

## Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de ecosistemas dulceacuícolas

### Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates from river water ecosystems

MSc. Beatriz Romeu Álvarez,<sup>1</sup> Lic. Paloma Salazar Jiménez,<sup>11</sup> Téc. Daysi Lugo Moya,<sup>1</sup> Dra. C. Nidia M. Rojas Hernández,<sup>1</sup> Dr. C. Carlos A. Eslava Campos<sup>11</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Biología, Universidad de La Habana. Cuba.

<sup>11</sup> Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. México.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** la resistencia antimicrobiana constituye uno de los mayores problemas que afronta la salud pública mundial. La aparición de cepas resistentes no solo de origen clínico sino también ambiental agrava la situación. Entre los microorganismos que presentan esta característica se destaca la especie bacteriana *Escherichia coli* debido a su doble papel como indicador de contaminación fecal y como patógeno.

**Objetivos:** aislar e identificar hasta especie aislamientos de *Escherichia coli* a partir de muestras de agua procedentes de ríos contaminados de La Habana y determinar la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de estos aislados.

**Métodos:** se estudiaron 113 aislamientos de bacterias coliformes aislados de 10 estaciones de muestreo ubicadas en la zona urbana de los ríos capitalinos Almendares, Quibú y Luyanó en el período comprendido de febrero de 2008 hasta junio de 2010. La identificación de los aislados, la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana y la búsqueda de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido se realizó mediante el método automatizado VITEK.

**Resultados:** se identificaron 113 cepas ambientales de *Escherichia coli*. Se demostró que 23 % de los aislamientos resultaron resistentes al menos a uno de los antimicrobianos evaluados. Los mayores porcentajes de resistencia se observaron frente a ampicilina, sulfametoxazol-trimetropin y ciprofloxacina.

**Conclusiones:** la presencia de aislados de *E. coli* con multirresistencia antimicrobiana en estos ríos indica claramente el riesgo biológico que implica el uso de sus aguas.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, susceptibilidad antimicrobiana, ecosistemas acuáticos.

## ABSTRACT

**Introduction:** antimicrobial resistance is one of the biggest problems facing global public health. The emergence of resistant clinical and environmental strains worsens the situation. Among the microorganisms with antimicrobial resistance, *Escherichia coli* species stands out due to its dual role as fecal contamination indicator and pathogen.

**Objectives:** to isolate and identify *Escherichia coli* isolates from water samples from polluted rivers located in La Habana, and to determine their antimicrobial *in vitro* susceptibility.

**Methods:** one hundred thirteen isolates of coliform bacteria isolated from 10 sampling stations in the capital's urban areas near *Almendares*, *Quibú* and *Luyanó* rivers were studied in the period of February 2008 to June 2010. The identification of isolates, the determination of antimicrobial susceptibility and the search for extended-spectrum  $\beta$ -lactamase were all performed using VITEK automated method.

**Results:** one hundred thirteen environmental strains of *Escherichia coli* were identified. It showed that 23 % of the isolates were resistant to at least one of the tested antimicrobials. The highest percentages of resistance were observed to ampicilline, sulfamethoxazole-trimethoprim and ciprofloxacin.

**Conclusions:** the presence of *E. coli* isolates with multiple antimicrobial resistances in these rivers clearly indicates the biological risk involving the use of their waters.

**Key words:** *Escherichia coli*, antimicrobial susceptibility, aquatic ecosystems.

---

## INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana plantea una amenaza grave y cada vez mayor para la salud pública, e involucra cada día nuevas especies bacterianas y nuevos mecanismos de resistencia. El uso excesivo y con frecuencia empírico de los antimicrobianos para el tratamiento de diferentes situaciones clínicas provoca modificaciones de la ecología bacteriana y el surgimiento de microorganismos resistentes a estos compuestos. Las bacterias gramnegativas constituyen uno de los principales grupos bacterianos entre los que se observa un incremento de la resistencia antimicrobiana.<sup>1,2</sup>

