

M-II1

Antibiotic resistance of bacterial strains isolated from the marine environment

M. AVILES, A. DE VICENTE, J.C. CODINA and P. ROMERO

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Microbiología e Higiene de la Ciencia, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, 29071 Málaga (España)

Introduction.

The widespread use of antibiotics in agriculture and medicine is considered as the major responsible factor increasing the isolation frequencies of antibiotic-resistant microorganisms. It has been demonstrated that antibiotic-resistant microorganisms eventually may enter into the marine environment through land runoff and sewage discharges (2,4).

This study was undertaken to provide descriptive information about antibiotic resistance patterns of microorganisms (fecal pollution indicators and pathogens) isolated from marine environment (water, shellfishes, and sediments), and to explore whether this resistance ability is related with their respective taxonomic groups.

Material and Methods.

Samples were collected in the marine area near Guadalhorce river mouth and in beaches affected by sewage discharges in Málaga (Spain). The studied microorganisms belong to two groups: fecal pollution indicators (Coliforms and Fecal Streptococci), and pathogens (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio* spp., and *Staphylococcus* spp.). The culture media employed for the microorganisms isolation were: Endo agar for Coliforms, KF agar for Fecal Streptococci, Ostrimide agar for *P. aeruginosa*, XLD agar for *Salmonella* spp., m-A medium for *A. hydrophila*, TCBS agar for *Vibrio* spp., and Mannitol Salt agar for *Staphylococcus* spp. (1). The study of antibiotic resistance patterns of isolates were determined by the disk diffusion method (6). The relationship between resistance patterns of the different bacterial groups was studied by applying the formula proposed by Kelch & Lee (4).

Results and Discussion.

The results obtained from the antibiotic susceptibility study are shown in Table 1. They reveal the existence of high resistance frequencies to amoxicillin and tetracycline, and low resistance frequencies to carbenicillin, gentamicin, and colistin, among Gram-negative microorganisms. A higher resistance ability of *P. aeruginosa* strains is observed, according to the results obtained by other authors (3,5,6). For Gram-positive microorganisms, two different resistance profiles are observed, being the highest resistance pattern for Fecal Streptococci strains.

The study of the relation among resistance patterns of microbial groups is shown in Table 2, independently of the isolation environment (water, shellfishes, or sediments). In this Table, no correlation between *P. aeruginosa* and the other microorganisms is observed. Similar results are obtained for Fecal Streptococci. This shows the presence of specific antibiotic resistance patterns for these microorganisms, being possibly associated to their respective taxonomic groups. For the other microbial groups significant correlations among them are obtained, especially for Coliforms. This means that the microorganisms have similar resistance patterns, which can be explained by the exposure of microorganisms to these substances in their original environments, or because they have developed similar resistance mechanisms against antibiotics (4).

TABLE 1. Antibiotic resistance of bacterial strains isolated from marine environment.

Antibiotics (code)	Frequency (%)						
	<i>P. aeruginosa</i> (n=25)	Coliforms (n=56)	<i>Salmonella</i> spp (n=15)	<i>A. hydrophila</i> (n=32)	<i>Vibrio</i> spp (n=22)	<i>Staphylococcus</i> spp (n=12)	Fecal Strept (n=1)
AMK	84.00*	60.71	6.67	81.25	68.18	50.00	0.00
CF	76.00	5.36	6.67	78.13	18.18	0.00	21.95
S	76.00	21.43	0.00	15.63	9.09	8.33	100.00
K	84.00	7.14	0.00	15.63	0.00	8.33	90.24
GM	0.00	1.79	0.00	0.00	0.00	0.00	68.29
TE	96.00	86.43	86.67	90.62	54.55	33.33	46.34
C	68.00	5.36	6.67	9.38	4.55	0.00	2.44
G	56.00	21.43	6.67	15.63	18.18	0.00	100.00
1	4.00	17.86	6.67	18.75	27.27	33.33	24.39
2	0.00	1.79	0.00	18.75	13.64	33.33	95.12
3	76.00	0.00	6.67	12.50	22.72	0.00	12.20
4	76.00	7.14	6.67	9.38	0.00	25.00	0.00

#: 1. Carbenicillin, 2. Colistin, 3. Nalidixic acid, 4. Triethoprim-Sulfathiazole.

#: 1. Erythromycin, 2. Lincomycin, 3. Nitrofurantoin, 4. Neomycin.

AMK: Amoxicillin, CF: Cephalothin, S: Streptomycin, K: Kanamycin, GM: Gentamicin, TE: Tetracycline, C: Chloramphenicol, G: Sulfisoxazole

TABLE 2. Coefficients of correlation between the antibiotic resistance patterns of the studied microorganisms.

	<i>P. aeruginosa</i>	Coliforms	<i>Salmonella</i> spp	<i>A. hydrophila</i>	<i>Vibrio</i> spp	<i>Staphylococcus</i> spp	Fecal Streptococci
<i>P. aeruginosa</i>	---						
Coliforms	0.429	---					
<i>Salmonella</i> spp	0.376	0.833*	---				
<i>A. hydrophila</i>	0.475	0.756*	0.621**	---			
<i>Vibrio</i> spp	0.294	0.829*	0.552**	0.805*	---		
<i>Staphylococcus</i> spp	0.539**	0.838*	0.463	0.705*	0.921*	---	
Fecal Streptococci	-0.218	-0.214	-0.142	-0.535	-0.474	-0.225	---

Confidence level of coefficients of correlation: * 99% ** 90%

References.

