



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

AISLADOS AMBIENTALES DE *Staphylococcus* sp. PRODUCTORAS
DE SUSTANCIAS TIPO ANTIBIÓTICO, PROVENIENTES DE
LA CUENCA DEL MANZANARES.
(Modalidad: Investigación)

ADRIANA JOSÉ ROJAS LEZAMA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, MARZO 2009

AISLADOS AMBIENTALES DE *Staphylococcus* sp. PRODUCTORAS DE
SUSTANCIAS TIPO ANTIBIÓTICO, PROVENIENTES DE
LA CUENCA DEL MANZANARES

APROBADO POR:

Prof. Yasmina Araque C
Asesora Académica

Jurado

Jurado

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	v
METODOLOGÍA	6
Descripción del área de estudio.....	6
Muestra poblacional.....	7
Procesamiento de las muestras.....	8
Selección y reaislamiento de colonias típicas	8
Identificación bioquímica de Staphylococcus sp.	9
Catalasa:	9
Coagulasa:	9
Fermentación del manitol:	9
Prueba de ADNasa	9
Prueba de susceptibilidad antimicrobiana.....	10
Efecto antagónico.....	10
Análisis Estadístico	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	21
RECOMENDACIONES	22
BIBLIOGRAFÍA	23
APÉNDICE.....	27
HOJA DE METADATOS	29

DEDICATORIA

A:

Dios, por darme la vida y la fortaleza para así cumplir con este sueño tan anhelado.

Mis padres, por enseñarme lo valioso de la vida y la ayuda para lograr tal fin.

Mi familia, en especial a mi tía por su apoyo y la confianza brindada.

Todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron para lograr esta meta.

GRACIAS

A TODOS DIOS ME LOS BENDIGA

AGRADECIMIENTO

Ante todo, le agradezco a Dios todo poderoso darme salud y la fortaleza para así cumplir con esta meta.

A mis padres (José Rojas y Zuleima Lezama) por haberme enseñado lo valioso que es la vida y lo importante que es trazarse y cumplir con esa meta, y por todo su apoyo. A mis hermanos (Alberto y Alejandra) por acompañarme y apoyarme en mis decisiones.

Le agradezco a la profesora Yasmina Araque, por haber aceptado asesorarme y ayudarme a cumplir este sueño. También les agradezco a las profesoras Dina Antón y Elsa Salazar por prestarme toda su colaboración.

A mi familia, Gracias. A mis primos, en especial (Ari, Joselin, Arístides y Jhonny) a mis tíos, tías y a mi abuela (Chica) a todos por estar a mi lado apoyándome. Le agradezco en especial a mi segunda madre (Mama Yola), por estar a mi lado en los momentos mas difíciles, por enseñarme que hay que seguir adelante pase lo que pase, y por ayudarme a culminar la carrera (Dios me la bendiga siempre).

A una persona especial que siempre estuvo a mi lado a lo largo de la carrera apoyándome. Gracias.

A mis amigos de toda la vida, los de bachillerato, los que me acompañaron en toda la carrera (Bioanálisis), a mi amiga Aouda, le agradezco por haberme acompañado en todo momento en este camino tan arduo que recorrimos.

A todos, Dios los bendiga, dándoles salud, dicha y felicidad. AMEN.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Contaje de colonias aisladas de muestras de agua provenientes de la cuenca del río Manzanares.	13
Tabla 2 Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de <i>Staphylococcus</i> sp. de aislados ambientales, provenientes de las cuencas del río Manzanares.	15
Tabla 3. Patrones fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana de aislados ambientales de <i>Staphylococcus</i> sp., provenientes del río Manzanares.	16
Tabla 4. Aislados de <i>Staphylococcus</i> sp. productoras de sustancia tipo antibiótico provenientes de la cuenca del río Manzanares.	17
Tabla 5. Relación entre la producción de sustancia tipo antibiótico y la susceptibilidad antimicrobiana provenientes de muestras de agua del río Manzanares	19

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área de Estudio de la cuenca del río Manzanares: (1) Detrás del mercado municipal de Cumaná, estado Sucre, (2) Estación Los Dos Ríos, (3) Estación las Fraguas. Recolección y transporte de las muestras de agua.....	7
Figura 2. Características morfológicas y de cultivo de <i>Staphylococcus</i> sp.: A: Cocos Gram positivos típicos. B: crecimiento en agar Manitol Salado fermentado.	15
Figura 3. Cepas de <i>Staphylococcus</i> productoras de sustancias tipo antibiótico: A (027): <i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva, A (024), A (018) y A (020): <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa no productora; cepa productora; <i>Staphylococcus aureus</i> CVCM 636 cepas indicadoras.....	18

RESUMEN

En el presente trabajo se identificaron aislados ambientales de *Staphylococcus* sp. productores de sustancias tipo antibiótico provenientes de la cuenca del río Manzanares, entre febrero y agosto de 2008. A través de métodos microbiológicos convencionales, se llevó a cabo la identificación de las cepas en estudio. La susceptibilidad antimicrobiana se realizó por medio del método de Kirby Bauer y la producción de sustancia tipo antibiótico se evaluó por el método de doble capa, empleando como indicadoras: *Pseudomonas aeruginosa* CVCM787, *Escherichia coli* K12 CVCM178, *Staphylococcus aureus* CVCM636, *Bacillus subtilis* CVCM591, provenientes del Centro Venezolano de Colección de Microorganismos (CVCM). De las cepas aisladas, 29 (100%) procesadas pertenecían al género *Staphylococcus*, de los cuales, 4 cepas (13,79%) correspondieron a estafilococos coagulasa positiva y 25 (86,20%) a estafilococos coagulasa negativa. Todas las cepas resultaron sensibles a ciprofloxacina, cloranfenicol, oxacilina y vancomicina. Por otra parte, se observó resistencia a eritromicina (65,52%). De las 29 cepas de *Staphylococcus* identificadas, sólo a 5 (17,24%) se les detectó la producción de sustancias tipo antibiótico. La producción de sustancias tipo antibiótico de los aislados de *Staphylococcus* con el perfil de susceptibilidad, se obtuvo, que no hubo relación entre la producción de sustancias tipo antibiótico y la resistencia a la eritromicina, observada en las cepas de *Staphylococcus* sp.

Palabra y/o Frases Claves: *Staphylococcus*, Sustancia tipo antibiótico, Susceptibilidad

INTRODUCCIÓN

A través de la evolución, los microorganismos han desarrollado distintas estrategias para competir por nutrientes en su medio ambiente; una de estas estrategias ha sido la elaboración de compuestos antimicrobianos llamados bacteriocinas, las cuales son sustancias químicas de naturaleza proteica, con actividad bactericida, bacteriostática o bacteriolítica, contra especies estrechamente relacionadas a la cepa productora, y contra especies filogenéticamente distante a dicha cepa productora (Kim, 1997). Las bacteriocinas originalmente definían a las proteínas antimicrobianas parecidas a la colicina producida por *E. coli*, que impide la proliferación de otras bacterias. Cuyo espectro antimicrobiano, va desde un pequeño grupo de microorganismos relacionados, hasta un amplio grupo de microorganismos que incluyen especies no relacionadas, que compiten por el mismo ambiente (Jack *et al.*, 1995; Cardoso, 2002; Vermeiren *et al.*, 2002).