*Escherichia coli* es causa frecuente de diferentes infecciones bacterianas comunes como es el caso de las del tracto urinario, bacteriemias y diarreas. También es un importante agente etiológico de meningitis neonatal y neumonías.<sup>3,4</sup>

Esta especie es una de las bacterias más representativas de la microbiota del intestino humano y animal. Su presencia se emplea como un indicador de calidad para el agua y los alimentos, además de que algunos de sus tipos son importantes patógenos causantes de diarreas en humanos (*E. coli* enteropatógenas, *E. coli* enterotoxigénicas, *E. coli* enteroinvasivas, *E. coli* enterohemorrágicas, *E. coli* enteroagregativas y *E. coli* de adherencia difusa).<sup>5</sup>

En los últimos años se observa un aumento de la resistencia de esta especie frente a los principales antibióticos de uso clínico como ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprim, ciprofloxacina, tetraciclina y estreptomina, tanto en cepas de origen clínico, animal como ambiental.<sup>6,7</sup>

---

La Organización Mundial de la Salud ha lanzado múltiples llamados sobre la importancia de promover y adoptar estrategias en la prevención y el control de las infecciones por esta especie bacteriana.<sup>8</sup>

En las últimas décadas el ascenso de la circulación de cepas de *E. coli* ambientales y sobre todo en el medio acuático, así como el incremento de infecciones intestinales y extraintestinales asociadas a esta bacteria suscita un interés creciente por establecer el riesgo que representa para la salud pública y conocer las características de la resistencia antimicrobiana de aislados ambientales de esta especie.<sup>2,9</sup>

Por lo antes expuesto y por la importancia que reviste a nivel nacional e internacional la vigilancia microbiológica y epidemiológica de esta especie, así como la diseminación de cepas resistentes a los agentes antimicrobianos, el propósito del presente trabajo fue separar e identificar hasta especie aislamientos de *Escherichia coli* a partir de muestras de agua procedentes de ríos contaminados de La Habana y determinar la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de estos aislados.

## MÉTODOS

### Microorganismos

Se estudiaron 113 aislados de bacterias coliformes colectados de 10 estaciones de muestreo ubicadas en la zona urbana de los ríos capitalinos Almendares, Quibú y Luyanó en el período comprendido entre febrero de 2008 y junio de 2010.

Los aislamientos se sembraron por agotamiento en placas de agar Mac Conkey (MERCK) y a partir de cultivos puros se procedió a la confirmación fisiológica y bioquímica de la especie. Para la determinación del género y la especie de las bacterias coliformes aisladas se empleó el sistema automatizado VITEK (bioMérieux), con tarjetas GNI (*gram negative identification*, por sus siglas en inglés). Estos aislamientos forman parte de la colección bacteriana del Laboratorio de Ecosistemas Acuáticos del Departamento de Microbiología y Virología de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana.

### Determinación de la susceptibilidad a agentes antimicrobianos

La susceptibilidad de las cepas frente a los antimicrobianos se determinó por el sistema automatizado VITEK (bioMérieux), con tarjetas GNS-147 V 4649 (*gram negative susceptibility*, bioMérieux). Los antimicrobianos contenidos en la tarjeta utilizada fueron: amikacina (AK, 32 µg/mL), ampicilina (AMP, 32 µg/mL), aztreonam (ATM, 32 µg/mL), cefazolina (KZ, 64 µg/mL), cefepime (EFE, 16 µg/mL), ceftazidima (CAZ, 64 µg/mL), ceftriazona (CFT, 128 µg/mL), ciprofloxacina (CIP, 4 µg/mL), ertapenem (ET, 2 µg/mL), gentamicina (CN, 8 µg/mL), imipenem (IMI, 8 µg/mL), levofloxacina (LV, 8 µg/mL), nitrofurantoina (NT, 32 µg/mL), piperacilina/tazobactan (TZP, 64/4 µg/mL), sulfametoxazol-trimetropim (SXT, 8/152 (160) µg/mL). Además, la tarjeta incluye 4 pocillos para la determinación de β-lactamasas de espectro extendido (ESBL).

