

Artículo original

Utilización del meropenem como fuente de carbono y energía de una comunidad bacteriana proveniente de un suelo adaptado a la degradación de hidrocarburos

Graciela Natalia Pucci*

CEIMA. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

Recibido 07 de febrero de 2025; aceptado 13 de abril de 2025

<https://doi.org/10.69833/RSVM.2025.1.45.04>

Resumen: Los antibióticos son considerados contaminantes emergentes debido a su amplio consumo y desecho, lo que ha provocado riesgos para el medio ambiente ecológicos y para la salud humana. Este trabajo se focalizó en la capacidad que poseen las bacterias que degradan hidrocarburos, adaptadas al uso y presencia de sustancias recalcitrantes, para usar al meropenem como fuente de carbono y energía. Se usó un suelo proveniente de una biopila contaminada con hidrocarburos. Se extrajeron 10 g de suelo y se colocaron en 100 mL de Bushnell Haas adicionado con 20 ppm de meropenem. Los cultivos se controlaron por espectrometría UV a 278 y 600 nm. Se realizaron espectros por FT-IR al inicio y final. Se obtuvo una comunidad mixta formada por 11 bacterias y dos levaduras que fue capaz de utilizar el meropenem. La comunidad redujo la concentración de meropenem en 68 %. Los géneros aislados fueron *Kocuria rhizophila*, *Bacillus thurgensis*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus* sp., *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Stenotrophomonas acidii* y *Microbacterium barkeri*, los cuales pudieron usar individualmente el meropenem entre un 20 a 41 %. El espectro de FT-IR mostró disminución en las bandas 1765 cm⁻¹ a 1350 cm⁻¹, 1654 cm⁻¹ y 928 cm⁻¹ correspondientes al anillo β-lactámico. El meropenem fue utilizado por esta comunidad bacteriana y cepas aisladas como fuente de carbono y energía.

Palabras clave: meropenem, comunidad bacteriana, biodegradación de hidrocarburos, suelos, bacterias, antibióticos.

Use of meropenem as a carbon and energy source for a bacterial community from a soil adapted to hydrocarbon degradation

Abstract: Antibiotics are considered emerging contaminants due to their widespread consumption and disposal, which has led to risks to the environment, ecology, and human health. This study focused on the ability of hydrocarbon-degrading bacteria, adapted to the use and presence of recalcitrant substances, to use meropenem as a carbon and energy source. Soil from a hydrocarbon-contaminated biopile was used. Ten g of soil was extracted and placed in 100 mL of Bushnell Haas solution containing 20 ppm of meropenem. Cultures were monitored by UV spectrometry at 278 and 600 nm. FT-IR spectra were performed at baseline and endpoints. A mixed community consisting of 11 bacteria and two yeasts that was able to use meropenem was obtained. The community reduced meropenem concentrations by 68%. The isolated genera were *Kocuria rhizophila*, *Bacillus thurgensis*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus* sp., *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Stenotrophomonas acidii*, and *Microbacterium barkeri*, which individually utilized meropenem by 20 to 41%. The FT-IR spectrum showed a decrease in the 1765 cm⁻¹ bands to 1350 cm⁻¹, 1654 cm⁻¹, and 928 cm⁻¹ corresponding to the β-lactam ring. Meropenem was utilized by this bacterial community and isolated strains as a carbon and energy source.

Keywords: meropenem, bacterial community, hydrocarbon biodegradation, soils, bacteria, antibiotics

* Correspondencia:

E-mail: puccigraciela@gmail.com

ORCID: 0000-0002-0238-2394

Introducción

Los antibióticos β -lactámicos se caracterizan por presentar un anillo β -lactámico en su estructura molecular. Según la literatura reciente, más del 60 % de los antibióticos disponibles comercialmente en el mundo son compuestos β -lactámicos [1], siendo el segundo grupo en su utilización. Actúan inhibiendo la biosíntesis de la pared celular en organismos bacterianos.