- AVILES, M., 1986. Tesis de Licenciatura. Universidad de Málaga.
- COOKE, M.D., 1976. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 9: 879-884.
- JOLY, B., J. ALAME, R. CLUZEL & D. PEPIN, 1979. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 130B: 341-347.
- KELCH, W.J. & J.S. LEE, 1978. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36: 450-456.
- MARQUES, A.M.; F. CONGREGADO & M.D. SIMON-PUJOL, 1978. *Microbia*, 4: 43-55.
- DE VICENTE, A., 1986. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga.

This work was supported by a grant of Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía.

M-II2

Recherche de champignons potentiellement pathogènes (Dermatophytes) dans le sable des plages méditerranéennes de la Côte d'Azur (France)

P. BERNARD*, E. GUEHO** et D. PESANDO*

* INSERM, Unité 303 "Mer et Santé", B.P. 3, 06230 Villefranche-sur-Mer (France)

** Institut Pasteur, Unité de Mycologie, 25 rue du Docteur Roux, 75724 Paris (France)

Key-word: Fungi, contamination, sand, beaches, Mediterranean

SUMMARY

During the summers 1986 and 1987, a survey of the french mediterranean beach contamination by potentially pathogenic keratinophilic fungi was undertaken. 125 sand sampling from 12 different beaches were examined. Among the 145 fungi identified only 8 keratinophilic and weakly pathogenic species were encountered.

Les dermatophytes, champignons kératinophiles provoquent diverses affections de la peau et des phanères (cheveux et ongles). Certaines espèces sont incriminées dans les mycoses estivales. Peu de données sont disponibles sur la présence de dermatophytes dans le sable des zones côtières marines à vocation balnéaire et récréative; Kishimoto et Baker, 1969; Bergen and Wagner-Merner, 1977; Todaro, 1978; Esterre et Agis, 1983; Dabrovna et al., 1984; Gip and Paldrok, 1986.

Dans la présente étude, les champignons kératinophiles ont été recherchés dans 125 échantillons de sable de plages (82 récoltés en flacons plastiques stériles et 43 par empreinte de moquettes stérilisées). L'échantillonnage a été réalisé selon des radiales perpendiculaires à la rive en prélevant pour chaque échantillon 100 g de sable à partir de la surface et jusqu'à 5 cm de profondeur. Les premiers prélèvements de sable ont été effectués à des distances comprises entre 1 à 5 m de la mer, les autres à des distances comprises entre 5 et 15 m, puis supérieures à 15 m.

Pour chaque échantillon de sable, trois techniques ont été utilisées pour l'isolement des dermatophytes:

La technique du piégeage par cheveux (Vanbrauseghem, 1952), modifiée par Orr (1969), la filtration sur membrane (0,45 µ) des eaux de lavage de sable et la technique d'empreinte par moquette (10 cm x 10 cm).

Les primocultures ont été effectuées sur gélose Sabouraud au chloramphénicol (0,05 %) et à l'actidione (0,05 %) et sur gélose Dermatophytes Sélective selon Taplin. La croissance des champignons filamenteux a été observée pendant 2 à 8 semaines, puis les souches suspectes repiquées sur gélose au malt pour identification.

Parmi les 145 champignons filamenteux isolés, les espèces kératinophiles que nous avons le plus fréquemment rencontrées ont été: *Arthrographis kalraii* (4,8 %), *Microascus trigonosporus* (2,8 %), *Chrysosporium keratinophilum* (1,4 %) et *Chrysosporium carmichaeli* (0,7 %).

Les espèces non kératinophiles mais faiblement pathogènes ont été: *Poecilomyces lilacinus* (11 %), *Acremonium strictum* (4,8 %), *Ooctrichum candidum* (2,8 %). Le seul dermatophyte isolé au cours de ce travail, *Trichophyton terrestre* (0,7 %) est une espèce strictement géophile jamais rencontrée en pathologie.

Nos observations sur les champignons kératinophiles isolés du sable des plages de la côte d'Azur sont comparables à celles d'autres auteurs et plus particulièrement à celles de Todaro (1978) qui a signalé la faible fréquence des dermatophytes dans le sable des plages méditerranéennes (Sicile, Italie), ce qui peut être expliqué par la pauvreté du milieu en matière organique, sa forte dessiccation et l'influence des ultra-violet.

BIBLIOGRAPHIE

- Bergen L. and Wagner-Merner D.T., 1977. *Mycologia*, 69: 299-308.
- Dabrovna N., Landau J., Newcommer V. and Plumkett O., 1964. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, 24: 137-150.
- Esterre P. et Agis F., 1983. *Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd.*, 12, 1: 115-119.
- Gip L. and Paldrok H., 1966. *Acta Derl. Venerol.*, 46: 78-81.
- Kishimoto R. and Baker G., 1969. *Mycologia*, 61: 537-548.
- Orr G., 1969. *Sabouraudia*, 7: 129-134.
- Todaro F., 1978. *Nuovi Ann. Ig. Microbiol.*, 29, 6: 491-498.
- Vanbrauseghem R., 1952. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 32: 173-178.

M