Para la inoculación de las tarjetas se preparó una suspensión del microorganismo a partir de un cultivo fresco (18 h). La biomasa bacteriana se resuspendió en solución salina estéril (0,45 %) para obtener una concentración correspondiente al tubo 1 de

la escala de Mac Farland. Aproximadamente 2 mL de esta suspensión bacteriana se cargan automáticamente en la tarjeta utilizando el sistema VITEK (software versión 1.02)

Se consideraron aislados multirresistentes (MR) a los aislamientos resistentes a 3 antimicrobianos o más.

*Determinación del índice de resistencia múltiple a agentes antimicrobianos*

El índice de resistencia múltiple a agentes antimicrobianos (IRMA) correspondiente a cada aislado se calculó según la ecuación de Krumperman (1983), dividiendo el número de antibióticos para los cuales el aislado fue resistente entre el número total de antimicrobianos evaluados.<sup>10</sup>

## RESULTADOS

En 100 % de los aislamientos se logró la identificación hasta especie y correspondieron a *Escherichia coli*.

**Tabla 1.** Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de 113 aislamientos de *Escherichia coli* de ecosistemas dulceacuícolas de La Habana

Antimicrobianos	Categoría					
	Resistente		Resistencia intermedia		Susceptible	
	No. de cepas	%	No. de cepas	%	No. de cepas	%
AMP	17	15	0	0	96	84,9
SXT	13	11,5	0	0	100	88,5
CIP	11	9,7	0	0	102	90,3
LV	10	8,8	1	0,9	102	90,3
TZP	2	1,8	2	1,8	109	96,5
CN	3	2,7	1	0,9	109	96,5
KZ	4	3,5	0	0	109	96,5
NT	2	1,8	1	0,9	110	97,3
ATM	3	2,7	1	0,9	109	96,5
CAZ	0	0	1	0,9	112	99,1
CFT	0	0	1	0,9	112	99,1
ET	0	-	0	0	113	100
EFE	0	-	0	0	113	100
IMI	0	-	0	0	113	100
AK	0	-	0	0	113	100

AMP: ampicilina, SXT: sulfametoxazol-trimetoprin, CIP: ciprofloxacina, LV: levofloxacina, TZP: piperacilina/tazobactan, CN: gentamicina, KZ: cefazolina, NT: nitrofurantoina, ATM: aztreonam, CAZ: ceftazidima, CFT: ceftriazona, ET: ertapenem, EFE: cefepime, IMI: imipenem, AK: amikacina.

Los estudios de la susceptibilidad antimicrobiana en las cepas de *Escherichia coli* aisladas demostraron que 23 % de las cepas evaluadas fueron resistentes al menos

a uno de los 15 antimicrobianos utilizados. Ninguna cepa resultó resistente a todos los antimicrobianos probados y 13 cepas (11,5 %) mostraron resistencia frente a 3 antibióticos o más (multirresistentes). El mayor número de aislados mostró resistencia frente a ampicilina. Se identificaron valores de resistencia intermedia frente a los antibióticos aztreonam, levofloxacina, gentamicina, piperacilina/tazobactan, nitrofurantoina, ceftazidima y ceftriazona (tabla 1).

Ninguna cepa resultó susceptible a menos de 3 antimicrobianos, con 77 % de cepas susceptibles.

Se obtuvieron 16 patrones de resistencia, entre ellos 9 expresaron MR. Los patrones de resistencia más frecuentes fueron: SXT, AMP/SXT y AMP/CIP/LV con 4 cepas (3,5 %), seguido del patrón AMP/CIP/LV/NT con 2 (1,8 %), el resto estuvo integrado por una sola cepa. Los índices IRMA oscilaron entre los valores 0,06 y 0,46 (tabla 2). Una de las cepas evaluadas resultó positiva para el ensayo de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido.

