caldo MR-VP, una vez sembrados los tubos fueron incubados durante 24 horas a 37°C, tras la incubación a cada tubo se le agregó 0,3 mL de reactivo rojo metilo. Una reacción positiva se denota por que el contenido del tubo se torna de color rojo.

(c) Prueba Voges-Proskauer: esta prueba permite determinar si la bacteria en estudio realiza una fermentación fórmica tipo ácido butilenglicol. Se sembraron tubos que contenían caldo MR-VP, una vez sembrados los tubos fueron incubados durante 24 horas a 37°C, tras la incubación a cada tubo se le agregó reactivo de Barrit (solución A 0,5 mL. y solución B 0,2 mL.), se dejó 10 minutos a temperatura ambiente y si el contenido del tubo se torna de color rosado la prueba es positiva.

(d) Prueba del Citrato: permite determinar si la bacteria en estudio es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono y energía. Se sembraron tubos que contenían agar citrato Simmons inclinado, una vez sembrados los tubos fueron incubados durante 24 horas a 37°C. La reacción es positiva si el medio cambió de color verde a color azul.

(e) Prueba reducción del Nitrato: esta prueba permite determinar si la bacteria en estudio usa el nitrato como último aceptor de hidrógeno (anaerobio facultativo) y también formar compuestos tales como nitrito, amoníaco y oxido nitroso. Además se puede determinar la motilidad de la bacteria. Se sembraron por picadura tubos que contenían agar nitrato al 1,5%, una vez sembrados los tubos fueron incubados durante 24 horas a 37°C, posterior a la incubación se agregó reactivo Nitrato (0,5 mL. solución A y 0,5 mL. solución B). La prueba es positiva cuando el contenido del tubo se tornó de color violeta a café ladrillo, y para la motilidad se aprecia una turbidez.

(f) Prueba de producción de amoníaco a partir de urea: esta prueba permite determinar si la bacteria en estudio produce la enzima ureasa que hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Se sembraron por picadura tubos que contenían agar urea, una vez sembrados los tubos fueron incubados durante 24 horas a 37°C. La prueba es positiva cuando el contenido del tubo se tornó de color fucsia.

(g) Prueba Producción de gas Sulfídrico: esta prueba permite determinar si la bacteria en estudio produce la enzima desulfhidrasa, que actúa sobre los aminoácidos azufrados liberando H₂S. En la boca del tubo usado para la prueba del Indol (a) se cuelga por el lado interior una tira de papel filtro impregnado en acetato de plomo. El tubo fue incubado por 24 h a 37°C. La prueba es positiva cuando la tira de papel se torna de color negro.

Una vez leídas las pruebas se cotejan los resultados obtenidos con las claves y tablas que aparecen en el Manual de Bergey (Buchanan y Gibbons, 1974; Holt et al., 2000), un extracto para las *Enterobacteriaceae* se presenta en la Tabla 1. Aquellas cepas bacterianas que de acuerdo a la literatura sean descritas como patógenas para el ser humano o animales domésticos, fueron sometidas a un test de susceptibilidad, con antibióticos de uso frecuente para enterobacterias.

Tabla 1. Géneros de *Enterobacteriaceae* y sus principales pruebas bioquímicas para su identificación taxonómica.

TAXON	INDOL	ROJO METILO	VOGES PROSKAUER	CITRATO	NITRATO	UREA	H ₂ S
<i>E. coli</i>	+	+	-	-	+	-	+
<i>Citrobacter</i>	-	+	-	+	+	V ^w	V ⁺
<i>Klebsiella</i>	-	-	+	+	+	+	-
<i>Enterobacter</i>	-	-	+	+	+	V	-
<i>Serratia</i>	-	V	+	+	+	V ^w	-
<i>Yersinia</i>	V	+	-	-	+	+	-
<i>Salmonella</i>	-	+	-	-	+	-	+
<i>Shigella</i>	V	+	-	-	-	-	-

+ = positivo. - = negativo. V = variable. V^w = resultados variables, reacción débil si es positivo. Fuente: Valenzuela (2003).

3.2.5 Determinación de bacterias seleccionadas, a antibióticos de uso frecuente para tratar patologías entéricas.

Para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana se utilizó, la técnica de dilución en agar. Los antibióticos que se utilizaron fueron: estreptomycin y ampicilina. Para ello se utilizaron placas Petri que contenían 10 mL de agar Müller-Hinton y 0.3 mL de una suspensión de 2,75 mg de estreptomycin. Para *Citrobacter* 34,330 mg de ampicilina; para *Escherichia* 2,75 mg de ampicilina; para *Salmonella* 0,34 mg de ampicilina; para *Shigella* 1,373 mg de ampicilina y para *Yersinia* 10,99 mg de ampicilina. En cada placa

fueron sembradas con un asa de siembra calibrada y por duplicado 110 colonias bacterianas, y en placas sin antibióticos se sembraron las mismas cepas, tras lo cual las placas se incubaron por 24 horas a 37 °C. Se interpretó como susceptible la ausencia de crecimiento de la cepa bacteriana y como resistente el crecimiento bacteriano (formación de colonias). Las concentraciones utilizadas de estreptomicina y ampicilina son las señaladas por Mensa *et al.*, (2008), en su Guía terapéutica antimicrobiana.

4. RESULTADOS

En la Tabla 2, se indican los géneros de *Enterobacteriaceae* y número de cepas de acuerdo a la época de muestreo realizados a fecas de bandurria (*Theristicus melanopis*).