Las bacteriocinas son producidas por bacterias no patógenas que colonizan normalmente el cuerpo humano. La pérdida de estas bacterias inofensivas, puede permitir que las patógenas invadan el cuerpo humano (Dykes y Hasting, 1998). Las bacteriocinas también se han sugerido como un tratamiento para el cáncer, y como agente de diagnóstico de algunos tipos de estos (Himsley *et al.*, 1992).

En la naturaleza existe una enorme diversidad de este tipo de sustancia. El grupo más estudiado lo constituyen las producidas por bacterias ácido - lácticas, y la producida por *Escherichia coli*. Algunas de estas son la nisina, pediocina, colicina, entre otras. La nisina, descrita en 1928, fue la primera bacteriocina aislada a partir de la bacteria ácido - láctica *Lactococcus lactis*, y ha sido empleada en la industria alimenticia como aditivo para la conservación de productos lácteos, previniendo la descomposición ocasionada por bacterias Gram positivas, especialmente de los géneros *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Lysteria* (Delves *et al.*, 1996).

Otras de las sustancias producidas por las bacterias ácido – lácticas es la Pediocina, una bacteriocina producida por *Pediococcus acidilactici*, esta ha sido empleada como conservador en productos vegetales y cárnicos, además se ha observado una elevada actividad contra especies de *Listeria*. Dada su alta actividad contra especies de *Listeria*, esta bacteriocina tiene un alto potencial para ser utilizado como conservador en alimentos lácteos (Yousef *et al.*, 1991).

Montville y Chen (1998), Sablon y Contreras (2000), demostraron que es posible que la nisina y la pediocina compartan mecanismo de acción semejante. Al parecer, los péptidos se unen a la membrana citoplasmática a través de uniones electrostáticas con los fosfolípidos cargados negativamente, luego se insertan a la membrana con una reorientación que depende del potencial de membrana, el cual está influenciado por el pH y la composición fosfolípida. Los monómeros de la bacteriocina forman agregados proteicos que resultan en la formación de poros, lo que provoca la salida de iones o altera la fuerza motriz de protones, necesaria para la producción de energía y síntesis de proteínas o ácido nucleicos.

En relación a la colicina producida por cepas de *Escherichia coli*, esta es una bacteriocina de naturaleza proteica con una masa relativa que varía entre 29 000 y 75 000, es inducible. Las mismas han sido clasificadas en dos grupos de acuerdo a su modo de acción, en colicinas enzimáticas, las cuales actúan en células sensibles por degradación de su ADN o inhibición de la síntesis proteica, y las colicinas formadoras de canales, que ejercen su efecto letal mediante la formación de canales iónicos en la membrana citoplasmática de la célula sensible conduciendo a la muerte celular (Lenette, 2003).

Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* tienen capacidad para producir bacteriocina, llamada aureocina A70, de naturaleza peptídica, que inhiben el crecimiento de amplio espectro de especies de bacterias diferentes (Mandell *et al.*,

2000). Dentro de éste género, *Staphylococcus aureus*, es uno de los principales patógenos en el hombre. Morfológicamente, es un coco Gram positivo que se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente, en forma de parejas, tétradas, cadenas cortas y/o racimos irregulares. La forma de cocos tiende a ser de tamaño mucho mas uniforme que los otros tipos morfológicos de bacterias, tienen un diámetro aproximado de 1 micra, típicamente son casi perfectos en su forma esférica. Son inmóviles, no forman esporas, no presentan pilis ni flagelos, son aerobios y anaerobios; crecen bien en los medios de cultivos habituales, muestran β – hemólisis en medios con sangre y son capaces de desarrollarse a altas concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) (Koneman *et al.*, 1999).

La patogenicidad de *Staphylococcus aureus* se atribuye a su capacidad de producir varias enzimas (coagulasa, lipasas, estafiloquinasa, hialuronidasas y penicilinasas) y a los componentes de su pared celular formada por ácido teicoico, peptidoglucano y proteína A, los cuales en conjunto actúan convirtiendo tejidos del huésped en nutrientes requeridos para el crecimiento de la bacteria. Por otra parte, se han encontrado variaciones entre distintas cepas, lo que hace suponer que la virulencia está relacionada con el número total de enzimas producidas, elementos sin los cuales el microorganismo no resistiría la degradación impuesta por las sustancias externas y la fagocitosis ejercida por los leucocitos polimorfonucleares (Kessler *et al.*, 1991).

En la presente investigación se realizó la detección de cepas de *Staphylococcus* sp. productoras de sustancias tipo antibiótico en aguas provenientes del río Manzanares, el cual es el principal afluente de agua dulce de la ciudad de Cumaná, y está siendo afectado por el impacto de las actividades humanas, que se realizan aún en lugares alejados de sus cauces. Evaluar la calidad del agua implica no sólo analizar variables físicas, químicas y biológicas, las cuales deben tener ciertas características para que este líquido sea considerado apto para un determinado uso; sino también la

búsqueda de agentes patógenos que son transmitidos a través de las heces excretadas por los individuos o por otras vías. Además es importante considerar microorganismos con potencial de biocontrol y biorremediación de ambientes contaminados (Madigan *et al.*, 1999; Reiff, 2001).

El sistema hidrológico del río Manzanares, a pesar de ser uno de los cuerpos de agua más importante del estado Sucre, presenta una problemática ambiental bastante complicada. En su cuenca alta, la actividad agrícola es intensa; en su cuenca media, existe la central azucarera y asentamientos humanos que no cuentan con un sistema de tratamiento de aguas negras, y vierten sus desechos en este cuerpo de agua. En la cuenca baja se encuentran asentadas procesadoras de alimentos, fábricas de licores y mercados de abastecimiento popular, cuyos desechos son vertidos sin tratamientos a este río (Márquez, 2002).

Senior (1994) reportó que gran parte de los desechos urbanos llegan al río a través de los canales de desagüe que fueron construidos para darles salida a las aguas de lluvias, pero debido a la proliferación de todo tipo de viviendas se han convertido en una fuente de contaminación para el río.