**Tabla 2.** Patrones de resistencia de las cepas ambientales de *Escherichia coli* evaluadas

No. de antimicrobianos	Índice IRMA	Patrones de resistencia	No. de cepas	Total
1	0,06	SXT	4	5
		CN	1	
2	0,13	AMP-KZ	1	8
		CIP-LV	1	
		AMP-SXT	4	
		CN-SXT	1	
		ATM-TZP	1	
3	0,2	AMP-CIP-LV	4	6
		AMP- TZP-CN	1	
		ATM-CFT- TZP	1	
4	0,26	AMP-CIP-LV-NT	2	5
		AMP-CIP-LV-SXT	1	
		AMP-KZ-LV-SXT	1	
		AMP-CIP- TZP-SXT	1	
5	0,33	AMP-CIP-LV-SXT-KZ	1	1
7	0,46	AMP-CIP-LV- ATM-KZ-CFT-CN	1	1

AMP: ampicilina, SXT: sulfametoxazol:trimetoprin, CIP: ciprofloxacina, LV: levofloxacina, TZP: piperacilina/tazobactan, CN: gentamicina, KZ: cefazolina, NT: nitrofurantoina, ATM: aztreonam, CAZ: ceftazidima, CFT: ceftriazona, ET: ertapenem, EFE: cefepime, IMI: imipenem, AK: amikacina.

## DISCUSIÓN

Los ecosistemas evaluados están sometidos a un proceso antrópico acelerado y en sus aguas se vierten residuales de origen doméstico, industrial y agrícola, lo cual ha influido de manera negativa en la calidad de sus aguas.<sup>11-13</sup> Además las

escorrentías que se producen durante el período lluvioso arrastran las heces de animales que viven en las riveras de estos ríos. El conjunto de estos eventos explica la presencia de la especie *E. coli* aislada en el presente estudio, uno de los más importantes indicadores de contaminación fecal de las aguas.<sup>14</sup> En investigaciones previas realizadas por *Chiroles* y otros,<sup>15</sup> así como *Larrea* y otros<sup>16</sup> en el río Almendares, que es uno de los ecosistemas evaluados, se evidenció también la presencia de *E. coli*, que implicó la especie bacteriana más frecuente aislada. Resultados similares a los obtenidos en esta investigación se describieron en Uganda,<sup>17</sup> en un estudio realizado en ecosistemas acuáticos contaminados de ese país africano.

La resistencia a los antimicrobianos observada en el presente trabajo fue baja (23 %) al compararla con investigaciones similares realizadas en ecosistemas dulceacuícolas de otras partes del mundo; 60 % por *Harakeh* y otros en la India y 90 % por *Zambrano* y otros en Venezuela.<sup>18,19</sup> La no concordancia de los porcentajes obtenidos podría deberse a las diferencias de las políticas trazadas para la prescripción y el control de los antibióticos en cada país en donde se llevaron a cabo las investigaciones. En Cuba, desde 1998, mediante el Programa Nacional de Medicamentos se desarrollan estrategias para promover la prescripción y el uso racional de los fármacos, con énfasis en algunos grupos terapéuticos, donde se destacan por su importancia los antimicrobianos.<sup>1</sup>

Generalmente, la mayor parte de los aislados de *E. coli* muestran resistencia frente a un gran número de antibióticos, entre los que se incluyen los  $\beta$ -lactámicos. La resistencia encontrada frente a la ampicilina, el sulfametoxazol-trimetropin y la ciprofloxacina coinciden con los obtenidos por *Zambrano* y otros. Sin embargo, no coinciden con los resultados de *Ram* y otros, *Chandran* y otros, *Junco* y otros, en investigaciones realizadas en la India y La Habana, donde se informaron elevados niveles de resistencia frente a estos antimicrobianos, por encima de 80 %.<sup>9,2,20</sup> En Cuba, estos antibióticos se indican con mucha frecuencia en las consultas de atención primaria de salud, debido a la eficacia que tienen en el tratamiento de múltiples procesos infecciosos, así como por su disponibilidad y bajo costo en las farmacias, lo cual favorece la aparición de resistencia frente a estos antimicrobianos.<sup>7</sup> Sin embargo, la venta de medicamentos es por prescripción médica y en el caso específico de los antimicrobianos, al formular una receta médica se requiere definir en el recetario el diagnóstico que motivó la prescripción. Además, se trazan políticas de uso de antimicrobianos de forma empírica para los problemas de salud más frecuentes en el nivel primario de atención, lo cual favorece que la resistencia antimicrobiana no alcance niveles tan elevados como en otros países del mundo.<sup>1</sup>

