



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

**ENTEROBACTERIAS DEL EMBALSE OLINTEPEC-MOYOTEPEC
DEL MUNICIPIO DE AYALA, EN EL ESTADO DE MORELOS**

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A:

ARISAI TAPIA PEDROZA

DIRECTOR:

M. EN M. M. ISaura QUINTANA PADILLA

JOJUTLA, MORELOS

ABRIL, 2023

AGRADECIMIENTOS

A la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero por las facilidades brindadas durante la realización de la etapa experimental del proyecto.

A la directora del proyecto M. en M. M. Isaura Quintana Padilla por su constante apoyo, consejos y orientación en la realización del proyecto.

Al M. C. Humberto Flores Bustamante y el Dr. Luis Javier Mendoza Estrada por su constante revisión, paciencia y apoyo al proyecto.

A Ana Celeste García Sariñana y Edson Amaro Rocha por estar presente en cada momento para motivarme y apoyarme.

A Jesús Mora Moyado por darme ánimos y brindarme confianza e inspiración por terminar este proyecto para un mejor futuro.

DEDICATORIAS

A mis padres Antonia y Esteban, por su constante apoyo y consejos para que lograra salir adelante, y cada vez fuera una mejor persona. Ellos son los principales responsables en que pudiera culminar uno de mis grandes sueños, pasando por constantes desvelos, con la finalidad de que no me faltara nada.

A todas las personas y amigos que estuvieron cerca de mí, motivándome en los momentos difíciles, y así, pudiera adquirir más confianza en mí mismo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1. Cuerpos de agua.....	2
2.2. Contaminación del agua.....	3
2.2.1. Efecto de la contaminación del agua.....	6
2.3. Métodos de evaluación de contaminación del agua.....	7
2.4. Indicadores microbiológicos del agua.....	12
2.5. Características de las enterobacterias.....	13
2.5.1. Hábitat de las enterobacterias.....	14
2.5.2. Antígenos de las enterobacterias.....	14
2.5.3. Metabolismo de las enterobacterias.....	16
3. Grupos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae.....	17
3.1 Enterobacterias de importancia clínica.....	19
4. JUSTIFICACIÓN.....	20
5. OBJETIVOS.....	21
5.1. General.....	21
5.2. Particulares.....	21
6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	21

7. HIPÓTESIS.....	21
8. METODOLOGÍA.....	22
8.1 Área de estudio.....	22
8.1.1. Hidrografía y clima del área de estudio.....	23
8.2. Puntos de muestreo.....	25
8.2.1.Toma, transporte y conservación de la muestra.....	26
8.2.2. Aislamiento microbiano.....	28
8.3. Identificación fenotípica.....	28
8.3.1. Morfología de colonias.....	30
8.3.2. Pruebas bioquímicas.....	31
9. RESULTADOS.....	35
10. DISCUSIÓN.....	42
11. CONCLUSIÓN.....	43
12. LITERATURA CITADA	54
13. ANEXOS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

	Pagina
Tabla 1. Parámetros de calidad del agua.....	9
Tabla 2. Parámetros biológicos.....	9
Tabla 3. Enterobacterias de importancia clínica.....	18
Tabla 4. Causa de atención hospitalaria por infección de enterobacterias más frecuentes, enumeradas por orden de prevalencia.....	19
Tabla 5. Ubicación de los puntos de muestreo.....	25
Tabla 6. Pruebas bioquímicas del segundo muestreo.....	33
Tabla 7. Pruebas bioquímicas del tercer muestreo.....	34
Tabla 8. Enterobacterias Identificadas.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pagina
Figura 1. Ubicación del Municipio de Ayala.....	22
Figura 2. Toma, transporte y conservación de la muestra.....	26
Figura 3. Aislamiento de enterobacterias en placa con medios selectivos.....	27
Figura 4. Características físicas de las colonias bacterianas.....	29
Figura 5. Interpretación de las pruebas bioquímicas.....	31

ABREVIATURAS

ICA	Índice de calidad del agua
OMS	Organización Mundial de la Salud
ACH	Agua para consumo humano
LPS	Lipopolisacáridos
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
PM	Punto de muestreo
PSI	Libra de fuerza por pulgada cuadrada
EESJ	Escuela de Estudios Superiores del Jicarero
PM 1: 10^{-1}	Punto de Muestreo 1: dilución 10^{-1}
PM 2: 10^{-3}	Punto de Muestreo 2: dilución 10^{-3}
PM 3: 10^{-2}	Punto de Muestreo 3: dilución 10^{-2}
PM 4: 10^{-4}	Punto de Muestreo 4: dilución 10^{-4}
PM 5: 10^{-3}	Punto de Muestreo 5: dilución 10^{-3}
PM 6: 10^{-4}	Punto de Muestreo 6: dilución 10^{-4}
PM 7: 10^{-3}	Punto de Muestreo 7: dilución 10^{-3}
EMB	Agar Eosina Azul de Metilo
XLD	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato
SS	Agar Salmonella Shigella
ICC	Agar Infusión Cerebro corazón

MH	Agar Mueller Hinton
CT	Caldo Triptosa
CL	Caldo Lactosado
CVB	Caldo Verde Brillante
SIM	Movilidad- Indol- Sulfuro de hidrogeno
MIO	Movilidad- Indol- Ornitina
SH ₂	Ácido sulfhídrico
ID	Inoculación Directa
PM 2: MH-CT (SS)	Punto de Muestreo 2: Mueller Hinton- Caldo Triptosa en Agar (<i>Salmonella Shigella</i>)
PM 2: MH-CT (EMB)	Punto de Muestreo 2: Mueller Hinton- Caldo Triptosa en Agar (Eosina azul de metilo)
PM 7: MH-CT (SS)	Punto de muestreo 7: Mueller Hinton- Caldo Triptosa en agar (<i>Salmonella Shigella</i>)
PM 2: 10 ⁻³ (EMB)	Punto de Muestreo 2: dilución 10 ⁻³ en Agar (Eosina Azul de Metilo)
PM 3: 10 ⁻² (EMB)	Punto de Muestreo 3: dilución 10 ⁻² en Agar (Eosina Azul de Metilo)
PM 4: 10 ⁻⁴ (EMB y SS)	Punto de Muestreo 4: dilución 10 ⁻⁴ en Agar (Eosina Azul de Metilo y <i>Salmonella Shigella</i>)
PM 5: 10 ⁻³ (SS)	Punto de Muestreo 5: dilución 10 ⁻³ en Agar (<i>Salmonella Shigella</i>)
PM 6: 10 ⁻⁴ (EMB)	Punto de Muestreo 6: dilución 10 ⁻⁴ en Agar (Eosina Azul de Metilo)

RESUMEN

La contaminación de cuerpos de agua por microorganismos es una problemática actual en salud pública, y los principales microorganismos responsables de estas afectaciones son las enterobacterias. Por lo que el presente estudio se enfocó en la identificación de enterobacterias bioindicadoras de contaminación en el embalse Olintepepec-Moyotepec del municipio de Ayala en el estado de Morelos; durante el periodo de septiembre del 2019 a febrero del 2020.

Se identificaron un total de seis especies bioindicadoras de contaminación; cinco pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella sonnei*) y una proteobacteria (*Pseudomonas aeruginosa*). La especie más representativa fue *Escherichia coli*. Siendo el punto de muestreo 4, perteneciente al poblado de Olintepepec, donde se registró la mayor diversidad de especies.

De acuerdo con los resultados podemos concluir una problemática sanitaria en el embalse, ya que, las especies reportadas representan un riesgo para la salud de humanos, animales y ciertos cultivos vegetales de importancia económica.

Palabras clave: Ayala, contaminación, especies, embalse, identificación, Morelos, Moyotepec, Olintepepec, Salud pública

ABSTRACT

The contamination of water bodies by microorganisms is a current problem in public health, and the main microorganisms responsible for these effects are enterobacteria. Therefore, the present study focused on the identification of bioindicator enterobacteria of contamination in the Olin-tepec-Moyotepec reservoir in the municipality of Ayala in the state of Morelos; during the period from September 2019 to February 2020.

A total of six bioindicator species of contamination were identified; five belonging to the Enterobacteriaceae family, (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella sonnei*) and one proteobacteria (*Pseudomonas aeruginosa*). The most representative species was *Escherichia coli*. Being sampling point 4, belonging to the town of Olin-tepec, where the greatest diversity of species was recorded.

According to the results we can conclude a health problem in the reservoir, since the reported species represent a risk to the health of humans, animals and certain economically important vegetable crops.

Keywords: Ayala, contamination, species, damming, identification, Morelos, Moyotepec, Olin-tepec, public health

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso muy importante para el sustento de la vida en el planeta, ya que, todos los seres vivos dependen de ella para poder llevar a cabo la mayoría de sus funciones biológicas. Los seres humanos no solo la consumen, sino también la emplean para diferentes actividades. En las últimas décadas la demanda de este vital líquido ha aumentado, al igual que su contaminación, siendo más susceptibles los cuerpos de agua superficiales y subterráneos (Auge, 2006; Ordoñez, 2011; Gil, *et al.* 2012).

La contaminación del agua destaca como uno de los principales problemas ambientales, así mismo, es una fuente de trasmisión de diversas enfermedades, principalmente, gastrointestinales y generalmente algunas de estas infecciones son provocadas por bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae.

Existen bacterias que no solo afectan específicamente al hombre, si no también, a otros organismos como plantas y animales, que de igual manera actúan como vectores biológicos, debido a estos enigmas, se han establecido indicadores microbiológicos que ayudan a determinar la presencia de patógenos en los ambientes acuosos, para evitar algún inconveniente sanitario en el futuro, y una de las principales bacterias consideradas como potencial bioindicador es *Escherichia coli* (Vázquez, *et al.* 2006; Mora, 2006; Barrera, *et al.* 2013; Ríos, *et al.* 2017), también se pueden encontrar en el ser humano, comportándose como agentes oportunistas, y en el suelo.

Dentro del área clínica destacan los géneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, también consideradas como indicadores de contaminación (Puerta y Mateos, 2010). Estas bacterias se logran identificar por distintos métodos, tales como, los moleculares, proteómicos, y la identificación fenotípica, este último es el método más empleado (Bou, *et al.* 2011).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Cuerpos de agua

El 2,5% del agua del planeta es agua dulce, que se puede encontrar en la naturaleza como aguas superficiales (ríos, lagos, lagunas, estanques), aguas superficiales continentales, dando referencia a caudales de agua dulce con corriente o estancadas, encontradas en distintos continentes sobre la superficie terrestre, los glaciares, la nieve y el hielo de los cascos polares componen el 80%, las aguas subterráneas de difícil acceso solo representan el 19% (Bastidas, 2007; Fernández, 2012).

De acuerdo con las necesidades que se requieran, los manantiales son manipulados por el hombre para un mayor aprovechamiento. En algunos casos, a partir de estos, se forman embalses, para un mayor almacenamiento de agua, y así, emplearla para las distintas actividades antropogénicas (Ordoñez, 2011; Fernández, 2012).

Los embalses interferidos por el hombre son conocidos como embalses antrópicos, estos se originan por la construcción de una represa que ocasiona el cierre del cauce de un río. No existe una clasificación definida para el tamaño de los embalses, la mayoría de las normas, cita como volumen grande al que supera los 100.000 m³. Por otro lado, también, pueden surgir de forma natural ya sea por derrumbes en una sección de un río o arroyo (Sandoval, 2018).

En el caso del agua dulce, accesible tanto para consumo humano y actividades antropogénicas, representa el 1%, estas son aguas superficiales, como, lagos (52%), y humedales (38%) (Fernández, 2012).

2.2 Contaminación del agua

La contaminación del agua se comprende como aquella acción de introducir algún material en el vital líquido que altera su calidad y composición química. Este es uno de los principales problemas ambientales en la actualidad, debido a la importancia biológica que representa, y su aumento con el paso del tiempo (Guadarrama, *et al.* 2016). La Organización Mundial de la Salud y otros organismos, definen la calidad del agua como las condiciones en las que se encuentra, tomando en cuenta las características físico-químicas y microbiológicas, en relación con su estado natural, los efectos humanos y usos posibles (Torres, *et al.* 2009; Baeza, 2016).

Dentro de los principales contaminantes se encuentran: las aguas residuales urbanas e industriales sin un tratamiento previo, incluyendo aquellas aguas empleadas en prácticas agrícolas deficientes, la contaminación atmosférica, las actividades agropecuarias, el exceso de bombeo de aguas subterráneas, la minería y otras industrias de extracción, la destrucción de zonas pantanosas, todas estas contribuyen al deterioro del recurso hídrico alterando su composición química y microbiológica. Los efectos de los contaminantes del agua varían, desde la destrucción de ecosistemas acuáticos, generación de diversas enfermedades gastrointestinales, debido a la alta concentración de agentes microbianos en el recurso hídrico, afectando a varios cultivos, riesgo de infecciones crónicas en el hombre debido a la alta contaminación química, pérdida de la capacidad productiva en suelos regados por el proceso de salinización, pérdida de suelos por erosión (Fernández, 2012).

2.2.1 Efecto de la contaminación del agua

Hay microorganismos que, al encontrarse en el recurso hídrico, pasan a los cultivos, de importancia económica, generando algún tipo de fitopatología, ocasionando una disminución en la producción de cultivos, baja calidad de los productos, menor remuneración económica para los agricultores, pérdida en la exportación de

productos debido al incumplimiento de estándares de calidad y se genera un aumento en gastos de tiempo y dinero en el control de enfermedades y en la recuperación del suelo. Los enteropatógenos bacterianos más comunes asociados con frutas y verduras son *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* y *Escherichia coli* (Corrales, et al. 2018).

La patogenicidad en las plantas depende de factores intrínsecos y extrínsecos que determinan la capacidad de los patógenos entéricos para unirse y proliferar en la filósfera de las plantas, por ejemplo, la disponibilidad de nutrientes, la radiación UV, la competencia, los compuestos tóxicos liberados por la planta y otros microorganismos, la desecación, al igual que los factores ambientales. Sin embargo, los factores más importantes que limitan el desarrollo y supervivencia de los microorganismos en la superficie de las plantas son la temperatura, la humedad y la radiación (Aruscavage, et al. 2006). Los patógenos sobrevivientes podrían internalizarse en el tejido o incorporarse en biopelículas, algunos patógenos se eliminan con los procedimientos habituales de lavado, pero una porción significativa de estos persiste y proliferan e incluso los desinfectantes muestran deficiencias para eliminarlos (Iturriaga, et al. 2007).

Esto ocasiona brotes epidemiológicos por enfermedades transmitidas por alimentos ETA's, debido al uso incorrecto del agua para riego, contaminación cruzada durante prácticas de cosecha, proceso de lavado de vegetales después de la cosecha y manipulación de alimentos en empaque, embalaje, transporte y vida de anaquel. Los principales géneros y especies son *Vibrio sp.*, *Campylobacter sp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, esta última es la principal precursora de ETA's en animales y humanos quien presenta impacto epidemiológico en el mundo por los efectos en la salud pública (Berrocal, et al. 2023).

La producción animal afectada para consumo humano, genera grandes pérdidas económicas. Estos suelen convertirse en vectores biológicos junto con las plantas

en la transmisión de enfermedades microbianas. Un ejemplo es la avicultura, destacando las salmonelas como los principales agentes patógenos, como las especies *Salmonella gallinarum*, *Salmonella pullorum*, *Salmonella infantis*, *Salmonella saintpaul*, *Salmonella typhimurium*, así como, *Escherichia coli*, infectando el aparato respiratorio, además llegan a provocar un mal desarrollo de los individuos debido a la alta concentración de patógenos (Guillot, 1988).