Tabla 2. Determinación taxonómica hasta género, de cultivos puros de *Enterobacteriaceae*, obtenidos desde fecas de bandurrias (*Theristicus melanopis*) en dos épocas de muestreo.

Género Bacteriano	Muestreo 1 (Invierno)	Muestreo 2 (Primavera)	Total
<i>Citrobacter</i>	1	1	2
<i>Escherichia</i>	47	44	91
<i>Salmonella</i>	3	6	9
<i>Shigella</i>	0	2	2
<i>Yersinia</i>	6	0	6
Total	57	53	110

Como se observa en la Tabla 2, las cepas pertenecientes a *Enterobacteriaceae* se agruparon taxonómicamente en 5 géneros: *Citrobacter*; *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*. Numéricamente la mayoría de las cepas (91) pertenecieron a *Escherichia*, independiente de la época de muestreo y los menores números de cepas (2), pertenecieron a *Citrobacter* y *Shigella*. Por último, se aisló (57) cepas en invierno y (53) en primavera. Para mayores detalles ver Tabla 4 y Figura 3.

En la Tabla 3, se indican las cepas bacterianas susceptibles o resistentes a dos antibióticos de uso común para el tratamiento de patologías entéricas y en las Figura 1 y 2, se muestran fotografías de las colonias sembradas.

Tabla 3. Determinación *in vitro* de la susceptibilidad de cepas de *Enterobacteriaceae* obtenidas en cultivo puro frente a estreptomicina y ampicilina, mediante antibiograma

Género Bacteriano	Antibiótico 1 (estreptomicina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
<i>Citrobacter</i>	2	0	2	0
<i>Escherichia</i>	89	2	57	34
<i>Salmonella</i>	9	0	4	5
<i>Shigella</i>	2	0	1	1
<i>Yersinia</i>	6	0	2	4
Total	108	2	66	44

A = 2,75 mg de estreptomicina/10,3 mL de agar Müller Hinton (MH), equivalente a 8 mg de estreptomicina/1000 mL. B = Para *Citrobacter* 34,330 mg de ampicilina/10,3 mL de agar MH, equivalente a 100 mg/1000mL. Para *Escherichia* 2,75 mg de ampicilina/10,3 mL de agar MH equivalente a 8 mg/1000mL. Para *Salmonella* 0,34 mg de ampicilina/10,3 mL de agar MH equivalente a 4 mg/1000mL. Para *Shigella* 1,373 mg de ampicilina/10,3 mL de agar MH equivalente a 4 mg/1000mL. Para *Yersinia* 10,99 mg de ampicilina/10,3 mL de agar MH equivalente a 32 mg/1000mL (concentraciones utilizadas en base a espectro antibacteriano de estreptomicina y ampicilina extraídas de Mensa y Gatell (2008) Guía terapéutica antimicrobiana.

Como se observa en la Tabla 3, la mayoría de las cepas de *Enterobacteriaceae* (108 cepas), fueron susceptible a estreptomycin, solo 2 cepas del género *Escherichia* fueron resistentes (Figura 1). Por su parte, 66 cepas de enterobacterias fueron susceptibles a ampicilina y un total de 44 cepas fueron resistentes, destacando las del género *Escherichia* (Figura 2). Para más detalles ver Tabla 5, Figura 4 y 5 en Anexo.

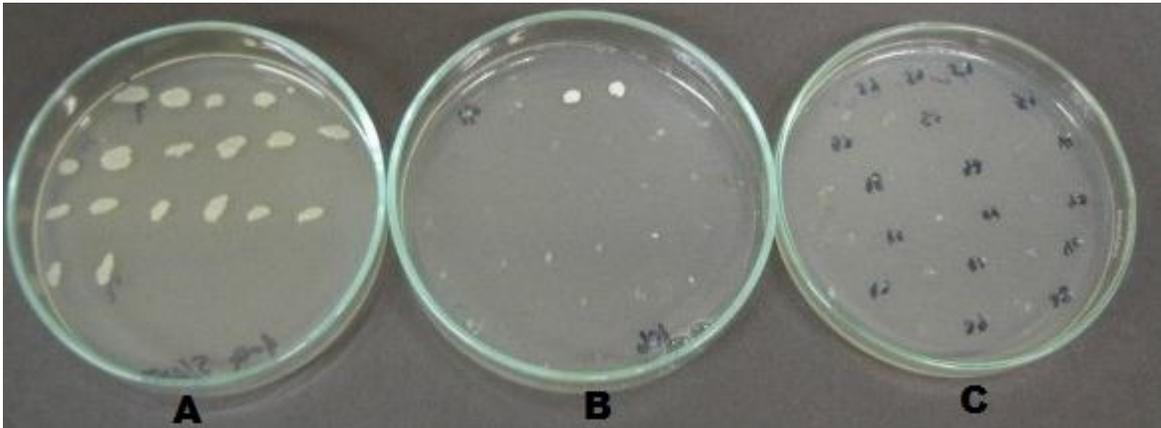


Figura 1. Test de inhibición de cepas de *Enterobacteriaceae* con estreptomicina. A = Placa con agar Müller-Hinton (MH) sin estreptomicina (Control), hubo crecimiento bacteriano. B = Placa con MH (10,3 mL) más estreptomicina (2,75 mg), hubo resistencia de la cepa 92. C = Placa con MH (10,3 mL) más estreptomicina (2,75mg), 100% de la cepas sembradas fueron susceptibles.