Para el resto de los antibióticos evaluados, los porcentajes de resistencia se encontraron por debajo de 10 %, lo que no representa una alarma. En diversas investigaciones clínicas se maneja el criterio de que cuando se reportan valores de resistencia por debajo de 10 o 15 %, como es el caso de este estudio para todos los antimicrobianos evaluados, estos pueden continuar formando parte de los que se sugieren para el uso clínico.<sup>21</sup> Por lo tanto, la situación de resistencia en los ecosistemas dulceacuícolas capitalinos no es tan crítica como la que se presenta en otros ecosistemas del mundo, donde los valores de resistencia se encuentran por encima de 50 %. Sin embargo, la emergencia de resistencia y el decrecimiento en los niveles de susceptibilidad (resistencia intermedia) son fenómenos que cada vez se observan con mayor frecuencia en aislamientos ambientales, especialmente en ecosistemas acuáticos impactados por la contaminación. Los valores de resistencia intermedia observada en este estudio entre los aislamientos de *E. coli* aisladas de las muestras de agua no fueron elevados en cuanto a número, pero se observó este fenómeno en 7 de los 15 antibióticos probados, es decir para casi 50 % de los

antimicrobianos evaluados, lo que sin duda constituye una alerta, porque favorecería el incremento de bacterias resistentes en este tipo de ambiente.

Las enzimas del tipo BLEE constituyen uno de los principales mecanismos de resistencia con los que cuentan los microorganismos.<sup>22</sup> Aunque en el presente estudio una sola cepa resultó positiva a la producción de estas enzimas, las cepas que manifestaron resistencia intermedia se consideran microorganismos con una gran posibilidad de producir BLEE. Este resultado sugiere que la existencia de determinados clones de este enteropatógeno puedan estar circulando e interrelacionándose en el medio acuático, lo cual favorecería la aparición de aislados resistentes a los betalactámicos.

Los porcentajes de aislamientos de *E. coli* MR en el presente estudio fueron menores que los obtenidos por Ram *et al* (2009) y Chandran *et al* (2008), quienes reportaron valores de MR de 46,7 y 95 % en cepas de *E. coli* aisladas de ríos de la India respectivamente. Sin embargo, la no concordancia de esos valores podría estar dada por la situación que se presenta en la India y en otros países subdesarrollados con relación al uso de los antimicrobianos en la medicina. En estos países cada vez hay más medicamentos disponibles en las clínicas privadas y las farmacias que en los hospitales públicos y en muchos casos se venden sin prescripción médica alguna.<sup>2,9</sup>

Los índices IRMA individuales obtenidos en este estudio oscilaron entre valores de 0,06 a 0,46, lo cual indica que la resistencia no es un problema grave en las bacterias aisladas de estos ecosistemas. Sin embargo, 7 cepas presentaron valores por encima de 0,25, eso indica que quizá provengan de fuentes de contaminación de alto riesgo. A pesar de que los valores de los índices IRMA registrados en este estudio en su mayoría no fueron alarmantes, la presencia en las aguas de estos ríos de cepas multirresistentes, señala la importancia de realizar monitoreos continuos de estos ecosistemas y la imposibilidad de utilizar sus aguas para cualquier actividad.