El exceso de nitrógeno, fósforo y amonio provoca el agotamiento del oxígeno, ocasionando la muerte de los organismos y la aparición de otros, generándose olores indeseables debido a las condiciones anaeróbicas. Los cloruros transmiten un sabor salado al agua y, en concentraciones suficientes, pueden limitar el uso de la misma. Los ácidos, álcalis y sustancias tóxicas pueden provocar la muerte de los peces y crear otros desequilibrios (Metcalf y Eddy, 1991).

Lemus y Bastardo (1972) reportaron un elevado índice de contaminación en el río por enterobacterias. Por otra parte, se han reportado valores altos de organismos coliformes sobre aguas no aptas para contacto humano. La proliferación de estas

bacterias patógenas tales como *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Vibrio* se ve favorecida por el incremento de la temperatura, el aumento de las descargas de materia orgánica en el litoral costero frente a Cumaná y en los ríos Guasdua y Manzanares, situación que ha ido en ascenso, en los últimos años, por lo que se requiere la atención de las autoridades sanitarias y ambientales (Fernández y Lugo, 1994).

Esta grave situación ha motivado el interés científico, para llevar a cabo investigaciones, principalmente, en aspectos como niveles de materia orgánica y estudios bacteriológicos (Márquez, 2002). El análisis bacteriológico de aguas y la detección de sustancias tipo antibiótico en cepas de *Staphylococcus* sp. es pertinente, ya que conduce a la enumeración, aislamiento e identificación de microorganismos que puedan ser empleados a mediano plazo, con fines biotecnológicos en el saneamiento ambiental de uno de los ríos más importantes del estado Sucre. La producción de estas sustancia por los microorganismo aislados podría servir como antagonista que impidan o limiten la invasión de cepas dentro de una comunidad microbiana, cuyos blancos específicos serian bacterias patógenas (Riley *et al.*, 2002).

METODOLOGÍA

Descripción del área de estudio

Con el propósito de aislar e identificar microorganismos del género *Staphylococcus* productores de sustancia tipo antibiótico. En el presente estudio, se realizaron análisis bacteriológicos en muestras de agua provenientes de la cuenca del río Manzanares, entre febrero y agosto de 2008.

La cuenca del río Manzanares se ubica en el estado Sucre, Venezuela. Tiene su nacimiento en el macizo montañoso del Turimiquire, en la cordillera de la costa, a 2 300 m de altitud. Fluye a lo largo de 300 km² y drena una cuenca de, aproximadamente, 1 000 km². Este río integra, con los ríos Neverí y Guarapiche, el sistema fluvial de la costa oriental venezolana. Ha sido elemento decisivo tanto en la fundación como en la consolidación de la ciudad de Cumaná.

El río tiene su desembocadura en la entrada de Golfo de Cariaco, ejerce una influencia hacia al lado oeste de la costa de Cumaná; encontrándose ubicada entre los 10° 24' y 10° 30' latitud norte y 64° 10' y 64° 20' longitud oeste (Márquez ,2002).

El río recibe las descargas de diversos afluentes, integrando una cuenca aislada perteneciente a la gran cuenca del Caribe; por su margen derecho recibe 9 ríos, 13 riachuelos, quebradas y, por su margen izquierda, 14 ríos principales y 6 secundarios (Senior, 1994).

El área de estudio (Figura 1) estuvo conformado de 3 estaciones, a lo largo de la cuenca del río Manzanares, seleccionadas en relación a que reciben descargas de desechos, materia orgánica en descomposición, basura, entre otros, por parte del

hombre o efluentes industriales que desembocan en el Río; dichas estaciones fueron: Estación 1, ubicada Detrás del mercado municipal, Estación 2, los Dos Ríos, y Estación 3, Las Fraguas

Muestra poblacional

Las muestras a utilizar en la investigación estuvieron representadas por agua obtenida a 20 o 30 cm de profundidad de la misma. Estas se recolectaron por duplicado en las estaciones respectivas de la cuenca del río Manzanares de la ciudad Cumaná, estado Sucre; en tres estaciones (Detrás del mercado municipal, Los Dos Ríos, Las Fraguas), específicamente, realizándose tres muestreos en un periodo de seis meses.

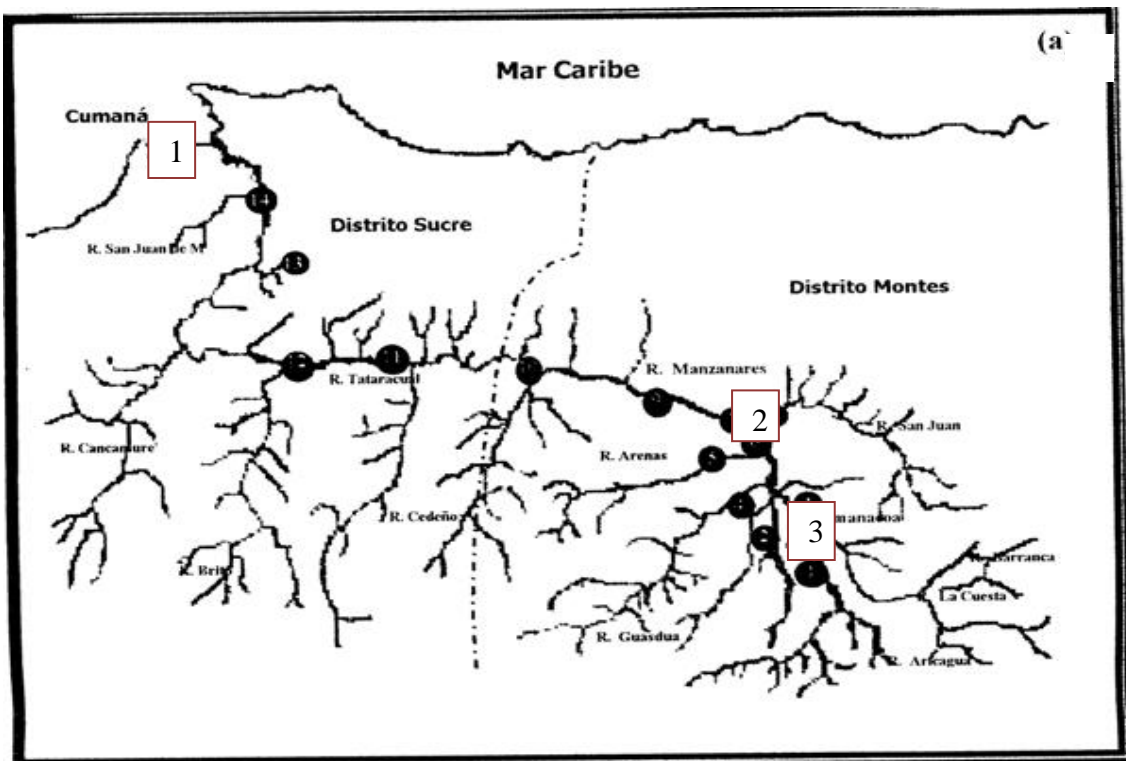


Figura 1. Área de Estudio de la cuenca del río Manzanares: (1) Detrás del mercado municipal de Cumaná, estado Sucre, (2) Estación Los Dos Ríos, (3) Estación las Fraguas. Recolección y transporte de las muestras de agua

La recolección de las muestras de agua se realizó en envases plásticos de boca ancha con capacidad de 300 ml, esterilizados y con tapa de rosca, según lo establecido por Milne (1996). Las muestras recolectadas se transportaron en una cava con hielo al laboratorio de bacteriología del Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, se emplearon condiciones de esterilidad, con el fin de preservar las condiciones microbiológicas.