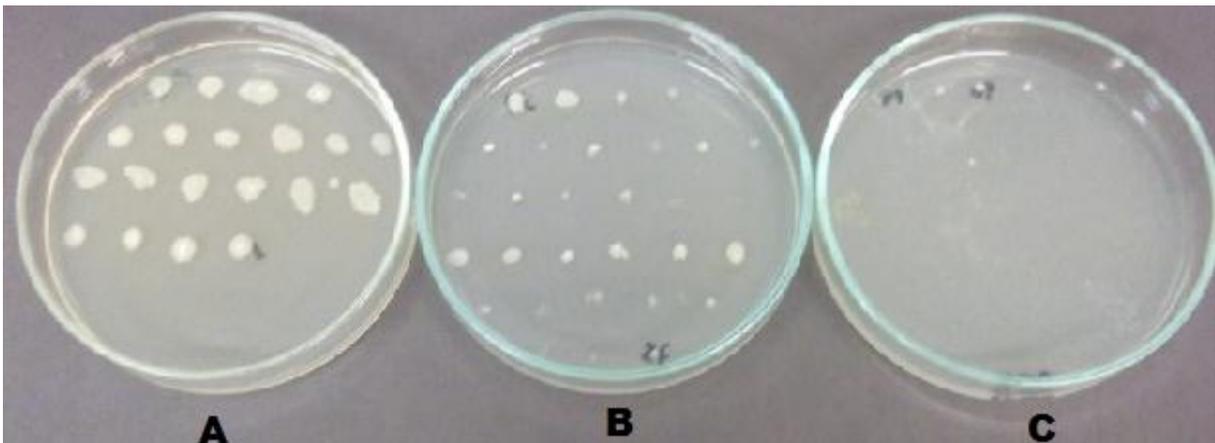


Figura 2. Test de inhibición de cepas de *Enterobacteriaceae* con ampicilina. A = Placa con agar Müller-Hinton (MH) sin ampicilina (Control), hubo crecimiento bacteriano. B = Placa con MH más ampicilina (concentración depende del género bacteriano a utilizar), hubo crecimiento de 44 cepas. C = Placa con MH más ampicilina, 66 de la cepas sembradas fueron susceptibles.

5. DISCUSIÓN

En lo que respecta a la taxonomía de las Enterobacterias aisladas desde fecas de *Theristicus melanopis*. Algunos de los géneros como *Escherichia* que se aislaron en el presente estudio son bacterias que se encuentran con facilidad en muestras de fecas de la microbiota intestinal, al respecto Gibbs et al. (2007) en su estudio de Identificación, perfiles de resistencia antimicrobiana y virulencia, de miembros de la familia *Enterobacteriaceae* en muestras fecales de tordos cabeza amarilla (*Xanthocephalus xanthocephalus*) en Dakota del Norte, entre los géneros determinados se encuentra *Escherichia*. Otro género aislado en el presente estudio fue *Yersinia*; Tel y Keskin (2012) en su estudio de investigación y prevalencia de *Yersinia* spp. y *Aeromonas hydrophila* de fecas de “Northern bald ibis” (*Geronticus eremita*) en la región de Birecik, en Turquía, indican que bacterias del género *Yersinia* se encuentran en fecas de esta ave, esta ave se encuentra filogenéticamente emparentada con la bandurria, ave del presente estudio. Niskanen et al. (2003) también determinaron en fecas de aves silvestres migratorias en Suecia la presencia de *Y. pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica*, estos autores también señalan que de las fecas del ave *Branta leucopsis* se aislaron 6 cepas correspondientes al género *Yersinia*, lo que avalaría su número de aislamientos en el presente estudio.

Por otra parte, Middleton y Ambrose (2005) en su trabajo sobre enumeración y patrones de resistencia a antibióticos en el cual utilizaron tetraciclina, chlortetraciclina, cefalotina (25 mg/mL); ampicilina, gentamicina, estreptomina (10 mg/mL); ciprofloxacina (5 mg/mL) y sulfathiazol (200 mg/mL) de microorganismos aislados desde

fecas de gansos migratorios de Canadá (*Branta canadiensis*) en distintas épocas del año, indican que aislaron *Escherichia coli* y además señalan que hubo un alto número de este género en las muestras de invierno, este hecho concuerda con los resultados del presente estudio, pues se aislaron un total de 91 cepas pertenecientes al género *Escherichia* (47 en el muestreo de invierno y 44 en el muestro de primavera). En otra investigación de eliminación fecal y susceptibilidad antimicrobiana de una selección de patógenos bacterianos intestinales en aves acuáticas de vuelo libre, como el pato azulón (*Anas platyrhynchos*), efectuada por Fallacara et al. (2001) observaron prevalencia de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* lo que se ajusta con los resultados del presente estudio, en el cual se determinaron taxonómicamente 9 cepas pertenecientes al género *Salmonella*. Por último, Timko y Kmet (2003), en su estudio de susceptibilidad frente a antibióticos (principalmente ampicilina) por parte de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* obtenidos desde muestras de depósitos fecales, del ave *Prunella collaris*, aislaron bacterias de los géneros *Citrobacter* y *Escherichia*, lo que concuerda con la determinación taxonómica de 2 cepas de *Citrobacter* en el presente estudio.