En los seres humanos, los problemas gastrointestinales son muy comunes y frecuentes en niños menores de cinco años, presentando enfermedades diarreicas asociadas al consumo de agua o alimentos contaminados con materia fecal, convirtiéndose en la primera causa de muerte en México y en el mundo. Los episodios de diarrea a repetición en los primeros dos años de vida se correlacionan con menor neurodesarrollo, bajo rendimiento escolar y salarios menos remunerados en la edad adulta. Debido a que las enterobacterias forman parte de estas infecciones gastrointestinales, los laboratorios clínicos se han basado en la identificación de las especies más frecuentes como *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia* y *Yersinia*. Los síntomas de una infección gastrointestinal se pueden presentar en cualquier época del año, principalmente en temporada de calor, ya que, hay un mayor riesgo de adquirirlas (Bofill, *et al.* 2005; Hernández, *et al.* 2011; Riveros y Ochoa, 2015).

En el 2001, México, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos a nivel nacional, siendo los estados mayormente afectados: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, y el Distrito Federal. En el 2003, se realizó un estudio gubernamental, dando a conocer 4, 556 muertes ocasionadas por problemas gastrointestinales. Para el 2008, el Seguro Social brindó 2 millones 188 consultas por enfermedades gastrointestinales, siendo los estados con mayor incidencia: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero, y Oaxaca. Donde la bacteria más frecuente en los problemas gastrointestinales era *Salmonella spp.*, aislando los serotipos: *typhimurium*, *enteritidis*, *derby*, *agona* y *anatum*. Los estados donde hubo mayor incidencia fueron: Tabasco, Chiapas, Coahuila, Sinaloa, y Veracruz, y las

entidades federativas con menor incidencia fueron: Durango, Hidalgo, México, San Luís Potosí, y Tlaxcala. Por otro lado, se encuentra la shigelosis, presente en los climas tropicales y templados, tanto en México, como en países en vía de desarrollo, la más común es *Shigella flexneri*, y *Shigella sonnei* en los países industrializados (Hernández, *et al.* 2011).

2.3 Métodos de evaluación de contaminación del agua

Existen diversos procedimientos de identificación bacteriana, uno de los principales es mediante métodos tradicionales, basados en las características fenotípicas observables de las bacterias, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas. Durante el proceso de identificación destacan las características macroscópicas: morfología y hemolisis (Bou, *et al.* 2011). El cultivo, cuando es factible, continúa siendo el método diagnóstico más común; permitiendo el adecuado aislamiento e identificación bacteriana, además de pruebas de sensibilidad de antimicrobianos y facilita la aplicación de marcadores epidemiológicos (Fernández, *et al.* 2010).

En el caso de las pruebas bioquímicas se toma en cuenta los siguientes elementos: 1) la identificación preliminar con lectura inmediata como la catalasa y oxidasa; 2) otras pruebas rápidas, como la hidrólisis del hipurato, la -galactosidasa (ONPG), las aminopeptidasas, la ureasa y el indol; 3) pruebas lentas, óxido-fermentación, reducción de nitratos, rojo de metilo, Voges-Proskauer, Agar hierro de Kligler, fermentación de azúcares, hidrólisis de la esculina, coagulasa, fenilalanina-desaminasa, DNasa, hidrólisis de la gelatina, decarboxilasas, lipasa, lecitinasa, utilización de citratos, utilización de malonato, y prueba de CAMP entre las más frecuentes, y 4) pruebas basadas en resistencia a ciertas sustancias como optoquina, bacitracina, solubilidad en bilis, y crecimiento en caldo hipersalino (Bou, *et al.* 2011).

Debido a la ausencia de similitud entre las características fenotípicas durante el aislamiento bacteriano, y las correspondientes a las cepas de la especie tipo, hacen que los métodos fenotípicos sea la identificación más probable más no definitiva. Para solucionar esos problemas presentados por los sistemas de identificación fenotípica, se han implementado métodos genotípicos de identificación bacteriana como un procedimiento complementario o alternativo (Fernández, *et al.* 2010).

Otros estudios empleados para el análisis cuantitativo de bacterias indicadoras de contaminación en muestras de agua, son el recuento directo de microorganismos cultivables por siembra de la muestra sobre un medio de cultivo agarizado, a diferencia del recuento indirecto el cual se basa en cálculos estadísticos después de sembrar diluciones seriadas de la muestra en medios de cultivos líquidos específicos, en este proceso al cabo de una incubación adecuada, se considera, los números de cultivo “positivos” y “negativos” (López y Torres, 2006; Muñoz, *et al.* 2016).

2.4 Indicadores microbiológicos del agua

Debido a la necesidad de encontrar un método para dar a conocer la calidad del agua accesible a la población, se ha desarrollado un sistema estimativo de calidad del agua, que requirió la medición física de los parámetros de contaminación y el uso de una escala estandarizada de medición para expresar la relación entre la existencia de varios contaminantes del agua y su impacto en sus diferentes usos, este sistema se denomina Índice de Calidad del Agua (ICA) y se encarga de definir el grado de contaminación existente en los diferentes medios acuosos (SEMARNAT, 2008).

En 1984 la OMS estableció las primeras guías para poder evaluar la contaminación del agua, y tiene la finalidad de establecer los fundamentos científicos, para, determinar valores guía en aspectos físico-químicos, microbiológicos y biológicos, de manera que cada país adopte medidas de acuerdo a sus condiciones

socioeconómicos, culturales, geográficas, y avances tecnológicos, estableciendo normas para evaluar la calidad del agua para consumo humano (ACH). Dentro de los parámetros biológicos, existen diferentes grupos de patógenos que pueden ser transmitidos por el agua (bacteriano, viral, parasitario y micótico), no hay un microorganismo único que se constituya un indicador ideal de contaminación del agua, debido a esto se han realizado cambios constantes de los valores microbiológicos para la evaluación de la calidad del ACH, como la eliminación del grupo coliforme total para la evaluación microbiológica del ACH, ratificando al grupo coliforme fecal principalmente *Escherichia coli* como uno de los principales indicadores. Un avance notable en estas guías es la incorporación de otros parámetros microbiológicos como *Pseudomona aeruginosa* y el recuento de bacterias heterotróficas en el sector hospitalario (Silva, *et al.* 2004; Mora, 2006).

En la tabla 1 se especifican los parámetros físicos y químicos tomados en cuenta por las normas mexicanas para poder evaluar el estado de calidad que se encuentre, la concentración de estos parámetros en el recurso hídrico serán diferentes acorde al uso que se le dé, ya sea para consumo humano o actividades antropogénicas. Por otro lado, en la tabla 2 se puede apreciar los principales parámetros microbiológicos tomados en cuenta como riesgo hacia la población en grandes concentraciones, recalcando lo antes mencionado.

Tabla 1. Parámetros de calidad del agua (Subdirección General de Administración del Agua, 2014 y Santana, 2020).

Parámetros físicos	Temperatura
	Color
	Contenido de solidos suspendidos totales
	Turbidez
Parámetros químicos	Demanda bioquímica de Oxígeno
	Demanda química de Oxígeno
	Nitrógeno
	Fosforo
	Aluminio
	Hierro
	Manganeso
	Cadmio
	Cobre
	Plomo
	Mercurio
	Zinc
	Níquel
	Cromo

Tabla 2. Parámetros biológicos (Diario Oficial de la federación, 2022).

Parámetros	Límite permisible	Unidades
	<1.1 ó No detectable	NMP/100 mL
<i>E. coli</i> o Coliformes termotolerantes	<1	UFC/100 mL
	Ausencia	Ausencia o Presencia/100mL
<i>Giardia lamblia</i>	Ausencia	Quistes/20L

Debido al gran riesgo que representan estos microorganismos en el medio acuoso, realiza la importancia de su monitoreo de calidad, independientemente de la función que cumpla.

Una de las actividades que representa un serio problema ambiental, es el uso de aguas residuales en el sector agrícola. México ocupa el segundo lugar en el mundo en el riego con aguas tratadas y no tratadas, sólo superado por Chile y China, respectivamente. Para posibilitar sus usos la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-001-SEMARNAT-1996, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, con el objeto de proteger su calidad. Esta actividad influye en la propagación de diversas enfermedades gastrointestinales, debido al mal manejo y supervisión que se tiene (Diakite, *et al.* 2013; Subdirección General de Administración del Agua, 2014).

Los indicadores microbiológicos, determinan la existencia de patógenos, y permiten comparar sus reacciones a cambios de pH y temperatura o aplicación de medios físicos o químicos de desinfección, con la ventaja de ser fácilmente cultivables/identificables y económicamente factibles. Estas bacterias requieren la identificación y cuantificación por índices de diversidad, ajustados a intervalos que califican el grado de contaminación del agua, y aunque la información microbiológica obtenida a partir de su análisis no reemplaza los análisis fisicoquímicos, si reduce costos y aporta información en el monitoreo de la calidad del agua (Vázquez, *et al.* 2006).

Los indicadores microbiológicos deben cumplir ciertas características para ser establecidos como tal, por ejemplo, debe ser un constituyente normal de la microbiota intestinal de individuos sanos, estar presente de forma exclusiva en las heces de animales homeotermos y cuando los microorganismos patógenos lo están, presentarse en número elevado, incapaz de reproducirse fuera del tracto gastrointestinal de animales homeotérmicos, tienen que estar ausentes en agua no contaminada, deben sobrevivir en el agua más tiempo y ser igual o más resistente a factores externos que los patógenos, sin ser patógenos, no deben reproducirse en animales poiquilotermos y no debe ser patógenos. Otra de sus características relevantes es ser de económico, fácil, y rápido aislamiento, cuantificación, e

identificación, en lo posible deben tener criterios comunes internacionalmente, estar asociados a aguas residuales, distribuidos al azar en las muestras y ser resistentes a la inhibición de su crecimiento por otras especies (Arcos, *et al.* 2005).

Generalmente se considera como indicador microbiológico de la calidad del agua a bacterias que forman parte del microbiota intestinal que contaminan el recurso hídrico, un ejemplo son: *Bacteroides fragilis*, bacterias mesófilas, coliformes totales, y fecales (termotolerantes), *Escherichia coli* y estreptococos fecales, algunas especies de origen animal (generalmente de explotaciones pecuarias) que, representan un alto potencial zoonótico, estreptococos fecales y protozoarios parásitos como *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium spp.*, que tienen una mayor resistencia a los procesos de tratamiento y desinfección del agua para consumo humano (Kim, *et al.* 2014).

Dentro de las bacterias que se han aislado del recurso hídrico son: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Gallionella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Moraxella*, y *Acinetobacter*, también consideradas como indicadoras de contaminación. Sin embargo, la familia Enterobacteriaceae cumple con las características de potencial bioindicador de contaminación del agua, ya que tiene la capacidad de sobrevivir y reproducirse, a pesar del estrés fisiológico que presenta el medio acuoso. Esta capacidad indica que su hallazgo está asociado con infecciones recientes o con presencia de materia orgánica y condiciones de pH, humedad y temperatura que facilitan su reproducción y sobrevivencia, en esto influye las distintas estaciones del año (Ríos, *et al.* 2017).

En tiempos secos, el suelo acumula muchos contaminantes, esto afecta gravemente los recursos hídricos cuando llega la temporada de lluvias, ya que se generan escorrentías arrastrando todos los contaminantes sobre la superficie y conducidos a diferentes medios acuosos. Los efectos negativos sobre el medio receptor, dependerán de la intensidad de las lluvias. Existen diversos contaminantes, que al estar presente en las escorrentías, pueden alterar las

propiedades del agua, afectando la biodiversidad de esta. Los contaminantes más comunes son: sedimentos, sustancias con demanda de oxígeno, nutrientes o bioestimulantes, metales pesados e indicadores biológicos como: coliformes fecales o totales, bacterias, como la *salmonella* o el *costridium* u otras más peligrosas como la *vibrio comma*, ocasionando alteraciones en la salud en animales y personas y pueden crear epidemias (Ugarte, 2012).

Las características que poseen estas bacterias, las diferencian sobre otros organismos, como la metodología de muestreo estandarizado y muy bien definido para obtener una respuesta rápida a cambios ambientales como la contaminación. Son indicadores de contaminación fecal a corto plazo por descarga de desechos, al igual que indicadores de efectividad de programas de control (Vázquez, *et al.* 2006).

En esta familia los géneros más representativos son: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Edwarsiella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* y *Citrobacter*. Las especies de los géneros *Enterobacter* y *Klebsiella* también se les puede encontrar colonizando superficies interiores de las tuberías de agua y tanques de almacenamiento, formando biopelículas en presencia de nutrientes, temperaturas cálidas, bajas concentraciones de desinfectantes y tiempos largos de almacenamiento (Ríos, *et al.* 2017).

Las zonas en vías de desarrollo son las mayormente afectadas, ya que carecen de acceso de agua dulce salubre, debido a la falta de instalaciones de saneamiento, ocasionando que las enfermedades puedan propagarse con gran rapidez. Esto sucede cuando las excretas de portadores de organismos infecciosos son arrastradas hasta los manantiales de agua dulce, la propagación de estos organismos dependerá de la cantidad de excremento humano y animal que éste contenga (Larrea, *et al.* 2013).

2.5 Características de las enterobacterias

Las enterobacterias se caracterizan por ser microorganismos Gram negativos, son consideradas como agentes saprofitos, aerobias no formadoras de esporas y pueden desarrollarse en anaerobiosis (anaerobias facultativas) (Puerta y Mateos, 2010), poseen una membrana citoplasmática de doble capa de fosfolípidos, permitiendo el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas, dispone de una cubierta de peptidoglicano que la rodea, y una compleja membrana externa que consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen lipopolisacáridos (LPS) en la parte más externa, es un importante factor de virulencia de estas bacterias, lipoproteínas (que están fijadas al peptidoglucano), proteínas porinas multiméricas (facilitan el paso de diversas sustancias, incluidos los antibióticos betalactámicos) y otras proteínas de la membrana externa. Entre estas proteínas hay algunas organelos complejos que irradian hacia el exterior: los flagelos, estructuras que se utilizan para la locomoción y que provienen de una estructura basal localizada en la membrana interna, las fimbrias (o pili comunes), con importante función como adhesinas a las mucosas y los pili sexuales, estructuras presentes en las bacterias que contienen plásmidos conjugativos y que las bacterias utilizan para mediar la transferencia conjugativa de ADN del plásmido (Koneman, *et al.* 1991).

Algunas enterobacterias han logrado adaptarse al ser humano llegándose a considerar como patógenos primarios, que son aquellas que pueden causar enfermedades infecciosas en personas sanas, generalmente proviene de una fuente exógena adquirida por contagio y la capacidad patógena depende de los factores de virulencia de la bacteria, ejemplos de este grupo son: *Shigella spp*, varias serotipo o tipos de *Salmonella*, *Yersinia pestis* (Farriñas y Martínez, 2013). Son muy importantes en el desarrollo del sistema inmunitario del huésped, pero cuando se cuenta con un sistema inmunocomprometido estas pueden comportarse como patógenos oportunistas generando ciertas infecciones (Magne, *et al.* 2005).