En general, los antibióticos están diseñados para ser refractarios a la biodegradación, estables a temperatura y pH fisiológicos humanos y ser efectivos en muy baja concentración. Recientemente, aumentó la preocupación por los posibles impactos ecológicos de los antibióticos sintéticos, porque pueden inhibir procesos ambientales clave mediados por microorganismos como la regeneración de nutrientes, los ciclos del carbono y nitrógeno, así como la degradación de contaminantes [2]. Se han propuesto muchos desarrollos de ingeniería que incluyen procesos de coagulación, flotación, reducción química, oxidación, degradación fotoquímica y remediación microbiana, para abordar estos problemas al eliminar los antibióticos de los hábitats [3].

El meropenem pertenece a un grupo de medicamentos denominados carbapenémicos, que son antibióticos de amplio espectro, potentes y resistentes a las β -lactamasas. Debido a su uso frecuente, se puede detectar una alta concentración ecológica de meropenem que oscila entre nanogramos y microgramos [4]. Debido a que los métodos tradicionales para el tratamiento de aguas residuales tienen poco efecto en la eliminación de antibióticos, su presencia a largo plazo en el ambiente destruye el equilibrio ecológico y, por lo tanto, afecta la salud humana, debido al aumento de microorganismos con resistencia a los antimicrobianos [5].

Como todos los antibióticos betalactámicos, la solución acuosa de meropenem es inestable y está sujeta a degradación hidrolítica [6]. Los productos de degradación identificados de meropenem son el producto hidrolizado de β -lactámicos (ácido meropenémico) y los productos poliméricos (dímeros y trímeros), resultantes de la aminólisis intermolecular del anillo de β -lactámicos por la amina de la segunda molécula [6]. La degradación de meropenem sigue una cinética de primer orden y se encontró que el fármaco se degradaba mucho después de la reconstitución, con formación de algunos productos de degradación [7].

Diversos trabajos reportan que bacterias y hongos poseen capacidad de biodegradar y biotransformar antibióticos. Dantas *et al.*, [8] encontraron, en 11 suelos, bacterias pertenecientes a Proteobacteria (87 %),

Actinobacteria (7 %) y Bacteroidetes (6 %), siendo predominantes los Pseudomonadales (24 %), Enterobacteriales (13 %), Actinomycetales (7 %), Rhizobiales (7 %), y Sphingobacteriales (6 %), con capacidad de desarrollarse en presencia de 18 antibióticos. Li *et al.*, [9] encontraron *Pseudomonas* con capacidad de crecer en presencia de cefalexina y se halló que *Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia* se desarrollaron utilizando claritromicina [10]. En la Patagonia argentina, la industria extractiva del petróleo genera suelos contaminados, en donde se han reportado los géneros *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Microbacterium* y *Rhodococcus* de forma frecuente [11-13]. Estos géneros también han sido reportados por su capacidad para biodegradar antibióticos [14,15].

El objetivo de este trabajo fue conocer si las bacterias adaptadas a la degradación de hidrocarburos patagónicos tenían la capacidad de desarrollarse con meropenem como fuente de carbono y energía.

Materiales y métodos

Suelo: Muestra de suelo patagónico proveniente de un repositorio a una profundidad comprendida entre los 10 y 30 cm, contaminada con hidrocarburos totales del petróleo en un 5,6 %.

Microcosmos y seguimiento de la degradación de antibióticos: La comunidad bacteriana se extrajo de 10 g de suelo y se colocó en 100 mL de Bushnell Haas modificado (en g/L: CaCl_2 0,01; MgSO_4 0,2; FeCl_3 0,005; NH_4NO_3 1; KH_2PO_4 0,5; extracto de levadura 0,025; KH_2PO_4 0,5; pluripeptona 0,025), usando como nutriente el meropenem en una concentración de 20 partes por millón (ppm). Se realizaron ocho enriquecimientos para obtener una comunidad que solo crezca por la utilización del meropenem. Posteriormente, los microorganismos aislados (bacterias y hongos) se cultivaron en 100 mL de Bushnell Haas con una concentración de 20 ppm de meropenem.