Referente a la determinación de la susceptibilidad a antibióticos, Middleton y Ambrose (2005) en su investigación sobre enumeración y patrones de resistencia a antibióticos de bacterias aisladas desde fecas de gansos (*B. canadiensis*) en distintas estaciones del año, los investigadores analizaron la resistencia antimicrobiana que presentaba *E. coli* frente a estreptomycin (10 mg/mL), determinaron que la resistencia

de *E. coli* fue muy baja, esto avala los resultados del presente estudio, donde solo 2 cepas del género *Escherichia* fueron resistentes. En lo que respecta al antibiótico ampicilina en el presente estudio se obtuvo un mayor número (44) de cepas resistentes, referente al género *Citrobacter* este hecho no concuerda con lo señalado por Timko y Kmet (2003) para cepas de *Citrobacter*, ya que ellos aislaron dos cepas resistentes a ampicilina, lo que difiere del presente estudio. En el estudio de Middleton y Ambrose (2005) sobre cepas de *Escherichia* aisladas desde fecas de gansos indican que un gran porcentaje (95%) fueron resistentes a ampicilina (10 mg/mL) no importando la estación del año del muestreo, En otro estudio Pleydell et al. (2007), señalan que (95%) de *E. coli* aislada desde fecas de pollos broiler fueron resistentes a ampicilina (8 mg/1000 mL), lo que avala los resultados del presente estudio donde 34 cepas de un total de 91 cepas del género *Escherichia* fueron resistentes a ampicilina.

De acuerdo a Barlow (2009) en estudios de factores de resistencia antimicrobiana principalmente de enterobacterias, la transferencia horizontal de genes, ha sido responsable de la difusión de numerosos factores de resistencia a los antimicrobianos a través de diversas especies bacterianas. Por otro lado, Carattoli (2009) en su estudio de resistencia plasmídica de *Enterobacteriaceae*, bacterias de los géneros como *Escherichia* y *Salmonella*, poseen plásmidos con regiones de ampicilinoresistencia (B-lactamasa) los cuales pueden ser integrados a bacterias de otras especies mediante conjugación, esto podría ser una explicación a la resistencia de algunas cepas de *Escherichia* y *Salmonella* determinados en este estudio, este mismo autor señala la misma explicación para la resistencia a aminoglicósidos

(estreptomicina), pero en ese caso mediado por 16S rRNA-metilasa, esto serviría solo para el género *Escherichia* que mostró resistencia (2 cepas). Por último Allen *et al.* (2010) han señalado que en forma natural algunas bacterias poseen genes de resistencia a antibióticos y que estas cepas son seleccionadas del medioambiente al hacer uso de antibióticos en las concentraciones inadecuadas.

Conclusiones

(1) Las fecas de *Theristicus melanopis* poseen enterobacterias, se aisló un total de 120 cepas bacterianas, de las cuales 110 pertenecían a la familia *Enterobacteriaceae*.

(2) Las cepas aisladas pertenecientes a *Enterobacteriaceae* se agruparon taxonómicamente en cinco géneros: *Citrobacter* (2 cepas); *Escherichia* (91 cepas), *Salmonella* (9 cepas), *Shigella* (2 cepas) y *Yersinia* (6 cepas).

(3) Un 98,2% (108 cepas) de cepas de *Enterobacteriaceae* fueron susceptible a estreptomicina (2,75 mg de estreptomicina/10,3mL de agar Müller-Hinton), predominando las cepas del género *Escherichia* 81% (89 cepas). Un 60% (66 cepas) de cepas de *Enterobacteriaceae* fueron susceptible a ampicilina (concentración varía según el género), predominando las cepas del género *Escherichia* 51,8% (57 cepas).

De acuerdo a los resultados obtenidos la hipótesis es aceptada como se formuló.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Allen, H., Donato, J., Huimi, H., Cloud-Hansen, K., Davies, J. y Handelsman, J. (2010).** Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology* 8: 251-259.
- Araya, B. y Millie, G. (1992).** Guía de Campo de las Aves de Chile. 5ª Edición Editorial Universitaria. Santiago de Chile. 102 p.
- Barbosa, T., Serra, C., La Ragione, R., Woodward, M. y Henriques, A. (2005).** Screening for *Bacillus* Isolates in the Broiler Gastrointestinal Tract. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (2): 968-978.
- Barlow (2009).** What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer?. *Methods Molecular Biology* 532: 397-411.
- Buchanan, R. y Gibbons, N. (1974).** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Wilkins & Williams 8ª ed. Baltimore, MD, USA. 290-339 pp.
- Caratolli, A. (2009)** Resistance Plasmid Families in Enterobacteriaceae Antimicrobial Agents *Chemotherapy* 53 (6):2227.

- Cole, D., Drum, D., Stalknecht, D., White, D., Lee, M., Ayers, S., Sobsey, M. y Maurer, J. (2005)** Free-living Canada geese and antimicrobial resistance Emerg. Infect. Disease, 11: 935–938.
- Dolejska, M., Cizek, A. y Literak, I. (2007).** High prevalence of antimicrobial resistant genes and integrons in *Escherichia coli* isolates from blackheaded gulls in the Czech Republic. Journal Applied Microbiology 103: 11-19.
- Fallacara, D., Monahan, C., Morishita, T. y Wack, R. (2001).** Fecal shedding and antimicrobial Susceptibility of Selected Bacterial Pathogens and a Survey of Intestinal Parasites in Free-Living Waterfowl. Avian Diseases 45: (1) 128-135.
- Gibbs, P., Kasa, R., Newbrey, J., Petermann, S., Wooley, R., Vinson, H. y Reed, W. (2007).** Identification, Antimicrobial Resistance Profiles, and Virulence of Members from the Family Enterobacteriaceae from the Feces of Yellow-Headed Blackbirds (*Xanthocephalus xanthocephalus*) in North Dakota. Avian Diseases 51(3):649-655.
- Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J. y Williams, S. (2000).** Bergey's, Manual of Determinative Bacteriology. Ninth edition. Edited by Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland, USA. 175-189 pp.
- Jaramillo, A. (2005).** Aves de Chile. Lynx Ediciones. Barcelona. España. 68 p.