2.5.1 Hábitat de las enterobacterias

Las enterobacterias son consideradas como agentes ubicuos, ya que, pueden encontrarse en todos los ambientes, como el suelo y el agua, esta última considerada como unas de las principales fuentes de diseminación y reservorio de estos patógenos. Y debido a esta gran capacidad que tienen de coexistir en todos los ambientes, es casi imposible que no se encuentren en contacto con humanos. (Farriñas y Martínez, 2013).

En los cuerpos de agua se les puede encontrar en mayor abundancia en la capa superficial, así como en los sedimentos del fondo, por lo que, sigue siendo el principal riesgo sanitario, ya que supone la incorporación de microorganismos patógenos, provocando enfermedades en la salud humana. Debido a esto, el control sanitario es muy importante, para mantener un grado de salud adecuado en la población (Ramos, *et al.* 2008).

2.5.2 Antígenos de las enterobacterias

Las enterobacterias poseen una estructura antigénica muy compleja que se encuentran en el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina que es una molécula glicolípida anclada a la membrana externa, que cubre 3/4 partes de la superficie bacteriana, activa el sistema inmune humano, al constituir el antígeno superficial más importante de este tipo de bacterias (Mayeux, 1997; Raetz, 2002).

2.5.3 Metabolismo de las enterobacterias

Estas bacterias suelen clasificarse mediante la determinación de la presencia o ausencia de distintas enzimas codificadas por el material genético del cromosoma bacteriano. Estas enzimas guían el metabolismo de las bacterias por una de las diversas vías que pueden detectarse a través de medios especiales empleados en las técnicas de cultivo *in vitro*. Los sustratos donde estas enzimas actúan se

incorporan al medio de cultivo, junto con un sistema indicador que ayuda a determinar la declinación del sustrato o la presencia de productos metabólicos específicos. Todos los miembros pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae cumplen con tres características: metabolizan la glucosa mediante fermentación, carecen de actividad de citocromo oxidasa a excepción de Plesiomonas y reducen los nitratos a nitritos (Koneman, *et al.* 1991).

Estas fermentan la glucosa por la vía anaerobia de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), produciendo una fermentación ácida mixta y color amarillo en el medio, si se llega a emplear rojo de fenol como indicador de pH, también se puede llegar a presenciar la producción de gas o sin ella. Por otro lado, la fermentación de la lactosa es aún más compleja que la glucosa. Para que una bacteria utilice la lactosa deben estar presentes dos enzimas: β -galactosido permeasa, que permite la trans migración de β -galactosidos, tales como, la lactosa a través de la pared celular bacteriana, y la β -galactosidasa requerida para hidrolizar la unión β -galactosido una vez que el disacárido ha ingresado en la célula. Dado que la fermentación de lactosa continúa finalmente con la degradación de glucosa por la vía EMP, se deduce que cualquier organismo incapaz de utilizar glucosa no puede formar ácido a partir de lactosa, un organismo no fermentador de lactosa es aquel que carece de β -galactosidasa o no puede atacar la glucosa (Koneman, *et al.* 1991).

Muchas especies de bacterias poseen la capacidad de liberar enzimas que se encargan de descarboxilar aminoácidos específicos del medio, logrando liberar aminas de reacción alcalina y dióxido de carbono como productos, en el caso de las enterobacterias, la lisina, ornitina y arginina, son los aminoácidos empleados cotidianamente para su identificación, produciendo las siguientes aminas específicas: lisina-cadaverina, ornitina-putrescina y arginina-citrulina (Koneman, *et al.* 1991; Moeller, 1995).

Algunos productos derivados del metabolismo se emplean para diferenciar especies de enterobacterias, por ejemplo, las bacterias que poseen la enzima triptofanasa

son capaces de degradar el triptófano, con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco (NH_3). El indol se puede observar en un medio apropiado, originándose un anillo de color rojo en la superficie, luego de añadir un reactivo que contiene p-dimetilaminobenzaldehído (reactivo de Ehrlich o de Kovac). Otras enterobacterias tienen la capacidad para liberar azufre de aminoácidos y otros compuestos que lo contienen, en la forma de gas ácido sulfhídrico (H_2S), constituye una característica importante para su identificación. Con base a estos productos metabólicos se realizan pruebas bioquímicas, por ejemplo, (SIM) Movilidad, producción de Indol y Sulfuro de hidrógeno, es un medio semisólido, sensible para la detección de sulfuro de hidrógeno (H_2S), debido a su consistencia, ausencia de hidratos de carbono que inhiban la formación de H_2S , y el uso de hierro peptonado como indicador. El KLIGER, es un medio de cultivo que se basa en la fermentación de hidratos de carbono y la producción de ácido sulfhídrico, y (MIO) Movilidad Indol Ornitina, también evalúa la actividad enzimática ornitina descarboxilasa (Koneman, *et al.* 1991; Puerta y Mateos, 2010).

Todas las enterobacterias, con excepción de ciertos biotipos de *Enterobacter agglomerans* y del género *Erwinia*, reducen nitratos a nitritos. La reducción de nitratos funciona para confirmar la clasificación correcta de un microorganismo desconocido o como una ayuda para decidir la identificación de una especie bacteriana. Los organismos que reducen nitratos tienen la capacidad de obtener oxígeno de los nitratos para formar nitritos y otros productos de reducción. La enzima nitrato reductasa, también denominada como complejo nitrataasa, solo se logra activar en condiciones anaerobias, los medios semisólidos acrecientan el desarrollo de muchas especies bacterianas y proveen el ambiente anaerobio necesario para la activación de la enzima. La mayoría de los organismos capaces de reducir nitratos, lo hacen dentro de las 24 horas; algunos pueden producir cantidades detectables en 8 a 12 horas (Koneman, *et al.* 1991; Puerta y Mateos, 2010).

3. Grupos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae

La familia Enterobacteriaceae se divide en cuatro grupos: el grupo I se encuentra conformado por *Escherichia coli*, *Shigella*, responsables de casos de disentería bacteriana, y *Salmonella*, siendo casi todas patógenas de humanos y animales de sangre caliente, como: *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* de mayor riesgo. En el grupo II, constituido por bacterias que realizan la fermentación butanodiolica, como: *Enterobacter*, *Klebsiella*, destacando la especie *K. pneumoniae*, *Serratia*, y el género *Erwinia* que es patógeno de plantas. En el grupo III, se encuentra *Proteus providencia* (la mayoría son de vida libre), aunque hay algún *Proteus* patógeno. En caso de ser patógenas provoca infecciones del tracto urinario y del riñón. Son muy rápidas moviéndose y crecen en oleadas (en placa de cultivo se pueden ver colonias como círculos concéntricos). El grupo IV, conformado por el género *Yersinia*, con siete especies, de las cuales tres son patógenas muy importantes de humanos y animales; *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, y *Y. pestis*, que fue responsable de la peste negra, su reservorio se mantiene en poblaciones de roedores, transmitiéndose por picaduras de las pulgas. En general provoca dos tipos de infecciones: peste bubónica y la peste neumónica (Madigan, *et al.* 2015).

3.1 Enterobacterias de importancia clínica

En los humanos, la mayoría de enterobacterias provocan trastornos intestinales como diarreas, y pese a los avances en las últimas décadas en el manejo y prevención de este padecimiento (uso de suero de baja osmolaridad, uso de zinc, desarrollo de nuevas vacunas), esta sigue siendo la tercera causa de muerte en menores de 5 años (Riveros y Ochoa, 2015).

Es importante conocer la biología de los géneros más relevantes del grupo de enterobacterias, pues estos microorganismos difieren considerablemente en su patogenicidad. Este grupo destaca por las diversas infecciones ocasionadas frecuentemente, ya que, su contacto es muy habitual con las personas, por lo tanto, se han enfocado en su estudio para tratar con las enfermedades que provocan

(tabla 1) (Puerta y Mateos, 2010). La identificación exacta de estas bacterias es indispensable, tanto desde el punto de vista clínico como epidemiológico (Javier, 1981).

Tabla 3. Enterobacterias de importancia clínica (Puerta y Mateos, 2010).

Genero	Especie
<i>Escherichia</i>	<i>coli, alberti, alvei</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae, oxytoca, granulomatis</i>
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>aerogenes, cloacae, aglomerans, gergoviae, sakazakii</i>
<i>Serratia</i>	<i>marcencens</i>
<i>Hafnia</i>	<i>alves</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii, amalonaticus, diversus</i>
<i>Yersinia</i>	<i>pestis, enterocolitica, pseudotuberculosis</i>
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis, vulgaris</i>
<i>Providencia</i>	<i>rettgeri, stuartii</i>
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>
<i>Shigella</i>	<i>dysenterii, flexneri, sonnei, boydei</i>
<i>Plesiomonas</i>	<i>shigelloides</i>
<i>Edwarsiella</i>	<i>tarda</i>
<i>Ewingella</i>	<i>americana</i>

Debido a la gran resistencia que han adquirido por el uso de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas, como potentes inmunosupresores, estancias hospitalarias prolongadas, entre otros, se han convertido en una problemática de infecciones intrahospitalarias. En los individuos hospitalizados o inmunodeprimidos (incluyendo los pacientes alcohólicos y diabéticos), en especial en los pacientes que reciben tratamiento antibiótico, hay registros de infecciones por enterobacterias, colonizando otros sitios además del tracto digestivo (tabla 2) (Puerta y Mateos, 2010).

Tabla 4. Causa de atención hospitalaria por infección de enterobacterias más frecuentes, enumeradas por orden de prevalencia (Puerta, y Mateos, 2010).

Localización	Enterobacterias más frecuentes
Sistema nervioso central	<i>Escherichia</i>
Tracto respiratorio inferior	<i>Klebsiella, Enterobacter, Escherichia</i>
Torrente sanguíneo	<i>Escherichia, Klebsiella, Enterobacter</i>
Tracto digestivo	<i>Salmonella, Shigella, Escherichia Yersinia</i>
Tracto urinario	<i>Escherichia, Proteus, Klebsiella, Morganella</i>

Las enterobacterias que son empleadas como bioindicadoras de contaminación en cuerpos de agua (*Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Salmonella, y Shigella*). La bacteria *Pseudomona auroginosa* no pertenece a la familia Enterobacteriaceae, pero destaca como importante bioindicador de contaminación en cuerpos de agua, y se relaciona con infecciones y enfermedades graves intrahospitalarias, afectando casi todo el organismo humano (Ríos, et al. 2017).

4. JUSTIFICACIÓN

El embalse Olin-tepec-Moyotepec, proviene de un manantial ubicado en el balneario el Axocochetl del municipio de Ayala, su agua es de origen subterráneo, y es aprovechado por la comunidad, para la agricultura, fines recreativos y uso doméstico. Actualmente se han registrado cambios en su calidad debido a contaminación derivada del incremento poblacional y las actividades humanas cercanas al cuerpo de agua. De acuerdo con la Comisión Nacional del Agua, (2020) en el embalse natural del Axocochetl no se ha realizado ninguna evaluación microbiológica (Anexo 1), por lo tanto, se desconoce la diversidad del microbiota que puede albergar dicho cuerpo de agua.

Debido al gran impacto ambiental que sufren los cuerpos de agua, es casi imposible restaurarlos, además de que es una de las fuentes que propicia a la diseminación de microorganismos (inocuos y patógenos) y cumple con múltiples usos, destacando la presencia de enterobacterias como contaminantes y causantes de diversas enfermedades, por lo tanto, se hace necesario tener un registro acerca de la diversidad bacteriana presente en el cuerpo de agua durante todo su transecto por la colonia Olin-tepec-Moyotepec, para generar estrategias de prevención, y así, evitar complicaciones a la salud humana, por el uso de este recurso.

5. OBJETIVOS

5.1 General:

Determinar las enterobacterias presentes en el embalse Olintepepec-Moyotepec, del municipio de Ayala, del Estado de Morelos.

5.2 Particulares:

- Identificar hasta el nivel taxonómico posible las enterobacterias aisladas en los puntos de muestreo establecidos en el área de estudio.
- Comparar la diversidad de especies de enterobacterias presentes en los distintos puntos de muestreo establecidos en el área de estudio y por época del año.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles serán las enterobacterias presentes en el embalse natural que transecta por las colonias Olintepepec y Moyotepec del municipio de Ayala del Estado de Morelos, y en donde habrá mayor diversidad de enterobacterias?

7. HIPÓTESIS

Se encontrarán especies con interés en salud pública pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, y su abundancia aumentara en los puntos de muestreo donde haya mayor asentamiento humano.

8. METODOLOGÍA

8.1 Área de estudio

El Municipio de Ayala, se encuentra ubicado en la parte central del Estado, localizado entre los 18° 46' minutos de latitud norte y los 98° 59' de longitud oeste, a una altura de 1,220 metros sobre el nivel del mar. El municipio está dividido en 28 comunidades y una Cabecera Municipal, en donde se llevó a cabo este trabajo fue en la comunidad Moyotepec (20) y Olintepec (22) figura 1.

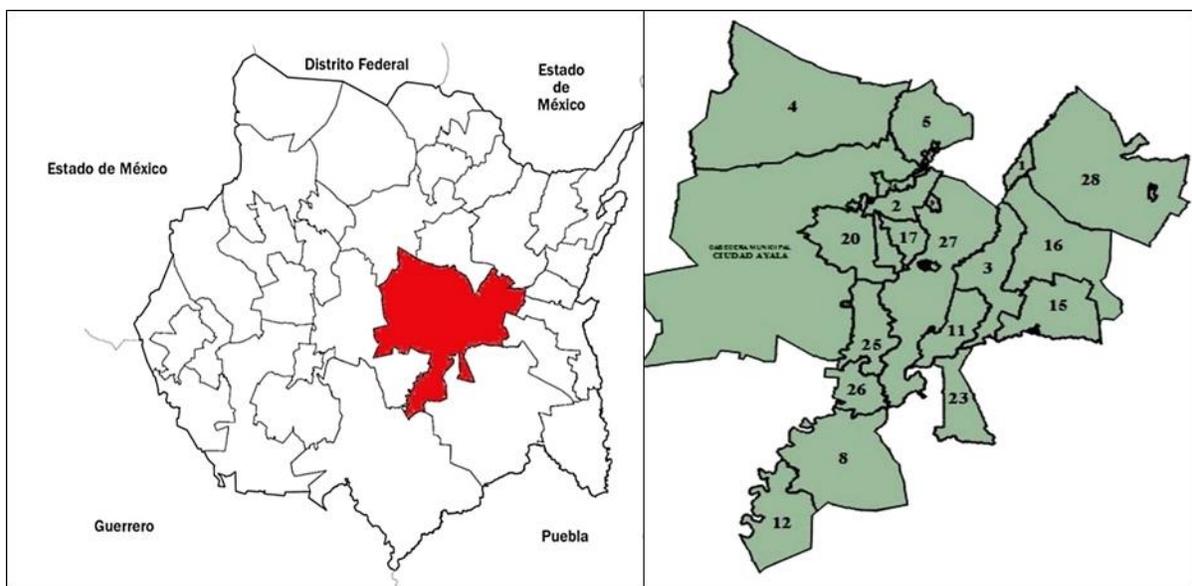


Figura 1. Ubicación del Municipio de Ayala (columna izquierda) y división de las comunidades del Municipio de Ayala del Estado de Morelos (columna derecha) (Consejería Jurídica. Plan Municipal de Desarrollo 2016-2018 de Ayala, Morelos, 2016).