Procesamiento de las muestras

A los 300 ml de muestras, se les realizó diluciones seriadas en solución salina fisiológica, desde 10⁻¹ a 10⁻⁹. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 1 ml a partir de la dilución 10⁻³ y se colocaron en placas estériles, previamente rotuladas, a las que se les agregaron agar Infusión Cerebro Corazón fundido (BHI, por sus siglas en inglés: Brain Heart Infusión). Las placas fueron cultivadas a 32°C por 24 horas y se estimó el conteo total de microflora cultivable, el cual se expresó en UFC/ml; así como la diversidad microbiana presente en el cultivo (Cruickshank et al., 1975).

Selección y reisolamiento de colonias típicas

Las colonias aisladas en las diferentes placas de las respectivas diluciones, se seleccionaron por su aspecto, consistencia, tamaño, forma y producción de pigmento. Las colonias seleccionadas fueron subcultivadas en agar nutritivo, agar manitol salado y agar sangre e incubadas por 24 horas, a una temperatura de 32°C en aerobiosis. La morfología del microorganismo se comprobó a través de la coloración de Gram, observándose al microscopio, para corroborar la presencia de cocos Gram positivos agrupados en racimos (Forbes y Sham, 2004).

Identificación bioquímica de *Staphylococcus* sp.

Las colonias seleccionadas del cultivo de agar nutritivo (cocos Gram positivos), se identificaron a través de las siguientes pruebas: catalasa, coagulasa, fermentación del manitol y ADNasa (Koneman et al., 1999).

Catalasa:

La prueba permite comprobar la capacidad del microorganismo de desdoblar el peróxido de hidrógeno. Para ello se utilizó el peróxido de hidrógeno; se colocó 1 gota del mismo en un portaobjetos y se procedió a colocar con un palillo de madera estéril, una colonia de la especie en estudio, procedente del agar nutritivo. La prueba positiva se evidenció con el desprendimiento de burbujas.

Coagulasa:

La prueba coagulasa permite comprobar la facultad de un organismo de coagular el plasma por la acción de enzima coagulasa. Para ello, se colocó plasma en un tubo estéril, luego se añadió una cantidad de cultivo, se incubó a 32°C durante 4 - 6 horas, la prueba se evidenció con la formación de un coagulo de fibrina.

Fermentación del manitol:

Permite identificar *S. aureus* fermentador de manitol de otras especies dentro del género. Esta prueba consiste en inocular por estría la cepa en estudio en una placa que contenga agar manitol salado. La placa se incubó a 32°C por 24 horas, La fermentación del manitol se evidenció por un cambio de color del indicador rojo de fenol a amarillo y además del crecimiento del organismo en altas concentraciones de cloruro de sodio.

Prueba de ADNasa

La prueba de ADNasa permite comprobar la presencia de enzima termoestable DNasa, que es capaz de clivar los enlaces fosfodiéster internos de la molécula de

DNA, diferenciando *S. aureus* de las otras especies dentro del género *Staphylococcus*. Para ello, se sembró el microorganismo puro en un medio ADNasa que contiene el colorante azul de toluidina, se incubó a 32°C por 24 horas. La producción de ADNasa se evidenció por un cambio de color de azul intenso a rosa.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana

Para la realización de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana se empleó el método de difusión en agar descrito por Bauer et al. (1966), siguiendo los lineamientos establecidos por el Instituto de Estandarización de Laboratorio Clínico (CLSI, 2007). El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera: se inocularon de 4 a 5 colonias aisladas del microorganismo identificado en 4,5 ml de solución salina fisiológica hasta observar turbidez, ajustándolo con un patrón 0,5 de la escala de McFarland. Luego se humedeció un hisopo de algodón estéril con la suspensión bacteriana, se diseminó sobre la superficie de la placa de agar Mueller Hinton. Se dejó secar de 3 a 5 minutos y luego, se procedió a colocar los discos de antibióticos de elección (oxacilina 1 µg, cloranfenicol 30 µg, ciprofloxacina 5 µg, eritromicina 15 µg, vancomicina 30 µg). Las placas se incubaron a 32°C, durante 24 horas, en aerobiosis, al cabo de este tiempo se procedió a realizar la lectura de los halos de inhibición. Esto permitió, dependiendo del tamaño, clasificarlo en sensible (S), intermedio (I) y resistente (R), según las categorías establecidas por el CLSI (2007). La cepa utilizada como control de calidad fue *Staphylococcus* ATCC 25923.

Efecto antagónico

Luego de la identificación de las cepas perteneciente al género de *Staphylococcus* sp. Se procedió a la detección de sustancias tipo antibióticos según la metodología descrita por Lankova et al (1993), a través de la técnica de doble capa. El método se realizó de la siguiente manera: las cepas identificadas dentro el genero *Staphylococcus* se enfrentaron con cepas indicadoras provenientes del Centro

Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM), estas cepas fueron: *Escherichia coli* K12 (CVCM 178), *Pseudomonas aeruginosa* (CVCM 787), *Bacillus subtilis* (CVCM 591), y *Staphylococcus aureus* (CVCM 636). Las cepas en estudio (posibles productoras) se inocularon en agar Luria Bertani (ALB), y luego se incubaron a 32°C, por 24 horas, en aerobiosis, con el propósito de obtener colonias aisladas. Transcurrido este tiempo, se procedió a resuspender, aproximadamente, 4 - 5 colonias aisladas en 5 ml de caldo Luria Bertani a una concentración 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml). Luego se colocaron 10 µl de la suspensión (cepa de *Staphylococcus*) sobre una placa con ALB, de tal manera, que se forme una zona densa de inóculo. Después se incubaron las placas a 32°C, por 24 horas, en aerobiosis.

Una vez crecidas las cepas en estudio, se expusieron a vapores de cloroformo por 20 minutos. Luego se cubrió la placa que contiene las bacterias productoras a ensayar con una sobrecapa (6 - 8 ml) del mismo medio con agar fundido, previamente inoculado con las bacterias indicadoras (cepas provenientes del CVCM). Seguidamente, la placa se incubó a 32°C por 24 horas en aerobiosis, trascurrido el tiempo, se observó la aparición o no de halos de inhibición del crecimiento. Las lecturas de los halos de inhibición se realizaron con una regla milimetrada, y se interpretaron como productora del efecto antagónico aquella donde se observó la aparición de los halos del crecimiento de cualquier tamaño. Estos análisis se realizaron por triplicado. Las mismas cepas provenientes del CVCM, se utilizaron para el control de calidad de los ensayos.