Cada comunidad, las cepas aisladas y sus respectivos controles (medio de cultivo con 20 ppm de meropenem) se trabajaron por triplicado, a 28 °C en una estufa de cultivo, en oscuridad y agitación constante a 120 rpm. Los ensayos se controlaron periódicamente por lecturas en espectrofotómetro (DO) a 600 nm y 278 nm [16,17] y lecturas de pH.

Producción de biosurfactantes

Actividad hemolítica. Cada cepa se inoculó en una placa de agar sangre y se incubó a 37 °C durante 48 h [18]. Las

placas fueron revisadas visualmente para la detección de halos de hemólisis alrededor de las colonias. La presencia de un halo de hemólisis alrededor de la cepa indica la lisis de los eritrocitos, y, por lo tanto, la presencia del biosurfactante [19].

Estabilidad de la emulsión (EE): Este parámetro se determinó a partir del volumen de emulsión (VE) relativo, medido en el intervalo de 0 a 48 h, cada 24 h [20], con las siguientes ecuaciones:

$$\frac{\text{altura de la emulsión (mm)} \times \text{área de la sección transversal (mm}^2\text{)}}{\text{volumen total del líquido (mm}^3\text{)}}$$

$$EE = \frac{VE \text{ al tiempo (h)}}{VE \text{ al tiempo 0 (h)}} \times 100$$

Las estabilidades de las emulsiones formadas fueron comparadas con una solución 1 % de dodecil sulfato de sodio en agua desionizada.

Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR): El perfil del meropenem se realizó utilizando discos de zinc y selenio para la lectura de las muestras. Se colocó 500 mL del medio de cultivo al inicio y final de la experiencia y se dejaron secar durante 15 min a 65 °C. Las muestras fueron analizadas en un equipo Varian®, operando en la ventana espectral de 400 a 4000 ondas/cm con 32 escaneos/muestra con una resolución de 1 onda/cm y una velocidad de escaneo de 10 kHz. Se adquirieron secuencialmente tres espectros para cada muestra. Estos espectros fueron procesados y analizados con la ayuda del software de resolución Varian®.

Análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME's) para la identificación de las bacterias: La extracción de ácidos grasos se realizó a partir del tratamiento de 40 mg (peso húmedo) de células crecidas en la tercera estría a las 24 h en medio digerido de agar Tripteína y Soya (TSBA), efectuando una saponificación con alcohol metílico-hidróxido de sodio-agua (150 mL: 45 g: 150 mL), seguida de una metilación con ácido clorhídrico 6 N y alcohol metílico (325 mL: 275 mL), una extracción con n-hexanometil terbutil éter (1:1) y lavado con hidróxido de sodio-agua (10,8 g-900 mL).

Los ácidos grasos se determinaron como metil ésteres por cromatografía de gases, usando una columna capilar Ultra 2 de 25 cm de longitud, 0,2 mm de diámetro, con un cromatógrafo HP 6890 series II GC® con inyección completa, presión inicial de 10 psi y programa de temperatura: 170-288 °C a 28 °C/min, 288-310 °C 60 °C/min, 1 min de permanencia a 310 °C y detector por ionización de llama. La integración de los picos se efectuó mediante HP 10.01 Chem Station®, siendo los ácidos grasos identificados mediante el sistema Sherlock®

(versión 6.0) con el estándar de calibración para identificación de bacterias. La composición en ácidos grasos se calculó como porcentaje del área de pico en relación con la sumatoria de áreas de todos los ácidos grasos de C9 a C20.