- Kozak, G., Boerlin, P., Janecko, N., Reid-Smith, R. y Jardine, C. (2009).** Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from swine and wild small mammals in the proximity of swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 559–566.
- Langhout, D. (1998).** The role of the intestinal flora as affected by non-starch polysaccharides in broiler chicks. Doctoral Thesis, Wageningen Agricultural University. Nutrition and Food Research Institute, Department of Animal Nutrition and Physiology. Wageningen Netherlands 7-49 pp
- Levy, S. (2002).** Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 49:25–30.
- Lu, J., Idris, U., Harmon, B., Hofacre, C., Maurer, J. y Lee, M. (2003).** Diversity and Succession of the Intestinal Bacterial Community of the Maturing Broiler Chicken. *Applied and Environmental Microbiology* 9 (11): 6816-6824.
- Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. (2003).** *Brock Biología de los Microorganismos*. 10ª Edición revisada Pearson Prentice Hall, Madrid. España. 375-377 pp.

Mead, G. (2000). Prospects for competitive exclusion treatment to control salmonellas and other foodborne pathogens in poultry. *Veterinary Journal* 159:111-123.

Mensa, J., Gatell, J., Azanza, J., Domínguez, A., García, J., Jiménez de Anta, M. y Prats, G. (2008). Guía de terapéutica antimicrobiana. 18ª Edición Editorial Elsevier Masson. Barcelona. España. 452-453 pp.

Middleton, J. y Ambrose, A. (2005). Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory canada geese (*Branta canadensis*). *Journal of Wildlife Disease* 41 (2): 334-341.

Navarro, F., Miró, E. y Mirelis, B. (2002). Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 20(5):225-34

Niskanen, T., Waldenström, J., Fredriksson-Ahomaa, M., Olsen, B. y Korkeala, H. (2003). virF-Positive *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* Found in Migratory Birds in Sweden. *Applied and Environmental Microbiology* 69 (8): 4670-4675.

- Peterson, A., Vieglais, D. y Andreassen, J. (2003).** Migratory birds modeled as critical transport agents for West Nile virus in North America. *Vector Borne Zoonotic Disease* 3:27-37.
- Pleydell, E., Brown, P., Woodward, M., Davies, R. y French, N. (2007).** Sources of variation in the ampicillin-resistant *Escherichia coli* concentration in the feces of Organic Broiler Chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 73: (1) 203-210.
- Stern, N., Svetoch, E., Eruslanov, B., Perelygin, V., Mitsevich, C., Pokhilenko, V., Levchuk, V., Svetoch, O. y Seal, B. (2006).** Isolation of a *Lactobacillus salivarius* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (9): 3111-3116.
- Tel O, y Keskin, O. (2012).** Investigation of *Yersinia* spp. and *Aeromonas hydrophila* prevalences in Northern Bald Ibis (*Geronticus eremita*). *Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 59 (2):147-149.
- Timko, J. y Kmet, V. (2003).** Susceptibility of Enterobacteriaceae from the Alpine Accentor *Prunella collaris*. *Acta Vet. Brno*, 72: 285-288.

Valenzuela, E. (2003). Guía de pasos prácticos MICR 160. Instituto de Bioquímica y Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile.23 pp.

7. ANEXO

Tabla 4. Número de cepa asociado a su respectivo género bacteriano.

Número asignado a cepa	Género
1*	<i>Escherichia</i>
2*	<i>Escherichia</i>
3*	<i>Escherichia</i>
4*	<i>Escherichia</i>
5*	<i>Escherichia</i>
6*	<i>Escherichia</i>
7*	<i>Escherichia</i>
8*	<i>Escherichia</i>
9*	<i>Escherichia</i>
10*	<i>Escherichia</i>
11*	<i>Escherichia</i>
12*	<i>Yersinia</i>
13*	<i>Escherichia</i>
14*	<i>Citrobacter</i>
15*	<i>Escherichia</i>
16*	<i>Escherichia</i>
17*	<i>Escherichia</i>
18*	<i>Escherichia</i>
19*	<i>Escherichia</i>
20*	<i>Escherichia</i>
21*	<i>Escherichia</i>

Continuación Tabla 4

22*	<i>Yersinia</i>
23*	<i>Escherichia</i>
24*	<i>Escherichia</i>
25*	<i>Escherichia</i>
26*	<i>Escherichia</i>
27*	<i>Yersinia</i>
28*	<i>Escherichia</i>
29*	<i>Escherichia</i>
30*	<i>Yersinia</i>
31*	<i>Escherichia</i>
32*	<i>Escherichia</i>
33*	<i>Escherichia</i>
34*	<i>Escherichia</i>
35*	<i>Escherichia</i>
36*	<i>Yersinia</i>
37*	<i>Yersinia</i>
38*	<i>Escherichia</i>
39*	<i>Escherichia</i>
40*	<i>Escherichia</i>
41*	<i>Escherichia</i>
42*	<i>Salmonella</i>
43*	<i>Salmonella</i>
44*	<i>Escherichia</i>
45*	<i>Escherichia</i>