Es primordial destacar que el agua de estos ríos se utiliza por la población que vive en sus cercanías para el riego de vegetales y otros cultivos, así como para la bebida y la elaboración de los alimentos de animales de corral o mascotas. También se emplea en la realización de actividades recreativas, como paseos en botes en la zona del puente de la calle 23 (Gran Parque Metropolitano de La Habana) y para la natación en diferentes zonas del río, sobre todo por parte de los jóvenes, a pesar de que sus aguas no cumplen con los parámetros de calidad microbiológica establecida en la Norma Cubana 22 para lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores. Por lo tanto, el uso de estas aguas implica un riesgo higiénico-sanitario para todas las personas que de forma directa o indirecta emplean las aguas en diferentes actividades, teniendo en cuenta que en estas aguas se pueden encontrar bacterias con características patogénicas.<sup>23</sup>

Los resultados de este trabajo permiten percibir que los ríos evaluados están altamente afectados por la contaminación, con *E. coli* como la especie bacteriana predominante en sus aguas. La presencia de asentamientos poblacionales con poca o ninguna conexión al sistema de alcantarillado y que vierten sus desechos directamente a las aguas de estos ríos de forma continua, así como la actividad económica que tiene lugar en numerosas fábricas próximas al río, contribuyen a que los niveles de este microorganismo se mantengan altos, así como a favorecer la presencia de otras bacterias coliformes que afectan la calidad microbiológica de esas aguas. Por otra parte, la existencia de cepas de *E. coli* con resistencia antimicrobiana frente a diferentes antibióticos empleados en la terapéutica constituye un problema desde el punto de vista clínico, porque limita la

disponibilidad de antibióticos para el manejo terapéutico, en un futuro, de enfermedades causadas por estas cepas. La supervivencia de cepas resistentes simultáneamente a más de 3 antimicrobianos en las aguas de los ríos evaluados lleva a la conclusión de que el concepto, así como las normas de calidad de aguas, deben de ser reevaluados, y señalan la necesidad de establecer nuevos controles y parámetros para la determinación de la calidad del agua y no basarse solo en los indicadores bacteriológicos tradicionales.<sup>24</sup>

La presencia de cepas de *E. coli* con multirresistencia en las aguas de estos ríos indica claramente el riesgo biológico implicado en su uso.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cires M. La resistencia a los antimicrobianos, un problema mundial. Rev Cubana Med Gen Integr. 2002;18(2):165-8.
2. Chandran A, Mohamed Hatha AA, Varguese S, Mony Sheeja K. Prevalence of multiple drug resistant *Escherichia coli* serotypes in a tropical estuary, India. Microbes Environ. 2008;23(2):153-8.
3. Hunter PR. Drinking water and diarrhoeal disease due to *Escherichia coli*. J Wat Health. 2003;1(2):65-72.
4. Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. Food Pathog Dis. 2007;4(2):134-63.
5. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 1998;11(1):142-201.
6. Laroche E, Petit F, Fournier M, Pawlak B. Transport of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in a public rural karst water supply. J Hydrology. 2010;392(1-2):12-21.
7. Águila A, Bernedo R, Llop A, Ramírez M, Bravo L, Fernández A, Ledo Y. Estudio de marcadores fenotípicos y de susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* entéricas. Rev Cubana Med Trop. 2007;59(2):102-7.
8. OPS. Informe sobre la salud en el mundo. Un porvenir más seguro. Protección de la salud pública mundial en el siglo XXI. Geneva: PAHO/WHO; 2007. [citada 5 Sep 2011]. Disponible en: <http://www.who.int/whr/2007/es/index.html>
9. Ram S, Vajpajee P, Singh RL, Shanker R. Surface water of a perennial river exhibits multi-antimicrobial resistant shiga toxin and enterotoxin producing *Escherichia coli*. Ecotox Environ Safe. 2009;72:490-5.
10. Krumperman P. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high risk sources of fecal contamination of foods. Appl Environ Microbiol. 1983;46:165-70.