Resultados y discusión

La degradación de una sustancia depende tanto de su composición como de las condiciones experimentales. Factores como la temperatura y la intensidad de la luz pueden influir en el proceso. En este estudio, se evitó la fotodegradación mediante el cultivo en oscuridad; esto impidió el desarrollo de las bacterias fotosintéticas y la fotooxidación. Por esto, la medición de absorbancia no está afectada por otros procesos distintos a la degradación del antibiótico en estudio. La biodegradabilidad del meropenem y sus efectos sobre las bacterias presentes se investigaron en la prueba de sistema cerrado [21], con periodos de apertura para el cambio de oxígeno, ya que se buscó una degradación aeróbica del meropenem. Ensayos preliminares mostraron que la mayor degradación ocurrió en las primeras 72 h. Luego, el proceso alcanzó una meseta con valores de degradación muy bajos. La utilización de otro carbapenem, el imipenem, reveló su capacidad de ser degradado por una comunidad bacteriana solamente cuando la concentración era de 1 % [21] y su impacto en esa comunidad fue importante, disminuyendo el número de bacterias. En este estudio, la degradación del meropenem ocurrió principalmente en la comunidad bacteriana. En contraste, las cepas aisladas mostraron una menor capacidad degradativa (Tabla 1). Estos resultados sugieren que la comunidad bacteriana actúa en sinergia para degradar el antibiótico.

Tabla 1. Valores de degradación de meropenem por las cepas identificadas: pH, DO a 600 nm y hemólisis del agar sangre.

Cepa	Identificación	Hemólisis en agar sangre	EE	Utilización /dgc	Aumento de la turbidez	pH
1	<i>Kocuria rhizophila</i>	+	16,7	41,5	1,9	7,1
2	<i>Bacillus thurgensis</i>	-	-	34,6	3,1	6,9
3	<i>Bacillus thurgensis</i>	+	-	30,1	2,5	7,1
4	<i>Bacillus thurgensis</i>	+	25	27,1	2,9	7,1
5	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	-	-	37,6	2,2	7,1
6	<i>Kocuria rhizophila</i>	-	-	41,3	1,9	6,8
7	<i>Bacillus</i> sp.	+	10	26,6	2,9	6,9
8	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	-	-	32,9	1,8	7,0
9	<i>Stenotrophomonas acidii</i>	-	-	31,8	2,4	7,0
10	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	21,3	2,3	6,9
11	<i>Microbacterium barkeri</i>	+	-	33,4	1,8	6,9
13	Levadura no <i>Candida</i>	-	28,6	29,4	2,0	7,0
14	Levadura no <i>Candida</i>	-	-	35,6	2,0	6,9
	Comunidad	+	54,2	68,7	54,5	7,0

Hemólisis en agar sangre: (+) indica presencia, (-) indica ausencia. EE (%): emulsificación en porcentaje. Utilización/dgc (%): porcentaje de utilización del compuesto. Aumento de la turbidez: medida relativa (DO 600) del crecimiento bacteriano en medio con meropenem. pH: al final del ensayo.

El espectro de absorción en el UV de meropenem en medio mineral mostró la absorbancia más alta a 278 nm [22] (Figura 1). La comunidad bacteriana aislada del suelo, con un prolongado historial de contaminación por hidrocarburos, demostró la capacidad de crecer utilizando meropenem como fuente de carbono y energía, que se evidenció con el aumento de la turbidez a 600 nm y la disminución del valor de absorbancia para el meropenem (Tabla 1).

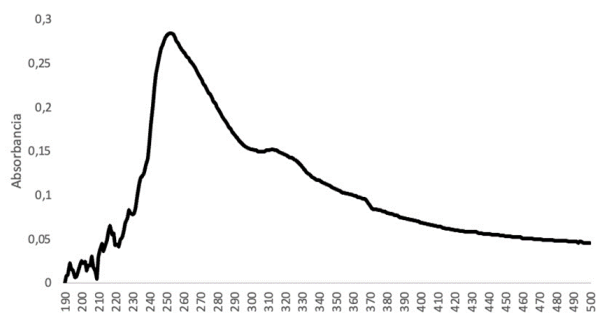


Figura 1. Barrido espectral del meropenem en el rango de 190 a 500 nm

Los organismos aislados estaban adaptados al compuesto de prueba, debido a que se realizaron varios trasposos para garantizar que su crecimiento dependiera exclusivamente del meropenem, y no de residuos del suelo con hidrocarburos. El antibiótico probado contiene un anillo β -lactámico, cuya degradación química por apertura hidrolítica es una posible vía de transformación, lo cual genera una disminución del pH en la solución. La pérdida de meropenem en la solución de prueba se evaluó mediante espectrofotometría a la longitud de onda seleccionada según el barrido espectral. El meropenem, previamente, fue empleado en medio base mineral sin bacterias, para evaluar la estabilidad y evitar resultados erróneos de utilización, como pérdida de la lectura en la longitud de onda por descomposición hidrolítica del antibiótico. Al-Ahmad *et al.* [23] encontraron que la degradación de meropenem ocurre por un proceso de producción de β -lactamasas sin la utilización de oxígeno.