8.1.1 Hidrografía y clima del área de estudio

De acuerdo con la (Consejería Jurídica. Plan Municipal de Desarrollo 2016-2018 de Ayala, Morelos (2016), el municipio se beneficia con la afluencia de la micro Cuenca del Río Cuautla, del Río Ayala, que se favorece con los escurrimientos de las barrancas, El Hospital y Calderón; estos ríos se juntan al este de la cabecera y

siguen su curso hacia el Sur, pasando por las colonias de Olintepéc y Abelardo L. Rodríguez, reuniéndose al Sur de Tenextepango y al Oeste de la col. Buena Vista, con los afluentes de la Barranca de Ahuehueyo, posteriormente al Norte de la comunidad de juntas los escurrimientos de la Barranca La Cuera y de la Barranca de Palo Blanco, y es en el Poblado de Tecomalco en donde juntan con el Río Cuautla y Este al Río Balsas. Se cuenta también con pequeños manantiales como son Agua Azul en el Ejido de Apatlaco, El Axococheatl, El Colibrí, Agua Limpia del Ejido de Ayala y el Platanal, escurrimientos que atienden con agua potable la comunidad de San Juan Ahuehueyo, además, de unos pequeños vasos o bordos de agua en, Anenecuilco, Jaloxtoc, Huitzililla, El Salitre, Moyotepec, y una presa en Tlayecac y Palo Blanco.

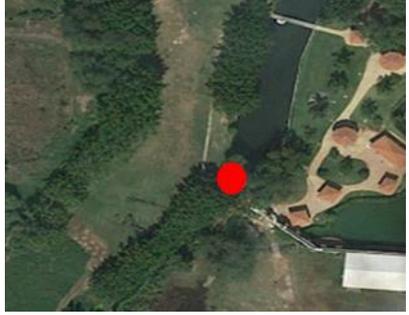
El clima en este municipio es cálido subhúmedo, este estrato climático, se localiza en alturas sobre el nivel del mar menor a 1,400 metros, su precipitación y temperatura media anual es de 800 mm y 24 °C respectivamente, el viento tiene una dirección de noreste a suroeste. Información de 53 estaciones meteorológicas del campo experimental de Zacatepec, Morelos (Consejería Jurídica. Plan Municipal de Desarrollo 2016-2018 de Ayala, Morelos, 2016).

8.2 Puntos de muestreo

Se establecieron siete puntos de muestreo (PM) a lo largo del embalse Moyotepec-Olintepéc (tabla 3), considerando sitios donde existe un mayor uso de agua. En los puntos de muestreo seleccionados, se tomaron muestras homogéneas.

Los primeros 3 PM pertenecen a una zona exclusiva para uso recreativo, ubicados dentro del balneario Axococheatl y es donde se encuentra el manantial, los 4 PM restantes se ubican en las colonias Olintepéc y Moyotepec, donde intervienen actividades antropogénicas, principalmente de tipo agrícolas, uso recreativo y personal.

Tabla 5. Ubicación de los puntos de muestreo (PM) (punto color rojo).

Puntos de muestreo	
	<p style="text-align: center;">PM: 1</p> <p>Ubicación: balneario Axocochoetl, Villa de Ayala Latitud: 18°47'17.21"N, Longitud: 98°59'07.45"O Elevación: 1183 metros Origen: Ojo de agua Fecha y hora: 22/09/2019 - 10:35 am, 06/10/2019 – 10:20 am, 24/02/2020 – 10:40 am</p>
	<p style="text-align: center;">PM: 2</p> <p>Ubicación: balneario Axocochoetl, Villa de Ayala Latitud: 18°45'14.13"N, Longitud: 98°59'09.56" O Elevación: 1180 metros Origen: 1er. Puente Fecha y hora: 22/09/2019 - 10:52 am, 06/10/2019 – 10:29 am, 24/02/2020- 10:51 am</p>
	<p style="text-align: center;">PM: 3</p> <p>Ubicación: balneario Axocochoetl, Villa de Ayala Latitud: 18°45'12.04" N, Longitud: 98°59'10.05" O Elevación: 1179 metros Origen: 2 do. Puente Fecha y hora: 22/09/2019 - 11:01 am, 06/10/2019- 10:40 am, 24/02/2020 – 10 59 am</p>
	<p style="text-align: center;">PM: 4</p> <p>Ubicación: Colonia Olin-tepec Latitud: 18°44'25.32"N, Longitud: 98°59'30.73"O Elevación: 1172 metros Origen: Canal Olin-tepec Fecha y hora: 22/09/2019 - 11:32 am, 06/10/2019 – 11:05 am, 24/02/2020 – 11:35 am</p>
	<p style="text-align: center;">PM: 5</p> <p>Ubicación: Colonia Olin-tepec Latitud: 18°44'23.35" N, Longitud: 98°59'31.64"O Elevación: 1174 metros Origen: Canal Olin-tepec Fecha y hora: 06/10/2019 – 11:20 am, 24/02/2020 – 11:50 am</p>



PM: 6

Ubicación: Colonia Moyotepec

Latitud: 18°44'02.66"N Longitud: 98°59'47.44"O

Elevación: 1169 metros

Origen: Canal Moyotepec

Fecha y hora: 22/09/2019 – 11:54 am, 06/10/2019 – 11: 45 am, 24/02/2020 – 12:05 pm



PM: 7

Ubicación: Colonia Moyotepec

Latitud: 18°45'59.66"N Longitud: 98°59'49.13"O

Elevación: 1167 metros

Origen: Canal Moyotepec

Fecha y hora: 06/10/2019 - 11:56 am, 24/02/2020 – 12:15pm

8.2.1 Toma, transporte y conservación de la muestra

Las muestras de agua se tomaron de acuerdo con la norma mexicana NMX-AA-042-SCFI-2015, se utilizaron frascos de vidrio estériles (en autoclave a 121°C por 20 minutos a una presión de 14 PSI) con tapa rosca de metal, con una capacidad de un litro.

Se tomó el frasco del cuello y se sumergió en el agua, quedando la boca del frasco en sentido contrario al flujo de la corriente del agua, se procedió a abrirlo debajo del agua evitando que salga al exterior, tomando un volumen aproximado de 850 ml, y se cerró de manera inmediata dentro del agua (figura 2). Los frascos se etiquetaron con los siguientes datos: número de muestra, PM, ubicación, Fecha y hora.

Una vez tomada la muestra y con el propósito de disminuir su tasa metabólica y evitar que mueran, se transportaron en una hielera a 10°C al laboratorio ubicado en la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero (EESJ), en el Municipio de Jojutla del Estado de Morelos, donde se realizó la identificación de las bacterias, posteriormente se metieron a refrigeración manteniendo la misma temperatura.



Figura 2. Toma, transporte y conservación de la muestra.

8.2.2 Aislamiento microbiano

Tanto el cultivo como la incubación de las enterobacterias se realizó de acuerdo con la NMX- AA- 042- SCFI- 2015, que describe la utilización de medios de cultivo, enriquecidos: como agar infusión cerebro corazón (ICC), agar Mueller Hinton (MH), caldo triptosa (CT), y Caldo Lactosado (CL)), y medios selectivos (agar eosina azul de metilo (EMB), agar salmonella, shigella (SS), agar Xilosa, lisina, desoxicolato (XLD) y caldo verde brillante (CVB)).

Antes de aislar las enterobacterias, las muestras de agua y medios de cultivo se dejaron aclimatar, durante 5 minutos a temperatura ambiente, agitando cada una de las muestras para homogenizar y realizar el aislamiento en un medio estéril, mediante la campana de flujo laminar.

Se llevó a cabo inoculación directa (ID), y de resiembra en medios enriquecidos y selectivos, por medio de un estriado cruzado, para posteriormente incubarlas, en los medios solidos de ID, se vertieron 500 micro litros de muestra, para los tubos de ensayo con medios líquidos enriquecidos y selectivos, se tomó 2 ml de muestra homogenizada.

La primera resiembra se llevó a cabo en medios enriquecidos obtenidas de los tubos de ensayo, posteriormente se seleccionaron colonias para inocularlas en medios selectivos tanto de los medios de inoculación directa y de resiembra en medios enriquecidos. Las primeras observaciones de los medios inoculados fueron después de 24 horas posteriormente se dejó transcurrir las 48 horas, figura 3.

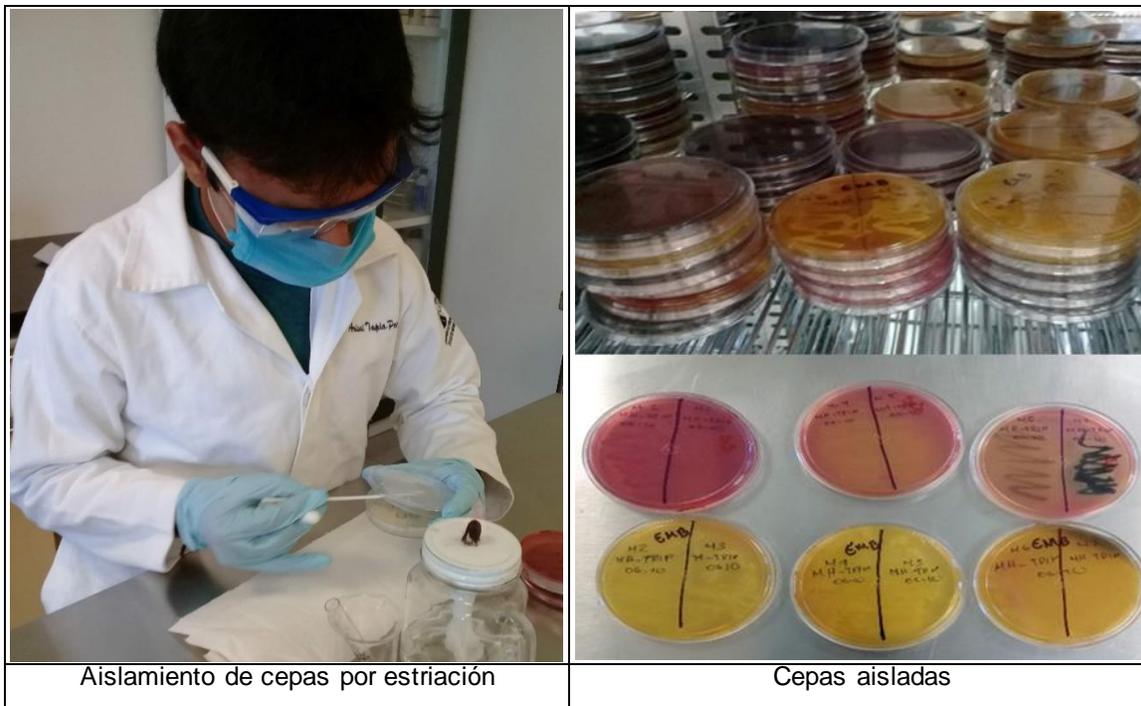


Figura 3. Aislamiento de enterobacterias en placa con medios selectivos.

En el M 3, se realizó la técnica número más probable, haciendo diluciones mediante la ID en tubos de ensayo con medio enriquecido y campana de Durham, 4 diluciones y 1 de control por cada PM (7 puntos), dando un total de 35 diluciones, el de control se empleó para verificar que no hubiera contaminación en el medio. En las 4 diluciones realizadas por cada PM, se vertió 9 ml del medio enriquecido y posteriormente se tomó 1ml de muestra homogenizada para inocular, completando 10 ml. Se tomó 1 ml de este y se vertió en el siguiente tubo ensayo, este proceso se siguió realizando hasta llegar a la dilución 10^{-4} para después llevar a cabo su incubación. Pasando el lapso de tiempo, se observó si había turbidez y formación

de gas en las campanas de Durham, para así, realizar la identificación de coliformes mediante el reactivo de Ehrlich, agregando 5 gotas en cada una de las diluciones.

Se hicieron dos inoculaciones de resiembra, la primera se seleccionó la dilución 10^{-1} de cada punto de muestreo (PM), en la segunda se tomaron en cuenta las diluciones con mayor turbiedad (PM1: 10^{-1} , PM2: 10^{-3} , PM3: 10^{-2} , PM4: 10^{-4} , PM5: 10^{-3} , PM6: 10^{-4} y PM7: 10^{-3}), una vez seleccionadas se inocularon en medios selectivos.

Los cultivos líquidos (CT, y CVB) se incubaron 1 hora a 35-37 °C, los cultivos sólidos (EMB, XLD, SS, ICC y MH) al igual que el medio líquido CL se incubaron de 24-48 horas bajo la misma temperatura (35-37°C).

8.3 Identificación fenotípica

8.3.1 Morfología de colonias

Para llevar a cabo el análisis morfológico macroscópico de los cultivos donde hubo crecimiento bacteriano, se sostuvo la placa con una mano en distintas direcciones y ángulos con iluminación brillante directa, de modo que la luz sea reflejada y así observar la superficie del agar. Se debe estudiar con cuidado cada placa debido a que las bacterias aisladas inicialmente a partir de muestras constituyen a menudo cultivos mixtos y puede haber una variedad de colonias.

En este análisis se tomó en cuenta las siguientes características, figura 4: forma de la colonia, elevación, borde, superficie, aspecto (húmedo, seco), color (rosa, blanca, verde, negro), propiedades ópticas presentes (brillante, opaca, translúcida, transparente), consistencia (butirosa, viscosa, membranosa, quebradiza, suave, dura) (Victoria, 2013).

Estas características varían de acuerdo al medio de cultivo en el que se desarrollen, y también, algunos medios de cultivo llegan a presentar un viraje al color normal que presentaban, el cambio de color del medio de cultivo depende del pH que se

presente, esto como resultado de los productos metabólicos producidos por las bacterias en los diversos medios de cultivo, una vez analizada la morfología macroscópica se analiza la morfología microscópica por medio de la tinción de Gram (Victoria, 2013; Farías 2015).

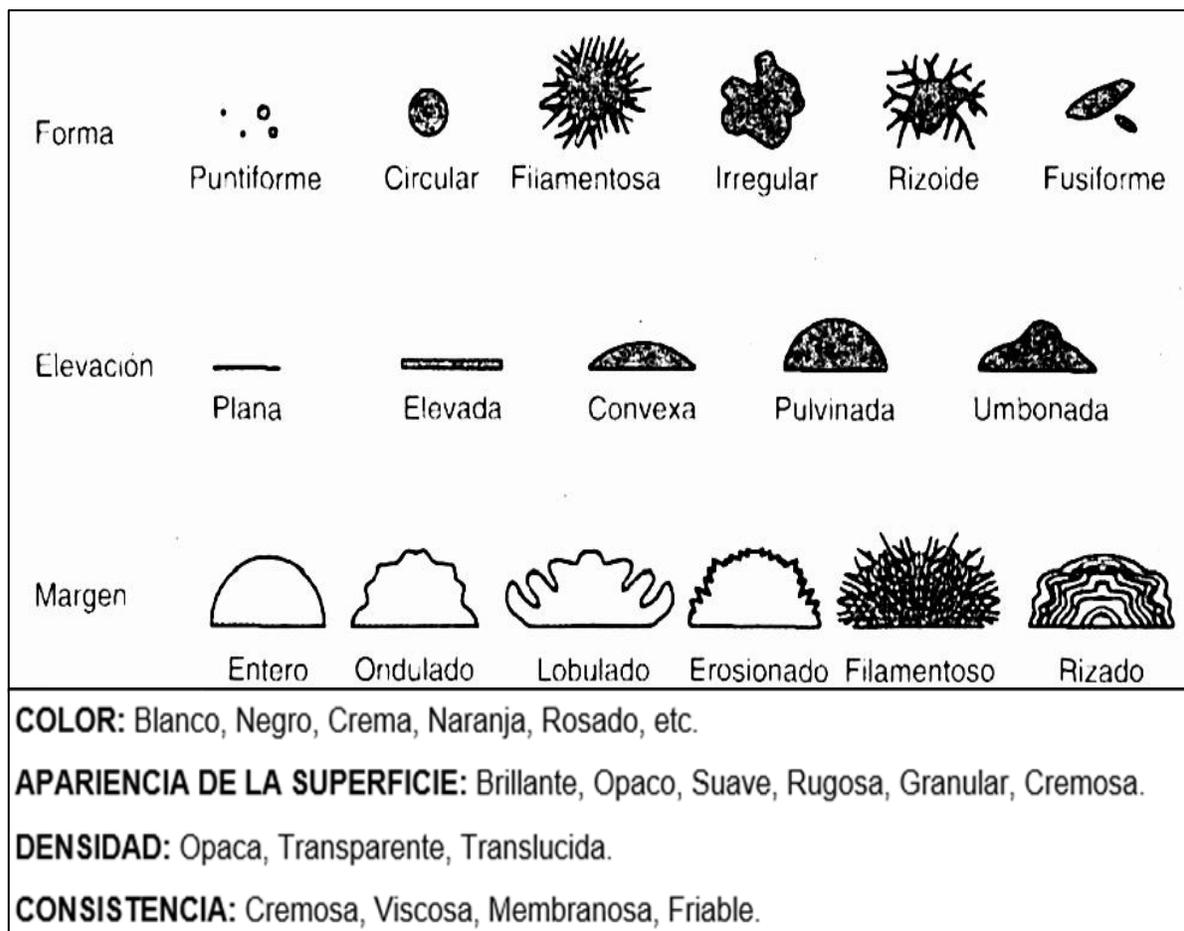


Figura 4. Características físicas de las colonias bacterianas (Victoria, 2013).