11. Prats J, Romeu B, Rodríguez A, Lugo D, Rojas N, Heydrich M. Determinación de la carga microbiana del río Almendares y su importancia para el saneamiento ambiental. Rev Contribución a la Educación y la Protección Ambiental. 2004;5:205-10 [citada 16 Ago 2011]. Disponible en: <http://www.cphr.edu.cu/public/pub2004.htm>
12. Rojas N, Torres G, Romeu B, Prats J. Evaluación de la calidad microbiana del río Almendares para usos recreativos. Rev Contribución a la Educación y la Protección Ambiental. 2005;6:200-8 [citada 16 Ago 2011]. Disponible en: <http://www.cphr.edu.cu/public/pub2005.htm>
13. Periles I. Contexto ambiental para el manejo integrado del Río Luyanó, Ciudad Habana, Cuba. Rev Invest Mar. 2006;27(1):79-84.
14. Edberg SC, Rice EW, Karlin RJ, Allen MJ. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Appl Microbiol. 2000;29:106-16.
15. Chiroles S, González MI, Torres T, Valdés M, Domínguez I. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares (Cuba). Hig San Ambient. 2007;7:222-7.
16. Larrea JA, Rojas M, Heydrich M, Romeu B, Rojas N, Lugo D. Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del complejo turístico "Las Terrazas", Pinar del Río (Cuba). Hig San Ambient. 2009;9:492-504.
17. Byamukama D, Mach RL, Kansime F, Manafi M, Farnleitner AH. Discrimination efficacy of fecal pollution detection in different aquatic habitats of a high altitude tropical country, using presumptive coliforms, *Escherichia coli*, and *Clostridium perfringens* spores. Appl Environ Microbiol. 2005;71(1):65-71.
18. Harakeh S, Yassine H, El-Fadel M. Antimicrobial-resistant patterns of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains in the aquatic Lebanese environments. Environ Pollution. 2006;143:269-77.
19. Zambrano JL, Botero L, Cavazza ME, Ávila M. Resistencia a antimicrobianos y presencia de plásmidos en cepas de *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales crudas y tratadas por lagunas de estabilización con fines de reuso en agricultura. Rev Soc Ven Microbiol. 2002;22:44-50.
20. Junco Díaz RA, Suárez Pita MT, Weng Z, Chiroles S, González MI, Díaz OE, et al. Sensibilidad antimicrobiana en bacterias de origen ambiental. Hig San Ambient. 2006;6:150-9.
21. Herrera L, Muñoz J, Medina H. *Escherichia coli* fecal resistente a antibióticos en niños sanos. ¿Inducción por uso de antibióticos? Rev Invest Clin. 2002;54:108-12.
22. Bonnedahl J, Drobni P, Johansson A, Hernandez J, Melhus A, Stedt J, Olsen B, et al. Characterization, and comparison, of human clinical and black-headed gull (*Larus ridibundus*) extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing bacterial isolates from Kalmar, on the southeast coast of Sweden. J Antimicrob Chemother. 2010;65:1939-44.

23. Romeu B, Rojas N, Marzán R, Lugo D. Necesidad de una conciencia ambientalista en torno al uso de las aguas contaminadas del río Almendares. Rev Contribución a la Educación y la Protección Ambiental. 2008[citada 16 Ago 2011];8:209-22. Disponible en: <http://www.cphr.edu.cu/public/pub2008.htm>

24. Sayah RS, Kaneene JB, Johnson Y, Miller R. Patterns of antimicrobial resistance observe in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic and wild animal fecal samples, human septage and surface water. Appl Environ Microbiol. 2005;71:1394-404.

Recibido: 17 de noviembre de 2011.

Aprobado: 3 de febrero de 2012.

*Beatriz Romeu Álvarez*. Calle 25 No. 455 e/ J e I, Vedado, Plaza, La Habana, Cuba. CP 10400. Teléfono: 832-9241. Correo electrónico: [bromeu@fbio.uh.cu](mailto:bromeu@fbio.uh.cu)