El aumento de turbidez, utilizado como indicador del crecimiento bacteriano, varió entre 1,9 a 3,1 veces su valor inicial para las cepas aisladas; la cifra de mayor desarrollo ocurrió en la comunidad bacteriana siendo 54 veces mayor al número inicial. No se presentó una relación lineal o directa entre el aumento de la turbidez y la degradación; esto puede deberse a la diferencia de tamaño que tienen los microorganismos.

El pH de las soluciones recién preparadas en medio mineral fue de 7,3. El meropenem es soluble en una solución de fosfato de potasio monobásico al 5 %, y el ácido formado por la ruptura del anillo β - disminuye el pH de la muestra. La relación entre la acidez y la concentración de enzimas se puede obtener a partir del cambio del valor

de pH. El pH se controló al inicio y al final (Tabla 1). Se observó disminución de los valores, pero estos fueron óptimos para el desarrollo bacteriano debido a que se mantuvieron cercanos a la neutralidad. Las condiciones ácidas favorecen la degradación de meropenem y la formación de un producto de degradación, que cuando se controla por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) tiene un tiempo de retención corto en comparación con el pico de meropenem, lo que sugiere que es un compuesto altamente polar (hidrofílico) [7]. Se esperaba que el compuesto de anillo abierto fuera el producto ácido, porque su formación implicaba la escisión del enlace lábil β -lactámico. En un estudio específico sobre la cuantificación de metabolitos de meropenem, se encontró un metabolito de anillo abierto con el mismo tiempo de retención por HPLC [24]. Este producto de degradación también se detectó en un estudio sobre el desarrollo del método HPLC para la cuantificación de meropenem en productos farmacéuticos, cuando la muestra se trató con hidróxido de sodio 0,01 N [25]; este cambio no puede ser detectado en una medición en espectro UV.

Se observó la presencia de espuma en los Erlenmeyer durante la degradación del antibiótico, la cual se corroboró con los ensayos de emulsión a 24 h y la hemólisis de agar sangre. Ambos ensayos permitieron evidenciar la presencia de sustancias emulsificantes que podrían ayudar en la degradación. La hemólisis fue positiva en seis de las catorce cepas. Entre estas, *Kocuria rhizophila*, *Bacillus thuringiensis* (cepas 3 y 4), *Bacillus* sp. (cepas 7 y 10) y *Microbacterium barkeri* demostraron una clara actividad hemolítica, lo que sugiere que estas bacterias podrían estar produciendo factores extracelulares, como hemolisinas o sustancias biosurfactantes. Este comportamiento puede estar relacionado con funciones adaptativas que les permiten utilizar hidrocarburos en el suelo del que provienen, dependiendo de las condiciones en las que estas bacterias se desarrollan. El índice de emulsificación coincidió con la hemólisis, a excepción de la cepa 13 (levadura). No se presentó una relación directa entre la emulsificación y el porcentaje de degradación del meropenem. Las dos cepas de *Kocuria rhizophila* presentaron valores similares de degradación de desarrollo en el medio de cultivo con meropenem, pero se diferenciaron con la producción de EE, siendo nulo en una de ellas y en la otra con un valor bajo de 16,6; esta degradación pudo deberse a la presencia de β -lactamasas, como lo detectaron Biswal *et al.* [26] en cepas de *Kocuria*. El ensayo se realizó durante 14 días y el análisis de los espectros de FT-IR al inicio y al final evidenció que la banda a 3180 cm^{-1} mostró una disminución en comparación con el día uno del armado de los sistemas (Figura 2). Esta banda representa el enlace O - H del grupo funcional $-\text{COOH}$ (ácido carboxílico). También disminuyó la banda característica del estiramiento del