En el microscopio se observaron células con una coloración roja o rosada, indicando que son organismos Gram negativos, característico de las enterobacterias. A parte de la coloración que se presenta en las bacterias durante la tinción de Gram, también se tomó en cuenta las siguientes características: la forma que presentan (cocos, bacilos, cocobacilos filamentosos, bacilos curvos). En el caso de las enterobacterias se caracterizan por ser bacilos que pueden llegarse a presentar con

una disposición, en parejas, cadenas, tétradas o racimos, variando en tamaño. Sus bordes laterales pueden variar (abultados, paralelos, cóncavos o irregulares), al igual que sus extremos, (redondeados o puntiagudos). Estas características serán distintas dependiendo de la enterobacteria presente (Fernández, *et al.* 2010).

8.3.2 Pruebas bioquímicas

A las cepas aisladas con los medios enriquecidos y selectivos se les practicaron pruebas bioquímicas SIM, MIO, y KLIGER para determinar géneros y especies.

La prueba SIM (Movilidad, Indol y producción de SH₂) proporciona como resultado positivo en movilidad, la presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra, y como resultado negativo solo se observa el crecimiento en la línea de siembra. La prueba de indol es positiva cuando en el medio se presenta un anillo en la superficie de color rojo, y negativo cuando el color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento. La producción de SH₂, se basa en la presencia de ennegrecimiento en el medio de cultivo a lo largo de la línea o en todo el medio, como resultado positivo, y negativo cuando no se presenta un cambio de color. En esta prueba se identifican enterobacterias como, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* (Koneman, *et al.* 1991; Laboratorio Britania, 2015 a).

La prueba bioquímica MIO (Ornitina, Indol y Movilidad), tanto la movilidad como la prueba de indol se interpreta igual que el SIM. En el caso de la ornitina descarboxilasa, es positivo cuando se presenta una coloración purpura y negativo con una coloración amarillenta. A veces se puede desarrollar un color violáceo en la superficie del medio. En esta prueba se identifican especies como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Enterobacter cloacae* (Koneman, *et al.* 1991; Laboratorio Britania, 2015 b).

La interpretación de resultados de la prueba KLIGER, se observa el color del medio de cultivo y la producción de gas. Si la superficie es alcalina se tornará un color rojo

(K) y la profundidad acida se presentará un color amarillo (A) esto quiere decir que el microorganismo solo fermenta glucosa. Por otro lado, si la superficie es acida y la profundidad acida se observará un color amarillo en todo el medio (AA), refiriendo que el microorganismo fermenta glucosa y lactosa. Por último, si la superficie es alcalina y la profundidad alcalina (KK), el microorganismo no es fermentador de azúcares. La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican la producción de gas. En este caso las enterobacterias más frecuentes son: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexneri* (Koneman, et al. 1991; Laboratorio Britania, 2015 c).

Las cepas fueron inoculadas en condiciones estériles por punción profunda, y se incubaron de 24 a 48 horas a una temperatura de 35-37°C. La primera observación se realizó después de 24 horas. En la figura 5, se representa la presencia o ausencia de movilidad, al igual que la producción de ornitina, SH₂ y la prueba de indol. En el caso del Kligler se muestra las características presentes de acuerdo con la fermentación de los azúcares y la presencia o ausencia de gas.

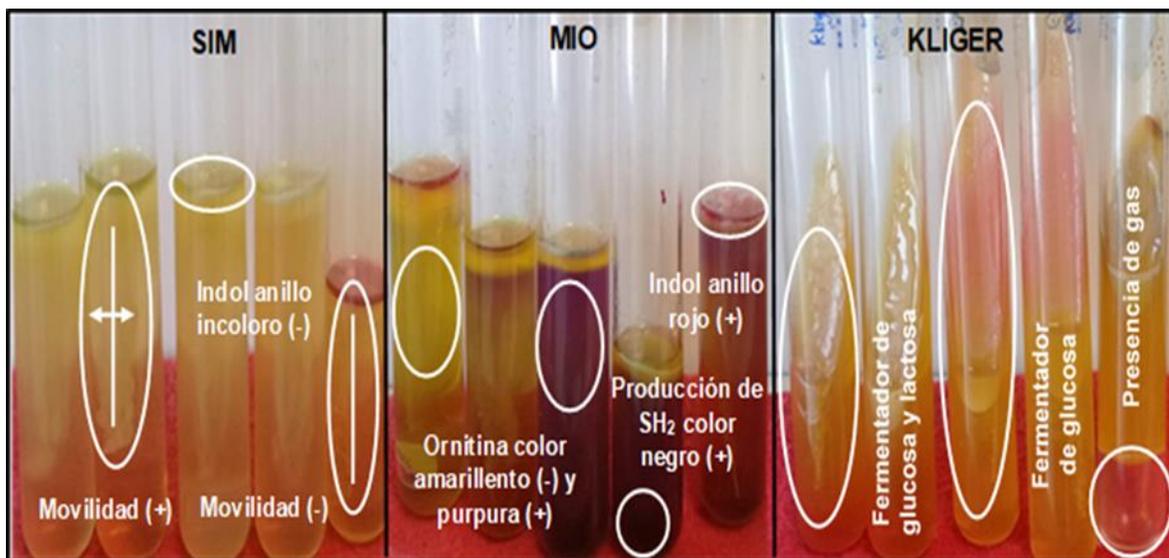


Figura 5. Interpretación de las pruebas bioquímicas.

9. RESULTADOS

Se identificaron cinco especies de enterobacterias: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* y *Shigella sonnei*, todas pertenecen al filo: Proteobacteria, clase: Gamma Proteobacteria, orden: Enterobacteriales, familia: Enterobacteriaceae. Además, se logró el reconocimiento de otra bacteria no perteneciente al mismo taxón; *Pseudomona aeruginosa*, del filo: Proteobacteria, clase: Gamma Proteobacteria, orden: Pseudomonadales, familia: Pseudomonadaceae, todas patógenas con relevancia clínica, además de ser bioindicadores de contaminación fecal.

En el primer muestreo (22/09/2019) solo se logró observar el desarrollo bacteriano en el medio enriquecido (ICC), en dos puntos: PM 4 y 5 pertenecientes a la colonia Olin-tepec y Moyotepec, posteriormente todas las especies se identificaron durante los muestreos dos y tres. De acuerdo con el análisis de las cepas bacterianas, se identificó la presencia de una sola cepa en el PM 4, mientras que en el PM 5 se distinguieron dos cepas bacterianas distintas, (anexo 3). En las resiembras realizadas en medios selectivos (EMB, SS, XLD), de las 3 colonias aisladas, no se presentó desarrollo bacteriano.

A diferencia del muestreo dos (06/10/2019), donde se aislaron bacterias a partir del pm 2, en los medios enriquecidos ICC, MH, CT de ID y en el medio selectivo CVB de ID. Al igual que en las resiembras en medios enriquecidos y selectivos ICC, MH, EMB y SS, de las cuales se seleccionaron tres cepas bacterianas representativas: PM 2: MH-CT (SS), PM 2: MH-CT (EMB), y, PM 7: MH-CT (SS), llevando a cabo su análisis macroscópico (anexo 4 y 5).

Las observaciones microscópicas por tinción de Gram, junto con las pruebas bioquímicas de las colonias seleccionadas confirmaron la presencia de: *Escherichia coli* (bacilos Gram negativos cortos con disposición en parejas o empalizadas y con extremos redondeados), *Pseudomona auroginosa* (bacilos Gram negativos cortos, rectos o ligeramente curvados, agrupados en parejas o cadenas cortas con bordes

redondos) y *Salmonella typhimurium* (bacilos Gram negativos cortos con disposición en parejas y extremos redondeados) (tabla 4).

Tabla 6. Pruebas bioquímicas del segundo muestreo (Koneman, *et al.* 1991; Koneman, *et al.* 1999; Laboratorio Britania a,b,c 2015; Lopardo, *et al.* 2016).

Muestras	Colonia 1 (SS)	Colonia 2 (SS)	Colonia 3 (EMB)
	PM 2: MH-CT	PM 7: MH-CT	PM 2: MH-CVB
Movilidad	+	+	+
Indol	+	-	-
SH ₂	-	+	-
Ornitina	+	+	+
Glucosa, Lactosa	A/A	K/A	K/K
Gas	+	-	-
Bacteria	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>

En el muestreo 3 (24/02/2020) también se presentó crecimiento bacteriano en todos los puntos de muestreo, registrando mayor turbidez y producción de gas en la campana de Durham. La presencia de coliformes fue positiva en las siguientes diluciones de los puntos de muestreo, del PM 4 al 7 fue positivo en todas las diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) con excepción del PM 3 que solo fue negativo en la dilución 10^{-4} , anexo (anexo 6).

Se seleccionó las diluciones de mayor turbiedad para las resiembras en medios selectivos (PM: 1 10^{-1} , PM: 2 10^{-3} , PM: 3 10^{-2} , PM: 4 10^{-4} , PM: 5 10^{-3} , PM: 6 10^{-4} y PM: 7 10^{-3}), presenciando desarrollo bacteriano solo en los siguientes medios de cultivo: PM: 2 10^{-3} (EMB), PM: 3 10^{-2} (EMB), PM: 4 10^{-4} (EMB y SS), PM:5 10^{-3} (SS) y PM: 6 10^{-4} (SS y EMB). Se tomaron en cuenta 5 colonias para su análisis: PM: 2 10^{-3} (EMB), PM: 3 10^{-2} (EMB), PM: 4 10^{-4} (EMB y SS) y PM: 6 10^{-4} (EMB), anexo 7 y 8.

En el caso de las pruebas bioquímicas, confirmaron la presencia de otras enterobacterias como: *Shigella sonnei*, *Klebsiella pneumoniae* y *Yersinia enterocolitica*, tabla 5.

Tabla 7. Pruebas bioquímicas del tercer muestreo (Koneman, *et al.* 1991; Koneman, *et al.* 1999; Laboratorio Britania a,b,c 2015; Lopardo, *et al.* 2016).

Muestras	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3	Colonia 4	Colonia 5
	PM: 2 10 ⁻³	PM: 3 10 ⁻²	PM: 4 10 ⁻⁴	PM: 4 10 ⁻⁴	PM: 6 10 ⁻⁴
	EMB	EMB	EMB	SS	EMB
Movilidad	-	-	-	-	+
Indol	+	-	-	-	+
SH ₂	-	-	-	-	-
Ornitina	-	-	+	+	+
Glucosa, Lactosa	A/A	A/A	K/A	K/A	A/A
Gas	+	+	-	-	+
Bacteria	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Escherichia coli</i>

Al comparar la diversidad de enterobacterias por PM, podemos apreciar que la especie *Escherichia coli* fue la más frecuente, identificada en seis puntos de muestreo, seguida por *Salmonella typhimurium*, identificada en cuatro puntos de muestreo (tabla 6). Algo muy importante de enfatizar es que *Pseudomona aeruginosa* tuvo presencia en los mismos 6 puntos de muestreo que *Escherichia coli*, a pesar de no pertenecer a la familia Enterobacteraceae, destaca en el área

clínica y como potencial bioindicador de contaminación fecal, siendo responsable de infecciones intrahospitalarias y de epidemias severas de diarreas en lactantes.

Tabla 8. Enterobacterias identificadas.

Especies	Puntos de muestreo						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	+	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Y. enterocolitica</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>S. sonnei</i>	-	+	-	+	-	-	-

- Ausencia

+ Presencia

En el punto de muestreo 1, no se presentó desarrollo bacteriano, por lo tanto, no se llegó a la identificación de enterobacterias, este punto se caracteriza por ser parte del balneario Axocochetl y la fuente donde nace el agua e incluso es ingerida por las personas.

Por otro lado, en los puntos de muestreo 2, 3, 5, 6 y 7 no se encontró gran diversidad de especies, en el caso de los puntos 2 y 3 aun pertenecientes al balneario Axocochetl, su uso es exclusivamente recreativo, a diferencia de los puntos 5 perteneciente a la colonia Olin-tepec, 6 y 7 de la colonia Moyotepec que tiene mayor uso en la agricultura.

El punto de muestreo 4 ubicado en la colonia Olin-tepec, fue el que presento más diversidad de especies (5), contemplando a *Pseudomona aeruginosa*, y es el punto más céntrico y cercano para la población, a partir de este punto de muestreo el balneario Axocochetl se encuentra más alejado, y cumple con diversos usos como: agricultura, aseo personal, de utensilios y ropa y recreativo, además de ser uno de los puntos donde se pastan e ingieren agua los animales de crianza.

10. DISCUSIÓN

Generalmente la problemática sobre la contaminación del agua se empieza a tomar en cuenta cuando se presenta algún caso de infección de gran impacto, ya sea, en la salud humana, en los cultivos o animales para consumo, dando a entender cierto desinterés por conocer el estado en el que se encuentre dicho líquido, sino hasta ver las afectaciones. Para evitar esto, es necesario llevar un adecuado monitoreo sobre el recurso hídrico, mediante indicadores de contaminación fecal, para así prevenir algún problema de salud.

De acuerdo con Buckley, *et al.* 1997 la concentración de coliformes se emplea comúnmente como un indicador bacteriológico general de la calidad del agua y como base para los estándares de calidad del agua, pero estos no son específicos del intestino humano. Los coliformes son un grupo de bacterias intestinales de animales de sangre caliente, e incluyen *Escherichia spp*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp* y *Enterobacter spp*. de las cuales en nuestro estudio nosotros registramos a *Escherichia coli* presente en la mayoría de los puntos de muestreo con excepción del PM 1 y *Klebsiella pneumoniae* presente en el PM 3, lo que nos indica que puede haber problemas en la calidad del agua transportada en este sistema.