Continuación Tabla 4

46*	<i>Escherichia</i>
47*	<i>Escherichia</i>
48*	<i>Escherichia</i>
49*	<i>Aeromonas</i>
50*	<i>Corynebacterium</i>
51*	<i>Escherichia</i>
52*	<i>Salmonella</i>
53*	<i>Escherichia</i>
54*	<i>Escherichia</i>
55*	<i>Escherichia</i>
56*	<i>Escherichia</i>
57*	<i>Escherichia</i>
58*	<i>Corynebacterium</i>
59*	<i>Escherichia</i>
60*	<i>Escherichia</i>
61**	<i>Escherichia</i>
62**	<i>Escherichia</i>
63**	<i>Escherichia</i>
64**	<i>Escherichia</i>
65**	<i>Escherichia</i>
66**	<i>Aeromonas</i>
67**	<i>Escherichia</i>
68**	<i>Escherichia</i>

Continuación Tabla 4

69**	<i>Escherichia</i>
70**	<i>Escherichia</i>
71**	<i>Escherichia</i>
72**	<i>Salmonella</i>
73**	<i>Escherichia</i>
74**	<i>Escherichia</i>
75**	<i>Escherichia</i>
76**	<i>Escherichia</i>
77**	<i>Shigella</i>
78**	<i>Escherichia</i>
79**	<i>Shigella</i>
80**	<i>Escherichia</i>
81**	<i>Aeromonas</i>
82**	<i>Escherichia</i>
83**	<i>Escherichia</i>
84**	<i>Escherichia</i>
85**	<i>Escherichia</i>
86**	<i>Escherichia</i>
87**	<i>Aeromonas</i>
88**	<i>Escherichia</i>
89**	<i>Escherichia</i>
90**	<i>Citrobacter</i>
91**	<i>Escherichia</i>
92**	<i>Escherichia</i>

Continuación Tabla 4

93**	<i>Escherichia</i>
94**	<i>Escherichia</i>
95**	<i>Escherichia</i>
96**	<i>Salmonella</i>
97**	<i>Escherichia</i>
98**	<i>Escherichia</i>
99**	<i>Escherichia</i>
100**	<i>Escherichia</i>
101**	<i>Escherichia</i>
102**	<i>Escherichia</i>
103**	<i>Escherichia</i>
104**	<i>Escherichia</i>
105**	<i>Aeromonas</i>
106**	<i>Escherichia</i>
107**	<i>Escherichia</i>
108**	<i>Escherichia</i>
109**	<i>Aeromonas</i>
110**	<i>Escherichia</i>
111**	<i>Escherichia</i>
112**	<i>Salmonella</i>
113**	<i>Salmonella</i>
114**	<i>Escherichia</i>
115**	<i>Escherichia</i>
116**	<i>Salmonella</i>

Continuación Tabla 4

117**	<i>Corynebacterium</i>
118**	<i>Corynebacterium</i>
119**	<i>Escherichia</i>
120**	<i>Salmonella</i>

* = Cepas bacterianas aisladas desde fecas de bandurrias (*T. melanopsis*) muestreo de Invierno. ** = Cepas bacterianas aisladas desde fecas de bandurrias (*T. melanopsis*) muestreo de Primavera.

Tabla 5. Determinación *in vitro* de la susceptibilidad de cepas de *Enterobacteriaceae* obtenidas en cultivo puro frente a estreptomicina y ampicilina.

Número asignado a cepa	Antibiótico 1 (estreptomicina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
1*	X		X	
2*	X		X	
3*	X		X	
4*	X		X	
5*	X			X
6*	X		X	
7*	X		X	
8*	X		X	
9*	X		X	
10*	X			X
11*	X		X	
12*	X			X
13*	X		X	
14*	X		X	
15*	X			X
16*	X		X	
17*	X		X	

Continuación Tabla 5

Número asignado a cepa	Antibiótico 1 (estreptomina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
18*	X			X
19*	X			X
20*	X		X	
21*	X			X
22*	X		X	
23*	X		X	
24*	X		X	
25*	X		X	
26*	X		X	
27*	X			X
28*	X		X	
29*	X			X
30*	X			X
31*	X		X	
32*	X		X	
33*	X		X	
34*	X			X
35*	X			X

Continuación Tabla 5

Número asignado a cepa	Antibiótico 1 (estreptomicina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
36*	X			X
37*	X		X	
38*	X			X
39*	X			X
40*	X		X	
41*	X			X
42*	X			X
43*	X			X
44*	X		X	
45*	X		X	
46*	X		X	
47*	X			X
48*	X			X
49*				
50*				
51*	X			X
52*	X		X	
53*	X		X	

Continuación Tabla 5

Número asignado a cepa	Antibiótico 1 (estreptomicina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
54*	X		X	
55*	X			X
56*	X			X
57*	X			X
58*				
59*	X			X
60*	X			X
61**	X		X	
62**	X		X	
63**	X			X
64**	X		X	
65**	X		X	
66**				
67**	X		X	
68**	X			X
69**	X		X	
70**	X		X	
71**	X		X	

Continuación Tabla 5

Número asignado a cepa	Antibiótico 1 (estreptomicina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
72**	X			X
73**	X			X
74**	X		X	
75**	X		X	
76**	X			X
77**	X			X
78**	X		X	
79**	X		X	
80**	X		X	
81**				
82**	X		X	
83**	X			X
84**	X		X	
85**	X		X	
86**	X		X	
87**				
88**	X		X	
89**	X			X