enlace C=O (cetona) presente en el anillo β -lactámico a 1765 cm^{-1} , así como de la banda a 1350 cm^{-1} , que representa el enlace C - N en el anillo β -lactámico, mostrando también una disminución en su intensidad. La banda de absorción a 1654 cm^{-1} , que corresponde a la deformación del enlace N - H del grupo funcional amida de la estructura del meropenem, también disminuyó en intensidad. Otra banda que presentó una disminución en su intensidad fue la banda a 928 cm^{-1} , que representa el estiramiento del enlace C - OH del grupo funcional -COOH (ácido carboxílico). La banda de absorción que desapareció fue la que apareció a 1114 cm^{-1} , que representa la flexión del enlace C - CO - N del grupo funcional C=O (cetona) del anillo β -lactámico. La desaparición de esta banda de absorción sugiere que el antibiótico fue hidrolizado debido a la presencia de β -lactamasas, que se encontraron en algunas de las bacterias aisladas. Esto evidencia que las β -lactamasas actúan rompiendo el enlace amida del anillo β -lactámico, previamente unido al grupo carboxilo (antibióticos β -lactámicos).

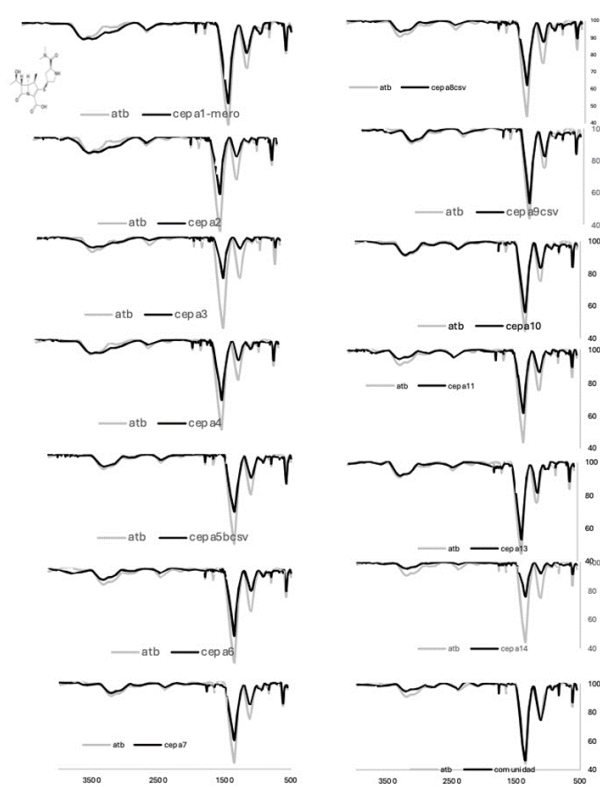


Figura 2. Espectro infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR). Muestras en gris: espectro del meropenem. Muestras en negro: espectro de la cepa o comunidad estudiada

Reis *et al.* [27] reportaron la degradación de la penicilina a través de hidrólisis y fotólisis medidas por materia orgánica, pero afirmaron que la degradación ocurre principalmente por la hidrólisis del anillo β -lactámico, lo que genera productos de degradación que a menudo se encuentran en concentraciones más altas que la forma

original. Según Cielecka-Piontek *et al.* [28], ese producto sería el ácido. Esto coincidió con la disminución del pH de los sistemas cerrados.

En conclusión, los resultados presentados muestran la capacidad de esta comunidad bacteriana para desarrollarse en presencia de meropenem. Se aislaron 11 bacterias y 2 dos levaduras con potencial biotecnológico para la degradación de este antibiótico del medio ambiente, pero se debe seguir trabajando en las mismas para mejorar los rendimientos.

Agradecimientos

Se agradece al personal técnico del CEIMA.

Conflicto de interés

El autor declara no tener conflictos de interés.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por el CEIMA y por el proyecto PI 1594. 80020190000020UP.