La OMS (2017), recalca que las enterobacterias, principalmente *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Serratia spp* y *Proteus spp*, han estado involucradas en múltiples enfermedades infecciosas, tanto leves a graves, donde no solo son adquiridas mediante el contacto directo con una determinada fuente, como el agua, si no también, ha incrementado dentro de las infecciones nosocomiales, ya que, han llegado a adquirir una mayor resistencia a los antibióticos, por lo que, la OMS los señala dentro del grupo de prioridad crítica, incluyendo a *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella spp*, que da en una prioridad elevada y *Shigella spp*, en una prioridad media.

El embalse estudiado cumple con múltiples usos, principalmente: agrícolas, que es la actividad que ocasiona mayores alteraciones del flujo normal del agua (Pandey, *et al.* 2014), siguiéndole el uso recreativo, personal y ganadero (bovinos y caprinos), donde se pastorea cerca de la fuente hídrica y al mismo tiempo excretan, esto puede representar una amenaza a la salud, por la interacción que tiene la población con agua del embalse (Buckley, *et al.* 1997).

La estacionalidad es un factor importante en la presencia/ausencia de enterobacterias, hay investigaciones que relatan la importancia de la temporada lluvias, debido a que es una de las épocas donde los brotes de enfermedades son más frecuentes y es donde hay mayor presencia bacteriana en el recurso hídrico (Buckley, *et al.* 1997), ya que las excretas son transportadas a diversas fuentes de agua por las precipitaciones, ocasionando que allá una mayor diversidad de especies de enterobacterias en ese periodo (Pacheco, *et al.* 2002), factor que no pudo ser comprobado debido a la contingencia sanitaria a nivel nacional.

Durante los tres muestreos llevados a cabo, se observaron diferencias en la composición de la diversidad de especies de enterobacterias por punto de muestreo; esto puede deberse a cambios fisicoquímicos del agua debido a las actividades antropogénicas junto con las condiciones ambientales como: temperatura, disponibilidad de oxígeno, nutrientes, pH, ocasionando una variabilidad en la diversidad de especies, trabajos como los de Pacheco, *et al.* (2002) y Rojas, *et al.* (2016), también señalan la variabilidad de especies debido a factores ambientales, dando énfasis a la temporada de lluvias, donde obtuvieron una mayor identificación de enterobacterias como: *Enterobacter spp.*, *Edwardsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, incluso *Pseudomonas aeruginosa*. De las cuales se identificaron cinco especies en esta investigación (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*) y *Pseudomonas aeruginosa*, bacterias que son asociadas a actividades antropogénicas junto con la temporada de lluvias.

Escherichia coli fue muy sobresaliente en esta investigación, ya que se encontró desde el PM 2 al 7, esta enterobacteria se caracteriza por habitar en la flora microbiana que reside en el colon humano estableciendo una relación simbiótica (Vidal, *et al.* 2007) sin embargo, algunas cepas han adquirido genes que les permiten causar infecciones intestinales (Bush y Vázquez, 2020) poniendo en riesgo la vida de niños menores de dos años, debido a esto ha sido de interés en muchas investigaciones, además, está relacionada con brotes epidémicos en lugares cerrados como guarderías y hospitales. Las infecciones pueden ser moderadas a graves teniendo una mortalidad de 10-40% en países en vías de desarrollo. El período de incubación es de 3 a 24 h, y el cuadro diarreico puede ser sanguinolenta acompañada de dolor abdominal, fiebre y vómito, incluso puede llegar a invadir otras áreas del cuerpo (Farfán, *et al.* 2016). De acuerdo con la OMS 2018, esta bacteria se propaga por vía fecal-oral o contaminación cruzada durante la preparación de los alimentos. Desde su descubrimiento en 1985 por el Dr.Theodor Escherich obtuvo una gran relevancia como patógeno humano, incluso dentro de la industria alimentaria, se ha empleado como indicador de contaminación fecal en el agua y en la leche desde los primeros años de la década de 1900 hasta la actualidad (Huerta, 2020).

Por otro lado, *Klebsiella pneumoniae* encontrada en el PM 3, tiene una gran relevancia como patógeno humano, ya que, es la segunda causante de enfermedades infecciosas oportunistas, nosocomiales y comunitarias después de *E. coli*. Se le puede encontrar en la piel, mucosas y heces de pacientes hospitalizados ocasionando infecciones respiratorias y del tracto urinario. *Klebsiella spp.* es una bacteria ubicua debido a la gran adaptación que posee en diferentes nichos ecológicos, se le puede encontrar en las aguas residuales, el suelo y las plantas, el reservorio principal de esta bacteria es en la microbiota nasofaríngea y el tracto gastrointestinal (Cubero, 2015). Las infecciones causadas por este microorganismo son severas y tienen una tasa de letalidad de aproximadamente 35%, por lo que se le considera una amenaza clínica y de salud pública debido a su

gran resistencia a antibióticos (Valdés, *et al.* 2018). Mayormente son afectados los pacientes con alteraciones de las defensas orgánicas, como los ingresados en unidades de cuidados intensivos, neonatos, diabéticos, alcohólicos y pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Agencia de Servicio de Información y Noticias Científicas, 2021).

Yersinia enterocolitica se identificó en el PM 4 y fue descrita por primera vez en 1939 como causal de patología en el humano, y se caracteriza por ser de amplia distribución, cuyo reservorio natural es el suelo, agua y el tracto gastrointestinal de diversos animales, principalmente el cerdo. Se transmite a los humanos a través de la vía fecal-oral, aunque también se han descrito casos de transmisión a través de transfusiones sanguíneas, afectando principalmente a niños y adultos. Regularmente el periodo de incubación es de 3 a 7 días (Guerrero, 2013), y puede llegarse a presentar enterocolitis, ileítis terminal, linfadenitis mesentérica, septicemia entre otros cuadros extraintestinales. La enterocolitis, presenta: diarrea, fiebre de bajo grado y dolor abdominal, con presencia de leucocitos y sangre en las heces (Rodríguez, *et al.* 2000).

La presencia de *S. sonnei* en los PM 2 y 4 son de especial interés, ya que esta especie se caracteriza por causar una enfermedad aguda autolimitada caracterizada por diarrea sanguinolenta, fiebre y dolor abdominal. Las infecciones por esta especie pueden poner en peligro la vida de los niños menores de 5 años y pueden atrofiar su crecimiento. *S. sonnei* se propaga por vía fecal-oral, ya que las bacterias ingeridas pueden sobrevivir a la acidez gástrica y ser liberadas en las heces (Torraca, *et al.* 2020). Esta especie surgió de Europa y comenzó a propagarse globalmente hace relativamente poco tiempo, y las razones precisas que sustentan su aumento a nivel global no están claras, pero pueden deberse a que la omnipresente especie de ameba *Acanthamoeba castellanii* fagocita *S. sonnei* de manera eficiente y simbiótica, lo que permite que la bacteria acceda a un nicho protegido en el que puede resistir la cloración y otras condiciones ambientales adversas. Además, una fuerte presión selectiva del uso localizado de

antimicrobianos parece haber tenido un impacto dramático en la evolución de la población de la especie. Al mismo tiempo de que *S. sonnei*, muestra una capacidad excepcional para adquirir genes de resistencia antimicrobiana de bacterias comensales y patógenas (Thompson, *et al.* 2015).

En el caso de *Salmonella spp.* se caracteriza por causar infecciones en el tracto gastrointestinal, por la ingesta de alimentos o agua contaminada y en menor frecuencia, infecciones extraintestinales asociado a la inmunodepresión (Tacchini, *et al.* 2010). La OMS la ha declarado como una de las principales causas de enfermedades diarreicas a nivel global, anualmente se reportan más de 550 millones de casos (Cuenca, *et al.* 2020). Se encuentra en el intestino de personas y animales sanos, siendo las heces el principal foco de contaminación. En esta investigación se identificó la presencia de *Salmonella typhimurium* a partir del PM 4 al 7, teniendo una gran relevancia en la industria alimentaria, debido a que es la principal fuente de transmisión, poniendo en riesgo a niños menores de 5 años, personas de edad e inmunodeprimidos, ocasionando enfermedades localizadas o sistémicas, los síntomas se presentan de 6 a 72 horas después de la exposición a la bacteria. Se encuentra en todo el mundo, siendo los animales su principal reservorio (aves, ganado bovino y porcino, roedores, perros, gatos, iguanas, tortugas) además posee una gran capacidad de sobrevivir en suelos, agua, vegetales y frutas contaminadas por las heces (Alfaro, 2018).

Otra de las bacterias importantes de resaltar a pesar de no pertenecer a la familia Enterobacteraceae es *Pseudomonas aeruginosa* debido a la importancia clínica que representa. Esta bacteria empezó a ser descrita a finales del siglo XIX por Walter Migula del Instituto Karlsruhe en Alemania, se caracteriza por ser un patógeno ubicuo, oportunista y bastante persistente en el medio ambiente, encontrándose tanto en el agua como en el suelo, logrando subsistir con un requerimiento nutricional bajo y tolerando diversos medios físicos. Se considerada la quinta causa de infecciones en general a nivel mundial. De acuerdo con el sistema de vigilancia epidemiológica hospitalaria del Instituto Mexicano del Seguro Social, las infecciones

por *Pseudomona aeruginosa* en México van en aumento (Paz, *et al.* 2019). Suele encontrarse en la zona axilar y anogenital, rara vez se detecta en las heces. En hospitales se encuentra en lavamanos, soluciones antisépticas y recipientes de orina, puede llegarse a transmitirse a los pacientes por el personal sanitario principalmente en unidades de cuidados intensivos neonatales y de quemados, las infecciones pueden presentarse en diferentes áreas del cuerpo como la piel, los tejidos subcutáneos, el hueso, los oídos, los ojos, las vías urinarias, los pulmones y las válvulas cardíacas. El sitio afectado varía según la puerta de entrada y la susceptibilidad del paciente (Bush y Vázquez, 2022), estas infecciones son difíciles de erradicar por su elevada resistencia intrínseca, y la capacidad de adquirir resistencia a varios antibióticos (Ochoa, *et al.* 2013).

Pero también la agricultura se ha visto afectada por la contaminación de enterobacterias, debido al uso de aguas contaminadas para su respectivo riego, volviéndose en otro de los factores importantes de transmisión de enfermedades infecciosas gastrointestinales, esto realza más la importancia de conocer la calidad del agua de los distintos recursos hídricos, para mantener un mayor control y evitar la propagación de enfermedades.

La contaminación cruzada es otro factor importante que se debe de controlar y se llega a presentar durante la manipulación de los cultivos posteriormente a su cosecha, sin embargo, es todo un desafío prevenir la contaminación en campos o invernaderos e incluso las buenas prácticas agrícolas (BPA) no garantizan que los productos agrícolas estén libres de patógenos (Francis, *et al.* 2012).

Los productos hortícolas a campo abierto son los más susceptibles a la contaminación de patógenos por diferentes fuentes, como el suelo, la actividad de animales silvestres y domésticos que habitan cerca de los medios de cultivo y en mayor medida el uso de agua rodada procedente de afluentes naturales, pozos contaminados y de aguas residuales no tratadas. A pesar de que las aguas residuales aportan una gran cantidad de nutrientes, reduce la calidad sanitaria de

frutas y hortalizas. Incluso los invernaderos que son considerados ambientes cerrados, llegan a ser afectados por la presencia de *Salmonella spp.* Debido a esto las frutas y hortalizas frescas han llamado la atención de los investigadores por su asociación con diversos brotes de enfermedades gastrointestinales, ya que, los patógenos entéricos tienen la capacidad de unirse tenazmente a una gran variedad de semillas, raíces y hojas. Las enterobacterias catalogadas como peligrosas destacan *Escherichia coli*, aislada en lechugas y espinacas orgánicas y *Salmonella spp.* que se ha encontrado en frutos de tomate, melón, calabaza y mango, en menor medida se ha encontrado *Klebsiella spp.* en frutas y vegetales que se consumen frescos (Chavarría, *et al.* 2019).

En muchas investigaciones se ha destacado el brote de enfermedades gastrointestinales por el consumo de frutas y hortalizas frescas, causadas por *E. coli* y *Salmonella spp.* como la investigación de Hernández, *et al.* 2008, además menciona que dentro de los principales contaminantes se encuentra el agua de uso agrícola y la manipulación durante la cosecha, esto mismo recalca Habteselassie, 2010, en su investigación, también reporta que en los estomas y los bordes dañados o cortados actúan como puntos de entrada y reservorios de patógenos.

11. CONCLUSIÓN

Se identificaron un total de seis especies bioindicadoras de contaminación fecal; cinco especies de enterobacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella sonnei*) y una proteobacteria (*Pseudomona aeruginosa*) en el embalse que transecta por las colonias Olintepec y Moyotepec del Estado de Morelos.

La enterobacteria más frecuente fue *Escherichia coli*, se identificó en seis puntos de muestreo y se relacionó a las zonas más pobladas, las cuales fueron Olintepec y Moyotepec.

De acuerdo con las enterobacterias identificadas, podríamos mencionar que hay problemas de contaminación fecal en el embalse que transecta por ambas colonias, presentando una mayor diversidad de bacterias identificadas en el punto de muestreo 4 del área de estudio, ya que en este punto donde hay mayor accesibilidad y uso del recurso hídrico durante un tiempo prolongado, lo que puede representar un riesgo a la salud humana de la localidad.

12. LITERATURA CITADA

1. Auge, M. 2006. Agua subterránea, deterioro de calidad y reserva. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Edición del autor.: 1 - 11.
2. Aruscavage, D., Lee, K., Miller, S., LeJeune, J. T. 2006. Interactions affecting the proliferation and control of human pathogens on edible plants. *Journal on Food Science*. 71: R89 - R99.
3. Arcos, M., Ávila, S., Estupiñán, S. y Gómez, A. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*: 3 (4): 69 - 79.
4. Agencia de Servicio de Información y Noticias Científicas. 2021. Así es la *Klebsiella spp.* una superbacteria que resiste a los antibióticos y se contagia en los hospitales. *Revista Medicina y Salud Publica*. Obtenida: <https://medicinaysaludpublica.com/noticias/infectologia/asi-es-la-klebsiella-una-superbacteria-que-resiste-a-los-antibioticos-y-se-contagia-en-los-hospitales/9998>
Consultada: 11:44 pm.
5. Alfaro, R. 2018. Aspectos relevantes sobre *Salmonella sp* en humanos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 34 (3): 1-15.
6. Bou, G., Fernández, A., García, C., Sáez, J. A. y Valdezate, S. 2011. Enfermedades Infecciones y Microbiología Clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 29 (8): 601 - 608.
7. Bastidas, J. 2007. Nociones de Hidrografía. Consejo de Publicaciones. Serie Ciencias de la Tierra. Serie Geografía. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela: 1 – 10.