Continuación Tabla 5

Número asignado a cepa	Antibiótico 1 (estreptomina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
90**	X		X	
91**	X			X
92**		X	X	
93**	X			X
94**	X			X
95**	X		X	
96**	X			X
97**	X			X
98**	X			X
99**	X		X	
100**	X		X	
101**	X		X	
102**	X			X
103**	X			X
104**	X		X	
105**				
106**	X			X
107**	X		X	

Continuación Tabla 5

Número asignado a cepa	Antibiótico 1 (estreptomicina)		Antibiótico 2 (ampicilina)	
	A		B	
	Susceptible	Resistente	Susceptible	Resistente
108**	X		X	
109**				
110**	X		X	
111**		X	X	
112**	X		X	
113**	X			X
114**	X		X	
115**	X		X	
116**	X		X	
117**				
118**				
119**	X		X	
120**	X		X	

* = Cepas bacterianas aisladas desde fecas de bandurrias (*T. melanopis*) muestreo de Invierno. ** = Cepas bacterianas aisladas desde fecas de bandurrias (*T. melanopis*) muestreo de Primavera. Cepas bacterianas sin X, corresponden a bacterias Gram positivas y *Aeromonas spp.* .Es importante señalar que los espacios dejados en blanco correspondían a bacterias Gram positivas y *Aeromonas spp.*, por lo tanto no se sometieron a tratamiento con antibióticos.

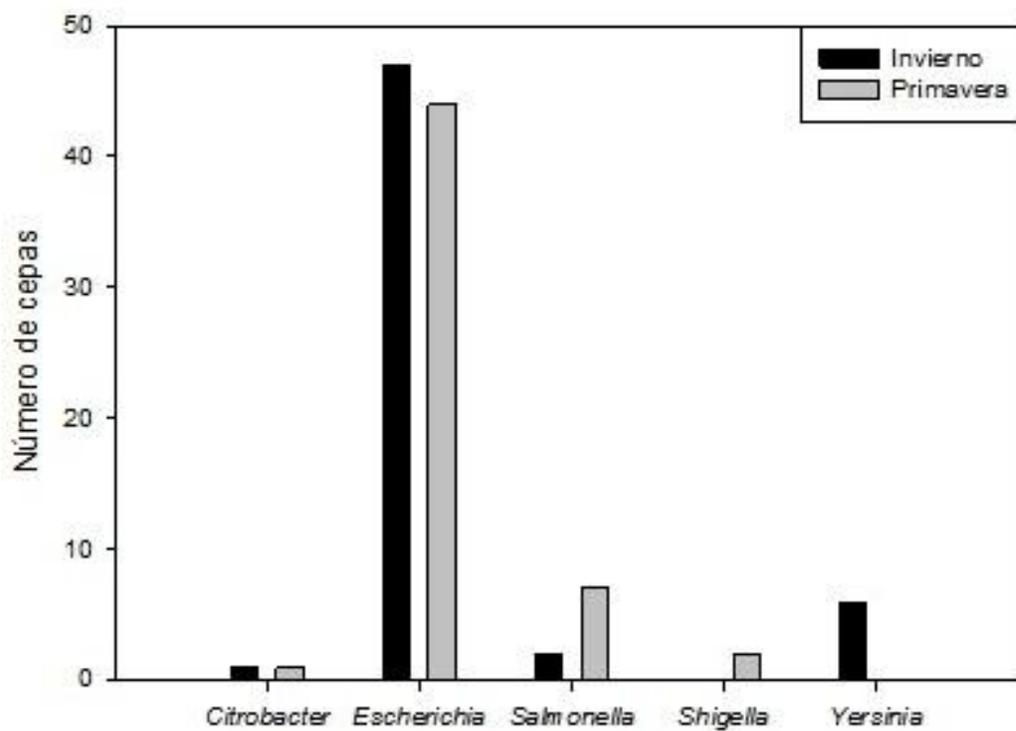


Figura 3. Número de cepas asociado a su género bacteriano en dos épocas del año.