Referencias

- Homem V, Santos L. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices—a review. *J Environ Manag.* 2011; 92:2304-47. DOI: [10.1016/j.jenvman.2011.05.023](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.05.023)
- Olliver J, Kleineidam K, Reichel R, Thiele-Bruhn S, Kotzerke A, Kindler R, *et al.* Effect of sulfadiazine-contaminated pig manure on abundance of genes and transcripts involved in nitrogen transformation in the root-rhizosphere complexes of maize and clover. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76:7903-9. DOI: [10.1128/AEM.01252-10](https://doi.org/10.1128/AEM.01252-10)
- Ahmed Y, Lu J, Yuan Z, Bond PL, Guo J. Efficient inactivation of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes by photo-Fenton process under visible LED light and neutral pH. *Water Res.* 2020; 179:115878. DOI: [10.1016/j.watres.2020.115878](https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115878)
- Chen J, Wang Y, Qian Y, Huang T. Fe (III)-promoted transformation of β -lactam antibiotics: hydrolysis vs. oxidation. *J Hazard Mater.* 2017; 335:117-24. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2017.03.067](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.03.067)
- Hou Y, Yuan G, Wang S, Yu Z, Qin S, Tu L, Tang Y. Nitrofurazone degradation in the self-biased biophotocatalytic system: g-C₃N₄/CdS photocathode characterization, degradation performance, mechanism and pathways. *J Hazard Mater* 2020; 384:121438. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2019.121438](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121438)
- Cai SY, Hu CQ. Chromatographic determination of polymerized impurities in meropenem. *J Pharm Biomed Anal.* 2005; 3:585-9. DOI: [10.1016/j.jpba.2004.11.023](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2004.11.023)