8. Bofill, S., Clemente, P., Albiñana, N., Maluquer, C., Hundesa, A. y Girones, R. 2005. Efectos sobre la salud de la contaminación de agua y alimentos por virus emergentes humanos. *Revista Española de Salud Pública*. 79 (2): 253 - 269.
9. Buckley, R., Clough, E., Warnken, W y Wild, C. 1997. Coliform bacteria in streambed sediments in a subtropical rainforest conservation reserve. *Water Research*. 32 (6): 1852 – 1856.
10. Barrera, G., Leopoldo, C., Wong, I. y Ramírez, P. 2013. La sensibilidad del grupo coliforme como indicador de la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México. *Hidrobiológica* 23 (1): 87- 88.
11. Bush, L. M. y Vázquez M. T. 2020. Infecciones por *Escherichia coli*. Manual MSD versión para profesionales.: 1-2. Obtenida: file:///C:/Users/aritp/Downloads/infecciones%20por%20escherichia.pdf Consultada: 12/08/2022 11:45 pm.
12. Baeza, E. 2016. Calidad del agua. Biblioteca del congreso nacional de Chile.: 1 – 11. Obtenida: <https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/23747/2/Calidad%20del%20Agua%20Final.pdf> Consultada: 29/03/2023 2:12 pm.
13. Berrocal, M. T., Ruiz, D., Gutiérrez, M. y Olivares, J. 2023. Comportamiento epidemiológico de *Salmonella sp.* En alimentos de origen vegetal por región intercontinental. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 14 (1): 109 – 111.
14. Corrales, L. C., Sánchez, L. C. y Quimbayo, M. E. 2018. Microorganismos potencialmente Fitopatógenos en aguas de riego proveniente de la Cuenca media del río Bogotá. *NOVA*. 16 (29):71- 89.

15. Consejería Jurídica. 2016. Plan Municipal de desarrollo 2016-2018 de Ayala, Morelos. Obtenida en: <file:///C:/Users/aritp/Desktop/PlanAyalaMorelos.pdf>. Consultada: 20/07/2019 5:00 pm.

16. Cubera, M. 2015. Epidemiología molecular, factores de virulencia y caracterización de los mecanismos de resistencia de *Klebsiella pneumoniae*. Universitat de Barcelona.: 5-10. Obtenida en: https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/392721/MCG_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Consultada: 23/07/2020 2:15 pm.

17. Cuenca, P., Montaña, L. A., Villareal, J. M. y Wiesner M. 2020. Caracterización molecular y fenotípica de aislamientos clínicos de *Salmonella Typhimurium* variante monofásica (1,4,[5],12:i:-) recuperados en Colombia. *Biomédica*. 40: 722-733.

18. Chavarria, C. Z., Gallegos, M. A., Fortis, M., Gonzalez, U., Cervantes, M. G. y Castellanos E. 2019. Presencia de enterobacterias en insumos de uso agrícola en La Comarca Lagunera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 10 (5): 1000-1007.

19. Diakite, L., Álvarez, M. E. y Coras, P. M. 2013. Evaluación de aguas residuales de la ciudad de México utilizadas para riego. *Tecnología y Ciencias del Agua*. 4 (4): 127 – 140.

20. Diario oficial de la federación. 2022. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2021, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Obtenida: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5650705&fecha=02/05/2022#gs.c.tab=0 Consultada: 13/04/2023. 11: 37 pm.

21. Fernández, A., Olmos C., García J. A. Nieto, S. y Valdezate, S. 2010. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Recomendaciones*

de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 37: 3 - 26.

22. Fariñas, M. C. y Martínez, L. 2013. Infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 31(6):402 – 403.

23. Farías, M. 2015. Fundamentos de bacteriología: atlas a color de las bacterias más comunes. (1a ed.). México, Trillas: 20 - 200 p.

24. Farfán, A. E., Ariza, S. C., Vargas, F. A. y Vargas, L. V. 2016. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Revista Chilena de Infectología*. 33(4): 438-446.

25. Francis, G. A., Gallone, A., Nychas, G. J., Sofos, J. N., Colelli, G., Amodio, M. L. y Spano, G. 2012. Factors affecting quality and safety of fresh-cut produce. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 52 (7): 595-610.

26. Guillot, J. F. 1988. Higiene, antibióticos e implantación de las enterobacterias en las aves. Universidad Autónoma de Barcelona-UAB. 490: 55 - 57.

27. Guerrero, S. B. 2013. Manual integral de diagnóstico microbiológico de *Yersinia enterocolítica*. Universidad Nacional Autónoma de México.: 2 – 5. Obtenida: file:///C:/Users/aritp/Downloads/yersinia%20enterocolitica.pdf Consultada: 25/08/2022 10:56 pm.

28. Guadarrama, R., Kido, J., Roldan, G. y Salas, M. 2016. Contaminación del agua. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*. 2 (5): 1 – 10.

29. Hernández, C., Aguilera, M. G. y Castro, G. 2011. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades infecciosas y microbiología*. 31 (4): 137-151.
30. Huerta, N. 2020. *Escherichia coli*. Una revisión bibliográfica. *Revista médica Ocronos*. Obtenida: <https://revistamedica.com/escherichia-coli-revision-bibliografica/> Consultada: 13/08/2022 12:13 am.
31. Habteselassie, M. Y., Bischoff, M., Applegate, B., Reuhs, B. y Turco, R. F. 2010. Understanding the role of agricultural practices in the potential colonization and contamination by *Escherichia coli* in the rhizospheres of fresh produce. *J Food Prot*. 73(11): 2001-9.
32. Iturriaga, M., Tamplin, M. y Escartín, F. 2007. Colonization of Tomatoes by *Salmonella Montevideo* is affected by relative and storage temperature. *Journal of Food Protection*. 70: 30 - 34.
33. Javier, C. A. 1981. Bacilos gram-negativo anotaciones de interés clínico. *Revista Médica Hondureña*. 49 (3): 105-113.
34. Kim, M., Gutiérrez, D., Schriewer, A., Rajal, V. B. y Wuertz, S. 2014. Evaluation of detachment methods for the enumeration of *Bacteroides fragilis* in sediments via propidium monoazide quantitative PCR, in comparison with *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*. *Journal Applied Microbiology*. 117: 1513 – 22.
35. Koneman, E., Dowell, V. R. y Sommers, H. 1991. Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas color. Editorial Médica panamericana. Argentina: 33 -193.
36. Koneman, E., Allen, S., Jandon, W., Schreckenberger, P. y Winn, W. 1999. Diagnóstico Microbiológico. 5ta ed. Editorial Panamericana S.A. Argentina: 40 -180.

37. López, L. y Torres, C. 2006. Estudio cuantitativo de bacterias. Trabajo practico. Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Agroindustrias: 1-3. Obtenida en: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp5.pdf>. Consultada: 25/06/2020 3:16 pm.
38. Lopardo, H., Predari, S. y Vay, C. 2016. Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: Bacterias de Importancia Clínica. *Bacteriología*. 1: 1-13.
39. Laboratorio Britania. 2015 a. SIM Medio. Britanialab. Argentina.: 1-2. Obtenida: en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a29773969edc.pdf. Consultada: 20/10/2019 4:20 pm.
40. Laboratorio britania. 2015 b. MIO Medio. Britanialab. Argentina.: 1-2. Obtenida: en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2832fb81126.pdf. Consultada: 20/10/2019 5:00 pm.
41. Laboratorio britania. 2015 c. Kliger Hierro Agar. Britanialab. Argentina.: 1-2. Obtenida: en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2827f877c82.pdf. Consultada: 20/10/2019 5:18 pm.
42. Larrea, M., Rojas, J. A., Romeu, M. M., Rojas, B., Rojas, N. M y Heydrich, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 44 (3): 24-34.
43. Mora, D. A. 2006. Evolución de las guías microbiológicas de la OMS para evaluar la calidad del agua para consumo humano: 1984-2004. *Revista Constarricense de la Salud Pública*. (29): 44-54.

44. Muñoz, J., Morales, Y. E., Baez, A., Quintero, V., Rivera, A. P. y Pérez, R. 2016. Métodos económicos para la cuantificación de microorganismos. En Instituciones de Educación Superior. La labor investigadora e innovadora en México.: 67–82 Editores asociados a la ciencia, LLC Obtenida: <https://doi.org/10.5281/zenodo.5525235> consultada: 24/10/2019.
45. Magne, F., Suau, A., Pochart, P. y Desjeux, J. F. 2005. Fecal microbial community in preterm infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 41:386-92.
46. Madigan, M. T. 2015. Brock. Biología de los microorganismos. Pearson. 14 ed: 1100: 10 – 530.
47. Mayeux, R. P. 1997. "Pathobiology of lipopolysaccharide". *Journal of Toxicology Environmental Health*. 51.: 415-435.
48. Moeller, V. 1995. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta Pathologica et Microbiologica-Scandinavica*. 36: 158-172.
49. NMX-AA-042-SCFI-2015. NORMA MEXICANA. Obtenida en: <file:///C:/Users/aritp/Desktop/nmx-aa-042-scfi-2015.pdf>. Consultada: 15/05/2019 2:40 pm.
50. Ordoñez, J. J. 2011. Cartilla técnica: aguas subterráneas-acuíferos. 1ra Edición. Sociedad Geográfica de Lima, Perú.: 6-35.
51. Organización Mundial de la Salud. 2011. Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva: 564. Obtenida: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf. Consultada: 15/03/2020 3:05 pm.

52. Organización Mundial de la Salud. 2017. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. GINEBRA. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> 27/02/2021 8:46 pm.

53. Ochoa, S. A., Lopez, F., Escalona, G., Cruz, A., Davila, L. B., Lopez, B., Jimenez, Y., Giono, S., Eslava, C., Hernandez, R. y Xicohtencatl, J. 2013. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 70 (2):138-150.

54. Puerta, A. y Mateos, F. 2010. Enterobacterias. *Medicina*. 10 (51): 3426-3431.

55. Pandey, P., Kass, P., Soupir, M., Biswas, S. y Singh, P. 2014. Contamination of water resources by pathogenic bacteria. *AMB Express*. 4 (51): 3 – 10.

56. Pacheco, J., Cabrera, S. A., Steinich, B., Frias, J., Coranado, V. y Vazquez, J. 2002. Efecto de la aplicación agrícola de la excreta porcina en la calidad del agua subterránea. *Ingeniería*. 6 (3): 7-17.

57. Paz, V. M., Mangwani, S., Martínez, A., Álvarez, D., Solano, S. G. y Vázquez, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista Chilena de Infectología*. 36 (2), 180-189.

58. Ríos, S., Agudelo, R. M. y Gutiérrez, L. A. 2017. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 35(2): 237-238.

59. Riveros, M. y Ochoa, T. 2015. Enteropatógenos de importancia en salud pública. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 32 (1): 157-159.

60. Ramos, L., Vidal, L., Vilardy, S. y Saavedra, L. 2008. Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la Bahía de Santa Marta, Caribe colombiano. Instituto de Investigaciones Tropicales, Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia. 13: 87- 98.

61. Raetz, C. y Whitfield, C. 2002. "Lipopolysaccharide endotoxins". *Annual Review Biochemistry*. 71.: 635-700.

62. Rojas, D. E., Muñoz, G., Sosa, A. y Baqueiro, I. 2016. Determinación de la calidad microbiológica del agua de la Laguna de Chapulco, Puebla. Investigación y ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. (68): 29-55.

63. Rodríguez, J., Vargas, A. y Herrera, M. L. 2000. Diarrea por *Yersinia enterocolitica* Reporte de un caso. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños*. Dr. Carlos Sáenz Herrera. 35 (1 - 2): 79 – 82.

64. Sandoval, W. 2018. Diseño de obras Hidrotécnicas. Capítulo 1: Presas y Embalses. 1ra Edición. *EDIESPE*: 1 – 19.

65. Silva, J., Ramírez, L., Alfieri, A., Rivas, G. y Sánchez, M. 2004. Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana Microbiología*. 24 (1-2):46-9.

66. SEMARNAT, Dirección General de Estadística e Información Ambiental. 2008. Indicadores de calidad del agua. Obtenida: https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/compendio_2009/compendio_2009/10.100.8.236_8080/ibi_apps/WFServlet28b9.html Consultada: 09/04/2023. 9:34 pm.

67. Subdirección General de Administración del Agua. 2014. Normas Oficiales Mexicanas. 9 – 49. Obtenida: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas_Oficiales_Mexicanas.pdf Consultada: 13/04/2023 10:47 pm.

68. Santana, M. A. 2020. Monitoreo de parámetros de calidad de agua en plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas del municipio de Tepeji del río, Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de México. 8 – 32.

69. Torraca, V., Holt, K. y Mostowy S. 2020. Trends in Microbiology, *Shigella sonnei*, Cell Press, 28 (8): 696-697.

70. Thompson, C. N., Duy, P. T. y Baker, S. 2015. The Rising Dominance of *Shigella sonnei*: An Intercontinental Shift in the Etiology of Bacillary Dysentery. *PLoS Negl Trop Dis* 9(6): 2-8.

71. Tacchini, M., Caraffini, A., Montamat, M. S., Spitale, N., Bosio, Y. y Minguez, A. 2010. Empiema causado por *Salmonella typhimurium*. *Revista chilena de enfermedades respiratorias*. 26: 91-94.

72. Torres, P., Hernán, C. y Patiño, P. J. 2009. Índices de calidad de agua en fuentes superficiales utilizadas en la producción de agua para consumo humano. Una revisión crítica. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*. 8 (15): 79 – 94.

73. Ugarte, S. (2012). Contaminación en escorrentía pluvial urbana. Aspectos generales. *Revista Ingeniería De Obras Civiles*. 1 : 20–26.

64. Vásquez, G., Castro, G., González, I., Pérez, R. y Castro T. 2006. Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua. *Contactos* (60): 41– 48.

74. Victoria, J. M. 2013. Manual de Prácticas de Laboratorio de Bacteriología y Micología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. 1 ed. 1 – 52 p.

75. Valdés, D., Sosa, J. y Sosa, R. Y. 2018. *Klebsiella pneumoniae*, un patógeno de alta prioridad para la fabricación de nuevos antibióticos. Matanzas. *Revista Médica Electrónica*. 40 (4). Obtenida: <http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/2536/3888>
Consultada: 26/08/2022.

76. Vidal, J. E., Canizález A., Gutiérrez J. y Navarro, F. 2007. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud pública de México*. 49 (5): 376-384.

13. ANEXOS

Anexo 1



Figura 5. Solicitud de información del manantial estudiado

Anexo 2. Técnica de tinción de Gram

La técnica sirve para observar características microscópicas de las células bacterianas, y diferenciarlas en bacterias Gram negativas (color rojo) y bacterias Gram positivas (color azul).