Análisis Estadístico

Utilizando la estadística descriptiva, los resultados obtenidos se expresaron en tablas y/o gráficas. Los patrones de susceptibilidad de los diferentes géneros bacterianos se reportaron en porcentaje de resistencia y sensibilidad. Los resultados

del efecto antagónico se expresaron en mm y para establecer la relación entre los patrones de resistencia y el efecto antagónico producido por *Staphylococcus* sp. se aplicó la prueba de Chi cuadrado (Lamotte, 1976).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio, se obtuvo una variación en el contaje de bacterias heterótrofas. De un total de 120 colonias aisladas de cultivos bacteriológicos de muestras de agua se identificaron un total de 29 cepas de *Staphylococcus* sp., 4 se correspondieron con estafilococos coagulasa positiva (13,79%) y 25 aislados de estafilococos coagulasa negativa (86,20%).

En la tabla 1 se expresa el contaje de colonias aisladas en muestras de agua provenientes de diferentes estaciones del río Manzanares. Se puede observar que la estación uno (1) muestra un alto porcentaje de contaminación, encontrándose el mayor contaje de colonias ($1,40-1,80 \times 10^5$ UFC/ml), esto puede deberse a las diferentes actividades antropogénicas que se llevan a cabo en sus cercanías: industrias, casas, entre otros, siendo los desechos vertidos en el río los causantes de problemas ambientales. Trabajos anteriores en estas mismas aguas, reportado por Senior (1994), estableció que la contaminación de aguas naturales, con material fecal, doméstico, industrial y aguas residuales de labores agrícolas ha sido un problema permanente en el río Manzanares en las últimas décadas; producto del asentamiento humano, la quema, botaderos de aguas negras y excremento, lo cual va aumentando a medida que el río desciende en su curso hasta llegar al mar.

Tabla 1. Contaje de colonias aisladas de muestras de agua provenientes de la cuenca del río Manzanares.

E	Meses			Rango (UFC/ml)
	Febrero (UFC/ml)	Mayo (UFC/ml)	Agosto (UFC/ml)	
E1	$1,80 \times 10^5$	$1,60 \times 10^5$	$1,40 \times 10^5$	$1,40 - 1,80 \times 10^5$
E2	$1,20 \times 10^5$	$1,10 \times 10^5$	$0,90 \times 10^5$	$0,95 - 1,20 \times 10^5$
E3	$1,00 \times 10^5$	$0,80 \times 10^5$	$0,70 \times 10^5$	$0,75 - 1,00 \times 10^5$

E: estación; E1: estación Detrás del Mercado Municipal; E2: estación los Dos Ríos; E3: estación Las Fraguas; UFC: unidades formadoras de colonia; ml: mililitro.

De acuerdo con lo expuesto por la norma salvadoreña (NSO) (2001), los límites de permisibilidad de bacterias heterótrofas en aguas son de 100 UFC/ml. Cabe destacar que, en Venezuela no se cuenta con estas normas. En los resultados se puede observar que la estación 1, ubicada detrás del mercado, el río da un pequeño giro, el flujo de agua es lento, las aguas son turbias de color marrón, olores fétidos y se observa basura flotante. En las orillas del río se encuentran humildes viviendas, y en sus cercanías industrias, que vierten desechos al río. Luego le sigue la estación 2, la cual corresponde a los Dos Ríos, donde la vegetación predominante es boscosa, con un cauce muy pedregoso, fondo arenoso, fuerte corriente y aguas transparentes. En este sector se desarrolla el cultivo de caña de azúcar; y después la estación 3, ubicada en las fraguas, donde el cauce es bastante amplio, caudal abundante, fuerte corriente, fondo areno-pedregoso y aguas transparentes (Márquez, 2002).

Cabe destacar que existe un nivel de contaminación en las aguas provenientes de las cuencas estudiadas, debido a que se vierten desechos sin manejo y administración adecuada, causando daño en los recursos biológicos, reducción de las actividades de esparcimiento debido a la disminución de la calidad del agua y, por consiguiente, daños en la salud humana (Metcalf y Eddy, 1991).

Las cepas identificadas como *Staphylococcus*, se observaron en el examen microscópico (coloración de Gram), cocos Gram positivos típicos, en tetrada, pareja, cadenas cortas o en forma de racimo de uva (Fig. 2A). En agar manitol salado, el crecimiento de las cepas fue adecuado, y presentaron su típico color amarillento en el medio (Fig. 2B).

En la tabla 2 se observa el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Staphylococcus* sp., obtenidas, a través del método de Kirby Bauer *et al.* (1966). Las cepas mostraron 100% de sensibilidad a ciprofloxacina, cloranfenicol, oxacilina y vancomicina. Sin embargo se observó un elevado porcentaje de cepas resistente a la

eritromicina (65,52%).



Figura 2. Características morfológicas y de cultivo de *Staphylococcus* sp.: A: Cocos Gram positivos típicos. B: crecimiento en agar Manitol Salado fermentado.

Tabla 2 Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. de aislados ambientales, provenientes de las cuencas del río Manzanares.

Antimicrobiano	Cepas			
	Sensibles	%	Resistente	%
Ciprofloxacina	29	100,00	0	0,00
Vancomicina	22	100,00	0	0,00
Cloranfenicol	29	100,00	0	0,00
Eritromicina	10	34,48	19	65,52
Oxacilina	29	100,00	0	0,00

La presencia de bacterias resistentes en cuerpos de agua, puede ser producto del uso indiscriminado de los antibióticos y a la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos, y otras sustancias que ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficacia la acción bactericida y así colonizar diversos ambientes naturales (Hoekstra y Baulton, 2002).

De acuerdo con lo observado, las cepas de *Staphylococcus* sp. aisladas en las muestras de agua del río Manzanares, presentaron resistencia a eritromicina, esto

puede deberse a un mecanismo mediado por el gen *msrA*. Este gen codifica para la producción de una bomba de eflujo que expulsa la eritromicina fuera de la célula (Hiramatsu, 2001). Estudios realizados por Tejedor *et al.* (2001) y Quiñonez (2001), en aislados de muestras ambientales, encontraron que las cepas incluidas en dicho estudio, eran sensibles a todos los agentes antimicrobianos a excepción de la eritromicina.