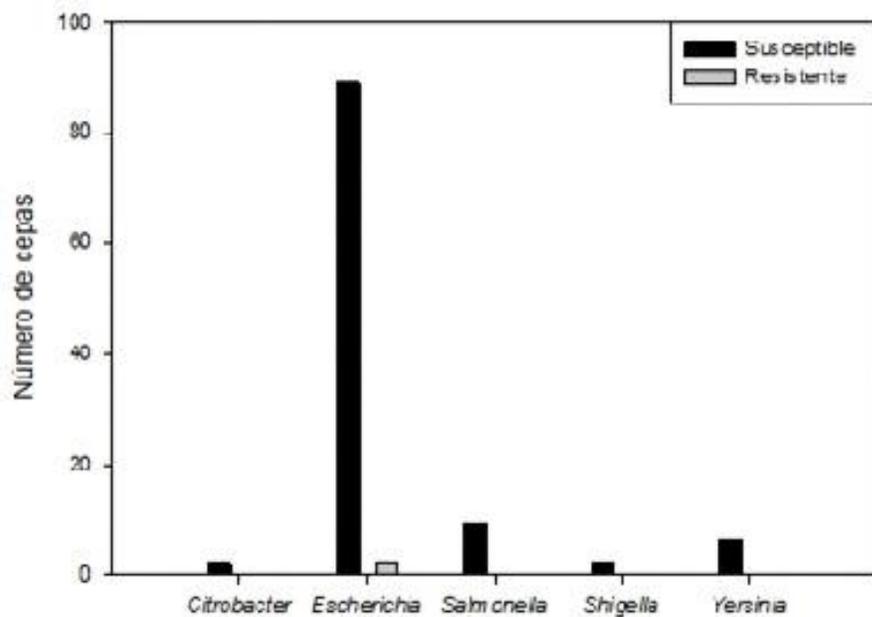


Figura 4. Susceptibilidad frente estreptomicina

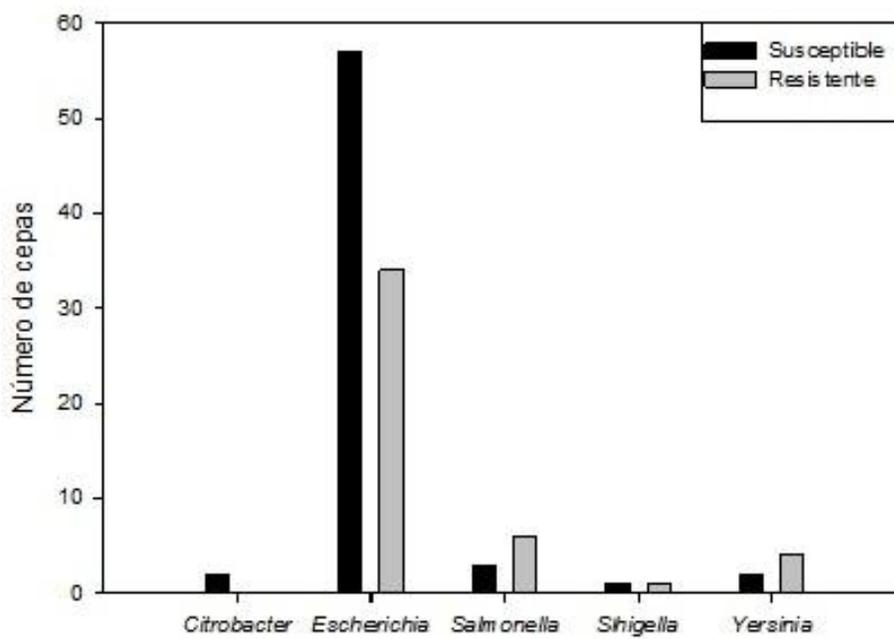


Figura 5. Susceptibilidad frente a ampicilina

Cálculos para determinar el espectro antimicrobiano de estreptomicina y ampicilina.

Espectro antibacteriano de estreptomicina para *Enterobacteriaceae* (8 mg/L) (*CIM90 mg/mL)

$$C = 8 \text{ mg/L} = 8 \text{ mg/1000 mL}$$

$$V_f = 10.03 \text{ mL}$$

$$V_i = 0.3 \text{ mL antibiótico}$$

$$C_i = 8 \text{ mg/1000mL} \times 10.3 / 0.3 = 274.67 \text{ mg/1000 mL}$$

$$X = 274.67 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 2.7467 \text{ mg}$$

Espectro antibacteriano de ampicilina para *Escherichia* (8 mg/L) (**CIM mg/mL)

$$C = 8 \text{ mg/L} = 8 \text{ mg/1000 mL}$$

$$V_f = 10.03 \text{ mL}$$

$$V_i = 0.3 \text{ mL antibiótico}$$

$$C_i = 8 \text{ mg/1000mL} \times 10.3 / 0.3 = 274.67 \text{ mg/1000 mL}$$

$$X = 274.67 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 2.7467 \text{ mg}$$

Espectro antibacteriano de ampicilina para *Salmonella* (1 mg/L) (CIM mg/mL)

$$C = 1 \text{ mg/L} = 1 \text{ mg/1000 mL}$$

$$V_f = 10.03 \text{ mL}$$

$$V_i = 0.3 \text{ mL antibiótico}$$

$$C_i = 1 \text{ mg/1000mL} \times 10.3 / 0.3 = 34.33 \text{ mg/1000 mL}$$

$$X = 34.33 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 0.3433 \text{ mg}$$

Espectro antibacteriano de ampicilina para *Shigella* (4 mg/L) (CIM mg/mL)

$$C = 4 \text{ mg/L} = 4 \text{ mg/1000 mL}$$

$$V_f = 10.03 \text{ mL}$$

$$V_i = 0.3 \text{ mL antibiótico}$$

$$C_i = 4 \text{ mg/1000mL} \times 10.3 / 0.3 = 137.33 \text{ mg/1000 mL}$$

$$X = 137.33 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 1.373 \text{ mg}$$

Espectro antibacteriano de ampicilina para *Yersinia* (32 mg/L) (CIM mg/mL)

$$C = 32 \text{ mg/L} = 32 \text{ mg/1000 mL}$$

$$V_f = 10.03 \text{ mL}$$

$$V_i = 0.3 \text{ mL antibiótico}$$

$$C_i = 32 \text{ mg/1000mL} \times 10.3 / 0.3 = 1098.6 \text{ mg/1000 mL}$$

$$X = 1098.6 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 10.986 \text{ mg}$$

Espectro antibacteriano de ampicilina para *Citrobacter* (100 mg/L) (CIM mg/mL)

$$C = 100 \text{ mg/L} = 100 \text{ mg/1000 mL}$$

$$V_f = 10.03 \text{ mL}$$

$$V_i = 0.3 \text{ mL antibiótico}$$

$$C_i = 100 \text{ mg/1000mL} \times 10.3 / 0.3 = 3433.3 \text{ mg/1000 mL}$$

$$X = 3433.3 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 34.33 \text{ mg}$$

*CIM90 = Concentración inhibitoria mínima para el 90 % de las cepas.

**CIM = Concentración inhibitoria mínima.