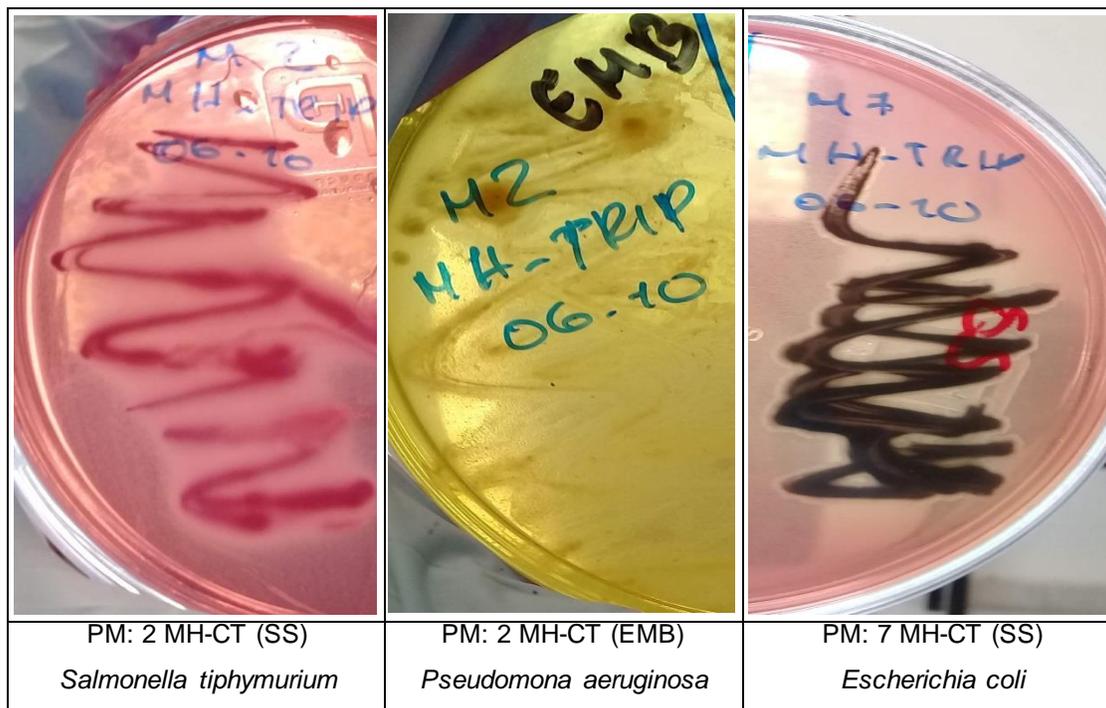
1. Se toma una pequeña muestra de las colonias seleccionadas, por medio de un asa de siembra estéril.
2. Se realiza un extendido en un porta objetos sobre una gota de agua destilada.
3. Se fija pasando por calor constantemente con ayuda de un mechero, evitando que quede muy cerca de la flama para posteriormente dejar enfriar.
4. Se agrega 1 gota de cristal violeta, durante 1 minuto, se enjuaga con agua destilada para quitar el exceso.
5. Se coloca 1 gota de yodo, durante 1 min, se enjuaga con agua destilada.
6. Se enjuaga con alcohol-cetona, y se vuelve a enjuagar con agua destilada.
7. Se coloca una gota de safranina, se enjuaga con agua destilada y se pone a secar en posición vertical.

Anexo 3.

Características morfológicas de las colonias bacterianas del primer muestreo (Farías, 2015).

Características	Colonia 1 PM 4 (ICC)	Colonia 2 PM 5 (ICC)	Colonia 3 PM 5 (ICC)
Forma	Circular	Circular	Irregular
Borde	Entero	Entero	Ondulado
Elevación	Convexa	Convexa	Convexa
Aspecto	Húmedo	Húmedo	Húmedo
Superficie	Lisa	Lisa	Lisa
Color	Blanco	Grisáceo	Blanco - amarillento
Propiedades ópticas	Brillante	Opaca	Brillante
Consistencia	Suave	Suave	Suave
Especie	<i>Salmonella</i>	<i>Pseudomona</i>	<i>Escherichia coli</i>

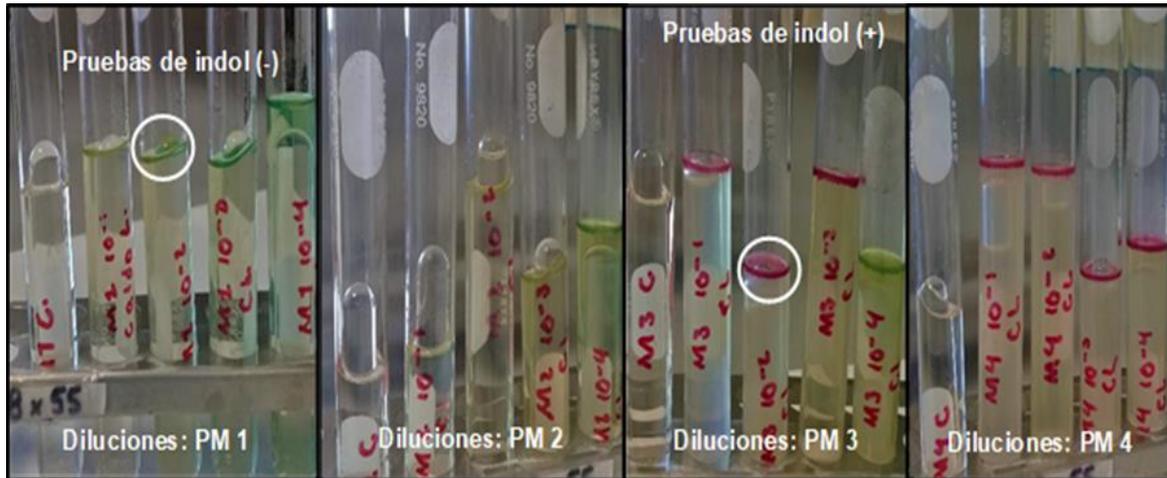
Anexo 4. Características morfológicas de las bacterias identificadas del muestreo dos.



Anexo 5. Características morfológicas de las colonias bacterianas aisladas del segundo muestreo (Farías, 2015).

Características	Colonia 1 (SS) PM 2 MH - CT	Colonia 2 (SS) PM 7 MH - CT	Colonia 3 (EMB) PM 2 MH - CVB
Forma	Circular	Circular	Circular
Borde	Irregular	Entero	Entero
Elevación	Plana	Convexa	Convexa
Aspecto	Húmedo	Húmedo	Húmedo
Superficie	Lisa	Lisa	Lisa
Color	Rosa	Negro	Blanquizco
Propiedades ópticas	Brillante	Brillante	Opaca
Consistencia	Suave	Suave	Suave
Especie	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella tiphymurium</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>

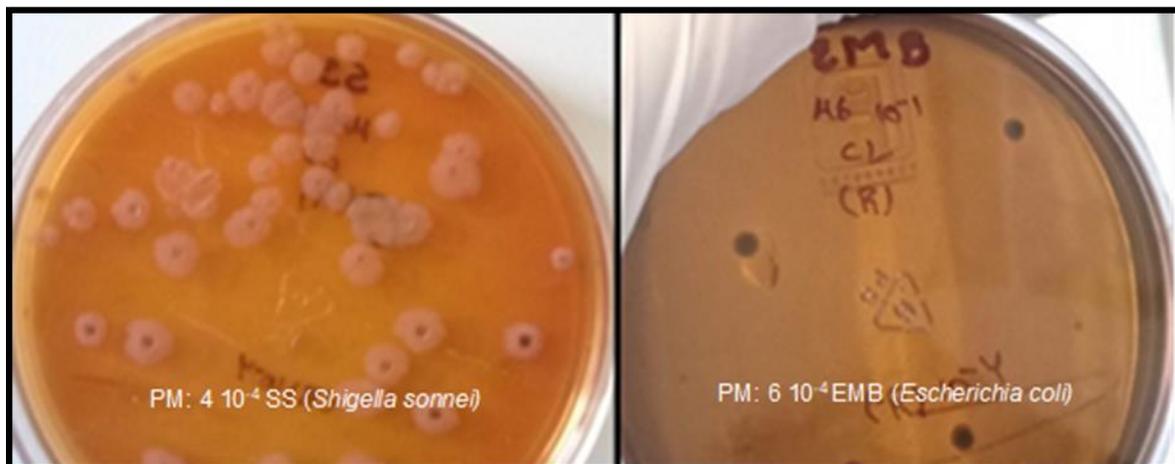
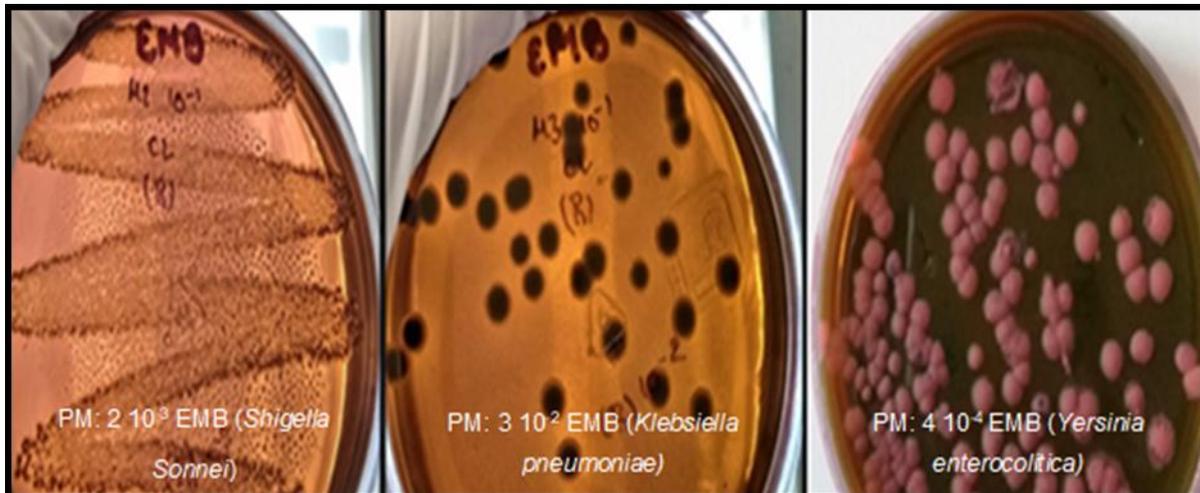
Anexo 6. Pruebas de indol positivas y negativas



Anexo 7. Características morfológicas de las colonias bacterianas aisladas del tercer muestreo (Farías, 2015).

Características	Colonia 1 PM: 2 10⁻³ EMB	Colonia 2 PM:3 10⁻² EMB	Colonia 3 PM:4 10⁻⁴ EMB	Colonia 4 PM: 4 10⁻⁴ SS	Colonia5 PM: 6 10⁻⁴ EMB
Forma	Puntiforme - Circular	Circular	Circular	Circular	Circular
Borde	Irregular	Entero	Entero	Entero	Entero
Elevación	Plana	Convexo	Convexo	Plana	Convexo
Aspecto	Húmedo	Húmedo	Húmedo	Húmedo	Húmedo
Superficie	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa
Color	Blanquizco	Negro	Rosa	Blanquizco	Negro
Propiedades ópticas	Opaca	Brillante	Opaca	Brillante	Brillante
Consistencia	Suave	Suave	Suave	Suave	Suave
Especie	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Escherichia coli</i>

Anexo 8. Colonias únicas aisladas y resembradas acuerdo a sus características morfológicas (forma, elevación, margen, color, densidad, consistencia y apariencia de la superficie).





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



DIRECCIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

Escuela de Estudios Superiores del Jicarero

Dirección

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 11 de mayo del 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Licenciado en Biología: C. Arisai Tapia Pedroza, con la modalidad de Tesis y examen profesional (Art. 6°) con el título del trabajo: ENTEROBACTERIAS DEL EMBALSE OLINTEPEC-MOYOTEPEC DEL MUNICIPIO DE AYALA, EN EL ESTADO DE MORELOS

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: _____ X _____

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

FIRMA

Dra. Ofelia Sotelo Caro _____

M. en C. Humberto Flores Bustamante _____

M. en M.M. Isaura Quintana Padilla _____

Biól. Gerardo Valois Juárez _____

Biól. Cinthia Lizbeth Segura Márquez _____



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

CINTHIA LIZBETH SEGURA MARQUEZ | Fecha: 2023-05-11 08:43:43 | Firmante

IMXYrflUPxsCfniG3nbigQC9hz8rldGOMnEOY9JHq1fVVRMsFWgDdZFBURubi1LhKdjs2G9hVwCA+zYGYIFyuluS6QB2qUsWU3G1KIZcdVA7cZqZAJRix7Mda/+57FnbF4//ixeGDUkvWq0n7uiqDla+WkHiEo2JRV+JnKVGfF/8LYb7j2JVfdtMoUf8daobZGYS47B+fVYQo3Ws4zL0qoM1KVbhMyRnJwPOPdWlxbN9wjjDOcaG6g97jUeVrcuuZt26y872DLEeUuL/am3xR9lvcX9fsUWN5XqjYJsJQj11D0x/15EFuQ9B0np6SmN0aRWkGYrflLgVsYUaLwAKw==

HUMBERTO FLORES BUSTAMANTE | Fecha: 2023-05-11 09:04:35 | Firmante

BSD+60pjzqBDgds2Urs36SB63OGJ0yV9Y7IG6gsWnfVcTSf5LU+Lzy5blzppUPp3EdWy8pimh8C4pdvtzBON3qbiiUHCaOFyZ2RjM3y5I06/j7DrIUpeCN5sWwWeGMQgtbFQGYNeKwzFO468OeRV9Cu9Gh2xlzSHF787GZJ8EJW4I7Fzu1o59Nu7ffc3PKrlfxcF2XAGI/UXfLmgt9MJd+pp95vD44TMF4Ahrato1ZkXqSprYIo6biRZtg1PdmoSijNBICXyP9U+3YHgNU/7gmqGChWOTDwZVUGSGKzpn+V4CckzSWNCXog0kqVvYvlzRVzLrt2jNOcMvAJuYghw==

ISAURA QUINTANA PADILLA | Fecha: 2023-05-11 10:11:22 | Firmante

hEsknlqxxw378Vlp9NcMpYpbqaenfQXIWsD9WN7QEPqp2DIQq5dJTVzoBSvz1tkS6d6JyrSeYclYVRPAKDVPTo8dHkgu1tw9V8cusgNntlol/KNhZPqdH2w6JANitVkdN+TT+yl6SSCWZHHyYjvKUXAL/I789tH7VaHzpplXemnv8TwpawFI+Y86pb3I75QTci81RL6CJEQxTM4g4un8y5ZICLIcOaY/KR9K+7sDRB/bqEu9H7vRbyhIMC8U8JWWRdrVF1bZoiw1fRLRqMMolm8IS82plmXr05njrZiIKG8X1D1O3N7+B5NkVLvOBzgwz3cdxCrdrOgaTM9LKw==

GERARDO VALOIS JUAREZ | Fecha: 2023-05-11 11:57:50 | Firmante

DXNECryaB2nScjfooGJ2k+bpwdTwGCs7Z2mtA97ZWZcmkyeuTjflIXDQOYuePCuHMbzMxfSJ/qcos/GF6ks9YsijquMZvZbvNX4doUr5wBrm3D2vy96kDGkyR4DY3eUUvc6HYb9PLJ27UFS9ruq72cccd14Xdfqf9xFWLANm5Vlc/ptS+Rwl4pi89oVYJQT10XQq2QRQhYBKMU8nMv4naXDpquuaZAFLaXM+FqDSyVEUpJSWJ9IPqWI83DCdJ9tS14JYP8SoTrWQnPJlcYc/Py6mNqgCGdmtklinWTFsGyVGGbtRwoHct3hmZb07EQj+dfWb05GNBk1JIUNg9DZAg==

OFELIA SOTELO CARO | Fecha: 2023-05-11 12:45:56 | Firmante

Xr34BtjagAjkPpLecxE3TTgAY+jm/UwK1TGTfwtldT0bufowwUTJRpgfFZ5jm7Mkygy0CIMBWiGpyu0gx0rKrw7/FsH2PbJLAU+hq9bgmfrv1P9OU5rsw7ShEsSG0M/c++TL4QaFKR51D+pOIUOG9eRAUehZl355ygHWuSwq4cHsbEpsTgadcd2hSDtWshJAhtLHQAIFB4z/S4XI3t1mXZ9k2YABYBUP04ZkrUQWQ1R0DJHze1RxTnO6fmYmVtrmx+nS1tvzqxO3+0aGML6GrQ/A+9j3icAKmLyC8Eyk6XKM2VuhIUFWuRDUvS6iI3cetDzcJ5+Aopsf3B9tPQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



NoonLVxTJ

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/O5BB326CySRg89JvBrYEPOqayr314fM>