7. Mendez A, Chagastelles P, Palma E, Nardi N, Schapoval E. Thermal and alkaline stability of meropenem: degradation products and cytotoxicity. *Int J Pharm.* 2008; 350:95-102. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2007.08.023](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.08.023)
8. Dantas G, Sommer MO, Oluwasegun RD, Church GM. Bacteria subsisting on antibiotics. *Science.* 2008; 320:100-3. DOI: [10.1126/science.1155157](https://doi.org/10.1126/science.1155157)
9. Lin B, Lyu J, Lyu XJ, Yu HQ, Hu Z, Lam JC, Lam PK. Characterization of cefalexin degradation capabilities of two *Pseudomonas* strains isolated from activated sludge. *J Hazard Mater.* 2015;282:158-64. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2014.06.080](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.06.080)
10. Acuña A, Pucci GN. Desarrollo de una comunidad bacteriana y de cepas aisladas a expensas de utilización de claritromicina como fuente de carbono y energía. *Ingeniería Sanitaria y Ambiental* 2023; 147:42-7. https://www.researchgate.net/publication/370285548_De_sarrollo_de_una_comunidad_bacteriana_y_de_cepas_aisladas_a_expensas_de_utilizacion_de_claritromicina_como_fuente_de_carbono_y_energia
11. Acuña AJ, Cambarieri L, Pucci GN. Biodegradación de dos residuos de estaciones de servicio en Río Gallegos - Argentina. *Acta Biol Colomb.* 2020; 25:299-309. DOI: [10.15446/abc.v25n3.77690](https://doi.org/10.15446/abc.v25n3.77690)
12. Acuña AJ, Pucci GN. Domestication of an indigenous bacterial. Consortium to remove hydrocarbons from soils of the Austral Basin. *IJSR.* 2022; 11:1868-1903. DOI: [10.21275/SR22422231406](https://doi.org/10.21275/SR22422231406)
13. Pichl G, Pucci GN. Bacterial diversity from bottoms tanks. *IJSR.* 2020; 9:866-8. DOI: [10.21275/SR20619091120](https://doi.org/10.21275/SR20619091120)
14. Crofts TS, Wang B, Spivak A, Gianoulis TA, Forsberg KJ, Gibson MK, *et al.* Shared strategies for β -lactam catabolism in the soil microbiome. *Nat Chem Biol.* 2018; 1:556-64. DOI: [10.1038/s41589-018-0052-1](https://doi.org/10.1038/s41589-018-0052-1)
15. Minerdi D, Zgrablic I, Castrignanò S, Catucci G, Medana C, Terlizzi ME, *et al.* *Escherichia coli* overexpressing a Baeyer-Villiger monooxygenase from *Acinetobacter radioresistens* becomes resistant to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 1:64-74. DOI: [10.1128/AAC.01088-15](https://doi.org/10.1128/AAC.01088-15)
16. Fayed AS, Youssif RM, Salama NN. Two-wavelength manipulation stability-indicating spectrophotometric methods for determination of meropenem and ertapenem: greenness consolidation and pharmaceutical product application. *Chem Pap.* 2019; 73:2723-36. DOI: [10.1007/s11696-019-00824-8](https://doi.org/10.1007/s11696-019-00824-8)
17. Mahmood AH, Mahmood HS. A new spectrophotometric approach for determination of meropenem in pharmaceutical formulation. *Rafidain J Sci.* 2023; 32:9-20. DOI: [10.33899/rjs.2023.180272](https://doi.org/10.33899/rjs.2023.180272)
18. Youssef NH, Duncan KE, Nagle DP, Savage KN, Knapp RM, McInerney MJ. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *J Microbiol Methods.* 2004; 56:339-47. DOI: [10.1016/j.mimet.2003.11.001](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.11.001)
19. Walter V, Syltatk C, Hausmann R. Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms. In: Sen R (Ed.) *Biosurfactants. Advances in Experimental Medicine and Biology.* Vol 672. New York: Springer; 2010. DOI: [10.1007/978-1-4419-5979-9_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5979-9_1)
20. Das M, Das SK, Mukherjee RK. Surface active properties of the culture filtrates of a *Micrococcus* species grown on n-alkanes and sugars. *Biores Technol.* 1998; 63:231-5. DOI: [10.1016/S0960-8524\(97\)00133-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00133-8)
21. Kämpel RT, Kümmerer K. Assessment of degradation of 18 antibiotics in the closed bottle test. *Chemosphere.* 2004; 57:505-12. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2004.06.024](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.06.024)
22. Umekar MJ, Lohiya RT, Gupta KR, Kotagale NR, Raut NS. Studies on meropenem and cefixime metal ion complexes for antibacterial activity. *Futur J Pharm Sci.* 2021; 7:233. DOI: [10.1186/s43094-021-00379-0](https://doi.org/10.1186/s43094-021-00379-0)
23. Al-Ahmad A, Daschner FD, Kümmerer K. Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of wastewater bacteria. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1999; 37:158-63. DOI: [10.1007/s002449900501](https://doi.org/10.1007/s002449900501)
24. Blumer JL. Meropenem: evaluation of a new generation carbapenem. *Int J Antimicrob Agents.* 1997; 8:73-92. DOI: [10.1016/S0924-8579\(96\)00347-0](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(96)00347-0)
25. Mendez AS, Dalomo J, Steppe M, Schapoval EE. Stability and degradation kinetics of meropenem in powder for injection and reconstituted sample. *J Pharm Biomed Anal.* 2006; 41:1363-6. DOI: [10.1016/j.jpba.2006.02.017](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.02.017)
26. Biswal D, Kaur R, Satija S, Seth A, Rath A, Kant L. The expanding spectrum of human infections caused by *Kocuria* species in pediatric patients: one-year observational, prospective hospital-based study. *Int J Infect.* 2023; 130:S64. DOI: [10.1016/j.ijid.2023.04.160](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.04.160)
27. Reis AC, Kolvenbach BA, Nunes OC, Corvini PF. Biodegradation of antibiotics: the new resistance determinants—part I. *N Biotechnol.* 2020; 54:34-51. DOI: [10.1016/j.nbt.2019.08.002](https://doi.org/10.1016/j.nbt.2019.08.002)
28. Cielecka-Piontek J, Paczkowska M, Lewandowska K, Barszcz B, Zalewski P, Garbacki P. Solid-state stability study of meropenem—solutions based on spectrophotometric analysis. *Chem Cen J.* 2013; 7:98. DOI: [10.1186/1752-153X-7-98](https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-98)