En la tabla 3 se muestran los fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana de aislados de *Staphylococcus* sp., provenientes de la cuenca del río Manzanares. La denotación de los fenotipos fueron nombrados arbitrariamente con números romanos. Allí se puede observar que se obtuvieron 2 fenotipos distintos de susceptibilidad, el fenotipo I se encontró en 4 cepas de *Staphylococcus* coagulasa positiva y 15 cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa, presentando sensibilidad a ciprofloxacina, vancomicina, cloranfenicol y oxacilina, pero resistentes a eritromicina. Otras 10 cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa expresaron el fenotipo IIcn, donde se muestra sensibilidad a todos los antibióticos presentes.

Tabla 3. Patrones fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana de aislados ambientales de *Staphylococcus* sp., provenientes del río Manzanares.

Fenotipos	Cepa		%	CIP	VAN	C	E	OXA
	cp	cn						
I	4	15	65,52	S	S	S	R	S
II	0	10	34,48	S	S	S	S	S

cp: coagulasa positiva; cn: coagulasa negativa; CIP: ciprofloxacina; VAN: vancomicina; C: cloranfenicol; E: eritromicina; OXA: oxacilina.

Las bacterias, como todos los seres vivos, exhiben mecanismos biológicos que las facultan para adecuarse a diversas presiones ambientales. Aunque la resistencia a los antibióticos es una expresión natural de la evolución genética bacteriana, ciertos factores también contribuyen al aumento de la expresión y diseminación de esta

característica inherente. El incremento en el uso de antibióticos y la respectiva presión selectiva que ejercen, es el factor más importante que contribuye a la aparición de diversas clases de resistencia bacteriana. Una de ellas es la resistencia intrínseca que se ha demostrado para bacterias gramnegativas, esporas bacterianas, micobacterias y especies del género *Staphylococcus* (Ang *et al.*, 2004). Esto podría afectar directa o indirectamente la calidad ambiental y recreacional del río.

Trabajo realizado por Gonzalez *et al.* (2006), expone que existe un elevado porcentaje de cepas de *Staphylococcus* que han mantenido, en general, una elevada sensibilidad ante los antimicrobianos.

En la tabla 4 se muestran los resultados sobre la producción de sustancias tipo antibiótico en aislados de *Staphylococcus* sp., provenientes de la cuenca del río Manzanares. 5 (17,24%) de las 29 cepas aisladas, se identificaron como productoras, al ser enfrentadas a las cepas provenientes del CVCM (Centro de Venezolano de Colección de Microorganismo) como cepas indicadoras.

Tabla 4. Aislados de *Staphylococcus* sp. productoras de sustancia tipo antibiótico provenientes de la cuenca del río Manzanares

Cepas	Proc.	<i>P.aeruginosa</i> CVCM787 (mm)	<i>E. coli</i> CVCM178 (mm)	<i>S. aureus</i> CVCM636(mm)	<i>B. subtilis</i> CVCM591 (mm)
A 019	E1	0	0	14	0
A 021	E1	0	0	16	0
A 022	E1	0	0	16	0
A 023	E1	0	0	14	0
A 027	E1	0.	0	14	0

Proc.: Procedencia; E1: estación; mm: milímetros; CVCM Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*: *Escherichia*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis*: *Bacillus subtilis*.

En la figura 3 se muestra una imagen de las cepas de *Staphylococcus* sp., aisladas del río Manzanares, productora y no productoras, de el efecto antagónico. 2

cepas de *Staphylococcus* coagulasa positiva y 3 *Staphylococcus* coagulasa negativa fueron las que produjeron sustancias tipo antibiótico contra la cepa de *Staphylococcus aureus* CVCM (636).

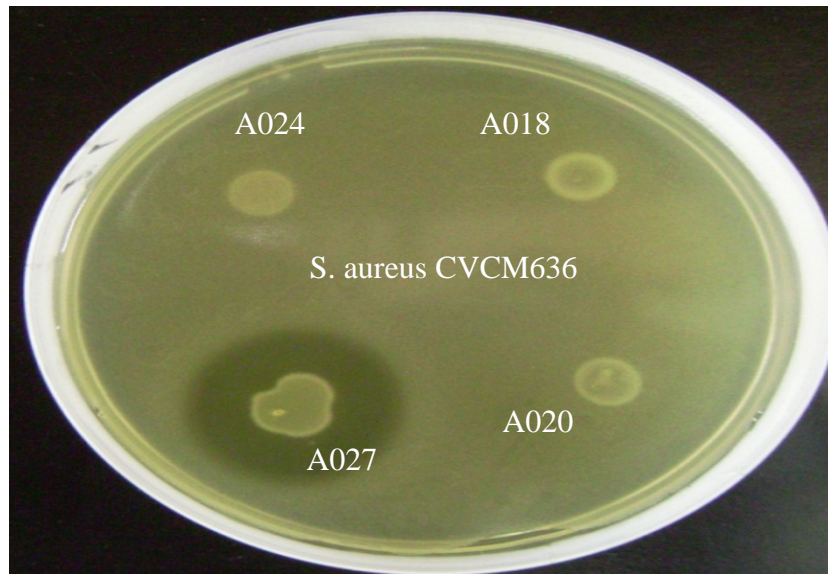


Figura 3. Cepas de *Staphylococcus* productoras de sustancias tipo antibiótico: A (027): *Staphylococcus* coagulasa positiva, A (024), A (018) y A (020): *Staphylococcus* coagulasa negativa no productora; cepa productora; *Staphylococcus aureus* CVCM 636 cepas indicadoras.

Los resultados indican que las 5 cepas identificadas como productoras de sustancias tipo antibiótico, contra la cepa de *Staphylococcus aureus* del CVCM, provenían de la estación 1, ubicada detrás del mercado municipal, lo cual indica que en esa zona del río hay bacterias como *Staphylococcus* sp. que producen sustancias antagonicas, que probablemente sean bacteriocinas, y que la producción de dicha sustancia, podría ser utilizado por el microorganismo, como mecanismo de depredación, y colonización.

Pocos son los trabajos realizados con cepas de *Staphylococcus*, productoras de sustancia tipo antibiótico aisladas en muestras ambientales (Tejedor *et al.*, 2001) y Quiñonez (2001). Sin embargo, se encontró el trabajo publicado, por Nascimento

(2002), quien obtuvo efecto antagónico, en cepas de *Staphylococcus*, productoras de sustancia tipo antibiótico, aislada en la leche, contra *Corinebacterium* sp.

Diversas son las sustancias antagónicas que los microorganismos producen para dominar en su habitat, por ejemplo, los antibióticos, bacteriocinas, entre otros (Tagg y Ray, 2001).

En la tabla 5 se presentan los resultados de la asociación entre la producción de sustancia tipo antibiótico y la susceptibilidad antimicrobiana, mostrándose que la producción estuvo mediada por cepas provenientes de la estación del mercado municipal.

Tabla 5. Relación entre la producción de sustancia tipo antibiótico y la susceptibilidad antimicrobiana provenientes de muestras de agua del río Manzanares

E	Cepas.	N° de prod.	N° de no prod.	%	C	VAN	E	OXA	CIP
E1	c n	3	3	20,68	S	S	R	S	S
	c p	2	0	6,89	S	S	R	S	S
E2	c n	0	6	20,68	S	S	R	S	S
	c p	0	1	3,44	S	S	R	S	S
E3	c n	0	3	10,34	S	S	R	S	S
	cp	0	1	3,44	S	S	R	S	S

E: estación; cp: coagulasa positiva; cn: coagulasa negativa.

Al relacionar el efecto antagónico de los aislados de *Staphylococcus* con el perfil de susceptibilidad antimicrobiana, se obtuvo que no hubo relación entre dichas

variables, lo cual indica, que la bacteria desarrolla resistencia para un antimicrobiano en particular o para varios antimicrobianos independiente de si produce o no sustancia tipo antibiótico.

Es importante destacar que las cepas de *Staphylococcus* aisladas del río constituyen un serio problema de salud pública, debido a que pudiera constituir un reservorio de genes de resistencia que puede ser transmitido a otros representantes de la misma especie o especies diferentes (Garcia y Fresnadillo. 2000). La aparición de estos gérmenes, hace necesario mantener la vigilancia, la cual permitirá tomar a tiempo las medidas pertinentes para así evitar sus consecuencias negativas.

CONCLUSIONES

El conteo de colonias de bacterias heterótrofas en las diferentes estaciones, según las normas Salvadoreñas (NSO), mostró que estas aguas no son permisibles para el consumo y recreación de la población.

El 65,52% de las cepas de *Staphylococcus* sp. fueron resistentes a eritromicina.

Cinco (5) cepas de *Staphylococcus* sp. produjeron sustancia tipo antibiótico.

La producción de sustancia tipo antibiotico es un mecanismo independiente de la resistencia a eritromicina presente en las cepas de *Staphylococcus* sp. estudiadas.

RECOMENDACIONES

El alto nivel de contaminación hace necesario un estricto control de la calidad de agua

Realizar estudios sobre la determinación del tipo de sustancia producida por dicha bacteria.

Evaluar estrategias para aplicar las medidas necesaria, que permitan combatir la contaminación y eliminar la proliferación de bacterias que causan daños al ser humano.

Determinar la virulencia de la bacteria, para así poder utilizarla, para biocontrol y biorremediación, y evitar riesgos a la salud.

BIBLIOGRAFÍA

Ang, J.; Ezike, E. y Asmar, I. 2004. Antibacterial resistance. *India J. Pedial.*, 71: 229-239.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por método estandarizado. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45: 493-496.

Cardoso, M. 2002. "Bacteriocinas producidas por cepas de *Enterococcus*" "Universia". <<http://www.Universa.Com.Ar>> (03/09/2006).

Committee of Laboratory Standards International (CLSI). 2007. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, approved standard - nine edition. U.S.A.

Cruickshank, R.; Duguid, J. y Marmion, P. 1975. *Medical microbiology*. Décima segunda edición. New York. U.S.A.

Delves, J.; Blackburn, P. y Evans, J. 1996. Application of the bacteriocin nisin. *Appl. Microbiol.*, 44: 100-104.

Dykes, G. y Hasting, J. 1998. Fitness cost associated with class bacteriocin resistance in *Listeria b73*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26: 5-8.

Fernández, A. y Lugo, E. 1994. Cambios en composición de la Ictiofauna del río Manzanares. *Rev. Fac. Agron. UCV.*, 20: 33-35.

Forbes, B. y Sham, D. 2004. *Diagnóstico microbiológico*. Décima primera Edición. Editorial Medicina Panamericana. Buenos Aires.

Gonzalez, R.; Suárez, M. y Weng, Z. 2006. Sensibilidad antimicrobiana en bacterias de origen ambiental. *Hig. Sanid. Ambient.*, 6: 150-159.

García, J. y Fresnadillo, M. 2000. Nuevos antibióticos activos frente a Gram positivos. *Rev. España Quimiotep.*, 13: 13-16.

Himsley, F.; Zhang, Y.; Yuan, M. y Musclow, E. 1992. Bacteriocina parcialmente purificada, que elimina a las células malignas por apoptosis: muerte celular programada. *Mol. Biol.*, 38: 43-51.

Hiramatsu, K. 2001. Vancomycin resistance in *Staphylococcus*. *J. Clin. Microbiol.*, 1: 135 – 137.

Hoekstra, A. y Baulton R.J. 2002. Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus*. Intermedius in dogs. *J. Appl. Microbiol.*, 93: 406-500.

Jack, R.; Tagg, J. y Ray, B. 1995. Bacteriocinas de bacterias Gram positivas. *Rev. Microbiol. Mol. Biol.*, 59: 171-200.

Kessler, C.; Nussbaum, E. y Tuazan, C. 1991. Disseminated intravascular coagulation associated with *Staphylococcus aureus* septicemia is mediated by peptidoglycan induced platelet aggregation. *Ann. Rev. Microbiol.*, 48: 585-617.

Kim, W. 1997. Nisin producción by *Lactococcus lactis* using two – phase batch culture. *Lett. Appl. Microbiol.*, 25: 169-171.

Koneman, E.; Allen, W.; Stephen, A.; Janda, W. 1999. Diagnóstico microbiológico. Editorial Médica Panamericana. Bogota.

Lamotte, M. 1976. Estadística Biológica. Quinta edición. Toray – Masson, S.A. Barcelona, España.

Lanková, A. y Mareková, P. 1993. Antimicrobial spectrum of bacteriocin – like substances produced by rumen *Staphylococci*. *Folia. Microbiol.*, 38: 74-76..

Lemus, R. y Bastardo, J. 1972. Enterobacterias de las aguas del río Manzanares de Cumaná. Estado Sucre – Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. UDO.*, 11 (2): 107-114.

Lenette, E. 2003. Control de propagación de *Salmonella* mediante la producción por otros microorganismos de bacteriocina inhibidora. *Respy.*, 4 (2): 93-96.

Madigan, M.; Martinko, J. y Parker, J. 1999. Biología de los microorganismos. octava edición. Prentice Hall Iberia. Madrid.

Mandell, J.; Bennett, E. y Dolin, J. 2000. Principles and practice of infectious diseases. Bennett's Edit. U.S.A.

Márquez, A. 2002. Environmental conditions of the waters of the Manzanares river Sucre Venezuela. *Bol. Oceanogr. UDO.*, 41 (1-2): 15-19.

Metcalf, H.; Eddy, G. 1991. Wastewater engineerina – treatment, disposal and reuse. (ed). G. Tchobanoglous, F. Burtar. Edición Mc Graw – Hill. New York. U.S.A.

Milne, D. 1996. Share base microbiological sampling of recreational bathing water. Possible problem and solutions. *Water shed.*, (11): 331-333.

Montville, T. y Chen, J. 1998. Mechanistic action of pediocin y nisin: recent progress and unresolved question. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 50: 511-519.

Nascimento, S. 2002. Caracterización fenotípica y genética de cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de bacteriocina implicada en la mastitis bovina. *Vet. Microbiol.*, 2: 133-134.

Norma salvadoreña (NSO). 2001. Parámetros de la calidad de agua. Editada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACYT., 99: 3-20.

Quiñónez, D. 2001. Enterococci as emerging pathogens of humans. *Appl. Microbiol.*, 83: 89- 99.

Reiff, F. 2001. Rosario de virus y bacterias. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Año 1. Suplemento de medio ambiente para América latina y el caribe, Chile/ Ecuador/ México.

Riley, M.; Tan, Y. y Wang, J. 2002. bacteriocins: evolution, ecology, y application. *Annu. Rev. Microbiol.*, 56: 117-137.

Sablon, B. y Contreras, E. 2000. Antimicrobial peptides of lactic acid bacteria. mode of action, genetic and biosynthesis. In *advances in biochemical engineering/biotechnology*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68 (3): 1165-1172.

Senior, W. 1994. Diagnóstico ambiental del río Manzanares. Informe Técnico Dep. Oceanográfico IOV – UDO., 15 (4): 215-230.

Tagg, J. y Ray, B. 2001. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiol. Rev.*, 16:714-723.

Tejedor, M.; Gonzalez, M.; Pita, T.; Lupiola, P. y Martín, J. 2001. Identification and antibiotic resistance of faecal enterococci isolated from water samples. *Int. J. Hyg. Environ. Health.*, 203: 363-368.

Vermeiren, H.; De Weert, S.; Mulders, I.; Kuiper, N y Hendrickx, G. 2002. Flagella-drive chemotaxis towards exudates components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas*. *Mol. Plant. Microbe Interact.*, 15: 1173-1180.

Yousef, E.; Luchansky, J. y Degnan, A. 1991. Behavior of *Listeria*

monocytogenes in wiener exudates in the presence of *Pediococcus acidilactici* H or pediocin AcH during storage at 4 or 25°C. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 1461-1467.

APÉNDICE

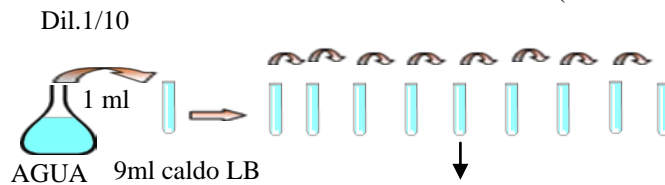
APÉNDICE 1

PROTOCOLO

Muestra Ambiental (agua)

Dilución de la muestra de agua

Dil. Seriada en caldo LB ($1 \times 10^{-1} - 10^{-9}$)

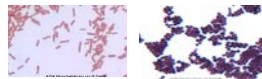


Siembra y aislamiento de las diluciones en: Agar nutritivo; Agar Manitol Salado, Agar Mack Conkey.



Caracterización morfológica de las colonias

Coloración de Gram



Identificación bioquímica: oxidasa, MIO, entre otros. Para Enterobacterias (Koneman *et al.*, 1999).

Identificación bioquímica: catalasa, coagulasa, entre otros. Para *Staphylococcus* (Koneman *et al.*, 1999).

PSA:(prueba de susceptibilidad antimicrobiana) Difusión en agar. (meticilina, cloranfenicol, eritromicina, vancomicina. Ciprofloxacina) (Bauer *et al.*, 1996).

Prueba de antagonismo para detección de bacteriocina (Método de difusión de doble capa). (Laukova *et al.*, 1993)

Análisis estadístico: los resultados se expresan en tablas de frecuencias, y la prueba de chi cuadrado (Lamotte, 1976)

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	AISLADOS AMBIENTALES DE Staphylococcus sp. PRODUCTORAS DE SUSTANCIA TIPO ANTIBIÓTICO, PROVENIENTES DE LA CUENCA DEL MANZANARES.
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Rojas. L. Adriana. J.	CVLAC	16 627 736
	e-mail	Adrianarojas18@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Staphylococcus
Sustancia tipo antibiótico
Susceptibilidad

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Microbiología	Bacteriología

Resumen (abstract):

En el presente trabajo se identificaron aislados ambientales de *Staphylococcus* sp. productores de sustancias tipo antibiótico provenientes de la cuenca del río Manzanares, entre febrero y agosto de 2008. A través de métodos microbiológicos convencionales, se llevó a cabo la identificación de las cepas en estudio. La susceptibilidad antimicrobiana se realizó por medio del método de Kirby Bauer y la producción de sustancia tipo antibiótico se evaluó por el método de doble capa, empleando como indicadoras: *Pseudomonas aeruginosa* CVCM787, *Escherichia coli* K12 CVCM178, *Staphylococcus aureus* CVCM636, *Bacillus subtilis* CVCM591, provenientes del Centro Venezolano de Colección de Microorganismos (CVCM). De las cepas aisladas, 29 (100%) procesadas pertenecían al género *Staphylococcus*, de los cuales, 4 cepas (13,79%) correspondieron a estafilococos coagulasa positiva y 25 (86,20%) a estafilococos coagulasa negativa. Todas las cepas resultaron sensibles a ciprofloxacina, cloranfenicol, oxacilina y vancomicina. Por otra parte, se observó resistencia a eritromicina (65,52%). De las 29 cepas de *Staphylococcus* identificadas, sólo a 5 (17,24%) se les detectó la producción de sustancias tipo antibiótico. La producción de sustancias tipo antibiótico de los aislados de *Staphylococcus* con el perfil de susceptibilidad, se obtuvo, que no hubo relación entre la producción de sustancias tipo antibiótico y la resistencia a la eritromicina, observada en las cepas de *Staphylococcus* sp.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Salazar, Elsa	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLA C	
	e-mail	elsazul2003@yahoo.com
	e-mail	
Parra, Evis	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLA C	
	e-mail	eviespin@hotmail.com
	e-mail	
Araque, Yasmina	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLA C	
	e-mail	yamasi40@hotmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2010	02	26

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_AJRL	Application/ Word.doc

Alcance:

Espacial: Universal

Temporal: Intemporal

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

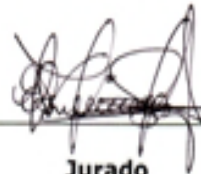
El autor garantiza en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir, por cualquier medio, contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar a la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. El autor se reserva los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.



Autor
Rojas. L. Adriana. J



Asesora
Araque, Yasmina



Jurado
Salazar, Elsa



Jurado
Parra, Evis

POR LA COMISIÓN DE TESIS: