



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA**



**INSTITUTO DE CIENCIAS**

**POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

*“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”*

**DISPERSION DE PATÓGENOS ESKAPE EN EL AIRE Y SU DETECCIÓN EN  
EFLUENTES CERCANOS A HOSPITALES DE LA CIUDAD DE PUEBLA**

TESIS

Que para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Presenta

**OMAR ENRIQUE AHUATZIN FLORES**

Directora de tesis:  
Dra. Edith Chávez Bravo



Enero 2025



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**INSTITUTO DE CIENCIAS**

**POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**



*"La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra"*

**DISPERSION DE PATÓGENOS ESKAPE EN EL AIRE Y SU DETECCIÓN EN  
EFLUENTES CERCANOS A HOSPITALES DE LA CIUDAD DE PUEBLA**

TESIS

Que para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Presenta

**OMAR ENRIQUE AHUATZIN FLORES**

Comité Tutoral:

Directora	Dra. Edith Chávez Bravo
Integrante Comité Tutoral	Dra. Gladys Linares Fleites
Integrante Comité Tutoral	Dra. María Lilia Cedillo Ramírez
Integrante Comité Tutoral	Dr. Eduardo Torres Ramírez
Integrante Comité Tutoral	Dra. Norma Elena Rojas Ruíz
Integrante Comité Tutoral	Dra. Alía Méndez Albores

Enero 2025

# Contenido

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>II.</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>11</b>
<b>III.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>12</b>
<b>IV.</b>	<b>PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>13</b>
<b>V.</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>13</b>
<b>VI.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>14</b>
6.1.	Objetivo general	14
6.2.	Objetivos específicos	14
<b>VI.</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>14</b>
7.1.	Reservorio ambiental de microorganismos: aire y agua residual	14
7.2.	Problemática mundial de la existencia del grupo ESKAPE	16
7.3.	Bacterias del grupo ESKAPE y su relación con la salud humana.	17
7.4.	<i>Enterococcus faecium</i>	17
7.5.	<i>Staphylococcus aureus</i>	18
7.6.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
7.7.	<i>Acinetobacter baumannii</i>	18
7.8.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
7.9.	<i>Enterobacter spp</i>	19
7.10.	Resistencia a los antibióticos	19
7.11.	Identificación bacteriana en el laboratorio	22
7.12.	Modelo de dispersión de material particulado	24
<b>8.</b>	<b>DESARROLLO METODOLÓGICO</b>	<b>25</b>
8.1.	Índice de enfermedades relacionadas al grupo ESKAPE a nivel nacional y en los hospitales de la ciudad de Puebla	27
8.2	Reportes científicos del área ambiental con relación a la presencia de bacterias ESKAPE en aire y agua	29
8.4	Elección de áreas de estudio para la toma de muestras de aire	31
8.5	Toma de muestras del aire y medición de parámetros climatológicos	32
8.6	Toma de muestras del agua residual y registro de sus parámetros físicos	33
	<b>ETAPA DE LABORATORIO</b>	<b>34</b>
8.7	Aislamiento, identificación y tipificación molecular de patógenos ESKAPE a partir de las muestras del aire y del agua residual	34
8.8	Identificación molecular de bacterias ESKAPE provenientes de aire y agua . 34	
8.9	Representación la dispersión de bacterias ESKAPE en el aire	35

<b>9.</b>	<b>RESULTADOS y DISCUSIÓN</b>	<b>36</b>
9.1	Reportes nacionales de Infecciones causadas por bacterias ESKAPE	36
9.2	Reportes de estudios realizados del grupo ESKAPE en el área ambiental 40	
9.3	Documentos que reportan la presencia de patógenos ESKAPE en agua y aire. 43	
9.4	Perfiles de resistencia antimicrobiana de los patógenos ESKAPE.	51
9.4.1	Genes de resistencia de los patógenos ESKAPE.	52
9.5.1	Georreferenciación y elección de los puntos de muestreo de aire y de agua residual	56
9.6	Registro de las características climatológicas y de los parámetros físicos del agua residual	59
9.6.1	Características climatológicas del punto 1 de muestreo y registro de los parámetros físicos del agua residual.	59
9.6.2	Características climatológicas del punto 2 de muestreo y el registro de los parámetros físicos del agua residual.	62
9.6.3	Características climatológicas del punto tres de muestreo y registro de los parámetros físicos del agua residual.	65
9.6.4	Aislamiento e identificación de bacterias sospechosas en muestras de agua residual y de aire.	68
9.6.5	Tipificación molecular de genes específicos de patógenos ESKAPE	76
9.6.6	Amplificación del gen OMPA Y blaKPC para la detección de <i>Klebsiella</i> en muestras de aire y agua	80
9.7	Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de los patógenos aislados del aire y del agua residual.	83
9.7.1.1	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>	87
9.6.1.1	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> asilada de diferentes zonas de muestreo	<b>90</b>
9.6.1.2	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> y de <i>Enterococcus faecium</i> aisladas del agua	<b>93</b>
9.8	Uso del modelado para observar la dispersión de bacterias en la ciudad de Puebla	95
9.9	Uso de una representación gráfica y modelo dispersión de bacterias en la ciudad de Puebla	99
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>105</b>
<b>X.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA CITADA</b>	<b>107</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. MAPA DE HOSPITALES DE LA CIUDAD DE PUEBLA .....	26
FIGURA 2. DIAGRAMA DE TRABAJO. ....	27
FIGURA 3. DIAGRAMA DE TRABAJO PARA UNA BÚSQUEDA BIBLIOMÉTRICA.....	28
FIGURA 4. DIAGRAMA DE TRABAJO PARA UNA BÚSQUEDA BIBLIOMÉTRICA DEL GRUPO ESKAPE .....	29
FIGURA 5. DIAGRAMA DE TOMA DE MUESTRA Y MEDICIÓN DE PARÁMETROS CLIMATOLÓGICOS .....	32
FIGURA 6. FUNCIONAMIENTO DEL EQUIPO MERCK MILLIPORE .....	33
FIGURA 7. DIAGRAMA DE TRABAJO PARA LA ETAPA 2 .....	34
FIGURA 8. MAPA DE LAS ESTACIONES METEOROLÓGICAS EMPLEADAS Y SU CERCANÍA CON PUNTOS DE MUESTREO. ....	36
FIGURA 9. NÚMERO DE CASOS DE IAAS POR ENTIDAD FEDERATIVA 2022 (RHOVE, 2022) .....	37
FIGURA 10. GRUPOS DE EDAD ASOCIADOS A IAAS EN LOS HOSPITALES DE MÉXICO (DGE, 2024) .....	39
FIGURA 11. PRINCIPALES PATÓGENOS AISLADOS DE IAAS EN LOS HOSPITALES DE MÉXICO (DGE, 2024).....	40
FIGURA 12. DOCUMENTOS CIENTÍFICOS REPORTADOS DURANTE 2010-2021, DONDE SE HA REPORTADO EL GRUPO ESKAPE EN EL ÁREA AMBIENTAL 0. FUENTE SCOPUS .....	41
FIGURA 13. ÁREAS DEL CONOCIMIENTO DONDE SE HA PUBLICADO EL TEMA ESKAPE (2010- 2020). FUENTE SCOPUS. ....	42
FIGURA 14. REGIONES CON MAYOR NÚMERO DE ESTUDIOS REALIZADOS CON PATÓGENOS...42	
FIGURA 15. PUBLICACIONES DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA QUE REPORTAN EL GRUPO ESKAPE. .....	43
FIGURA 16. NÚMERO DE PUBLICACIONES QUE REPORTAN CADA UNO DE LOS PATÓGENOS ....44	
FIGURA 17. NÚMERO DE PUBLICACIONES QUE HAN REPORTADO CADA UNO DE LOS PATÓGENOS .....	45
FIGURA 18. COMPARACIÓN DE LOS DOCUMENTOS PUBLICADOS DE CADA PATÓGENO ESKAPE EN CUERPOS HÍDRICOS Y REPORTADOS EN LAS DIFERENTES ÁREAS DEL CONOCIMIENTO.....	48
FIGURA 19. COMPARACIÓN DE LOS DOCUMENTOS PUBLICADOS DE CADA PATÓGENO ESKAPE EN EL AIRE Y REPORTADOS EN LAS DIFERENTES ÁREAS DEL CONOCIMIENTO. ....	50
FIGURA 20. ZONAS HOSPITALARIAS DE ESTUDIO.....	55
FIGURA 21. ZONAS DE MUESTRO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE AGUA RESIDUAL:(CÚMULO DE VIRGO).....	56

FIGURA 22. PUNTOS DE MUESTREO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL. ....	58
FIGURA 23. PUNTOS DE MUESTREO DE AIRE EN LA CIUDAD DE PUEBLA. ....	58
FIGURA 24. TOMA DE MUESTRAS DEL AIRE (A) Y DEL AGUA RESIDUAL (B) DE LA ZONA 1 DE ESTUDIO.....	61
FIGURA 25. TOMA DE MUESTRAS DEL AIRE (A) Y DEL AGUA RESIDUAL (B) DE LA ZONA DE ESTUDIO 2 .....	64
FIGURA 26. TOMA DE MUESTRAS DEL AIRE (A) Y DEL AGUA RESIDUAL (B) DE LA ZONA DEL RÍO DE SAN FRANCISCO .....	67
FIGURA 27. MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS EN LOS MUESTREOS .....	69
FIGURA 28. CRECIMIENTO BACTERIANO DE COLONIAS SOSPECHOSAS EN MEDIOS SELECTIVOS .....	71
FIGURA 29. PRUEBAS DE LABORATORIO PARA LA IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA .....	71
FIGURA 30. GEL DE AGAROSA CON EL ADN GENÓMICO Y EL AMPLICÓN DEL ARNR 16S OBTENIDO DE LAS MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL .....	76
FIGURA 31. AMPLIFICACIÓN DEL GEN EXO-A DE LAS MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL. CARRILES: 1.-MARCADOR DE PESO MOLECULAR, 2.- CONTROL POSITIVO 3 Y 5 ADN POSITIVO DE PSEUDOMONA4 Y 6 ADN NEGATIVO .....	78
FIGURA 32. AMPLICÓN EXO-A OBTENIDO DE LAS MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL. CARRILES: .....	78
FIGURA 33. AMPLICÓN EXO-A OBTENIDO DE LAS MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL DEL MUESTREO 2. CARRILES: 1.-MARCADOR DE PESO MOLECULAR, 2.- CONTROL POSITIVO, 3--10 MUESTRAS AMBIENTALES.....	79
FIGURA 34. AMPLICÓN EXO-A OBTENIDO DE LAS MUESTRAS DEL AGUA CARRILES:.....	80
FIGURA 35. AMPLICÓN OMPA Y BLAKPC OBTENIDO DE LAS MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL Y AIRE DEL MUESTREO 1. CARRILES: .....	81
FIGURA 36. GEL DE AGAROSA CON EL AMPLICÓN OMPA OBTENIDO DE LAS MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL Y AIRE DEL MUESTREO 2 . CARRILES: .....	82
FIGURA 37. GEL DE AGAROSA CON EL ADN GENÓMICO Y EL AMPLICÓN OMPA OBTENIDO DE LAS MUESTRAS DEL AGUA RESIDUAL Y AIRE DEL MUESTREO 3.....	83
FIGURA 38. ANTIBIOGRAMA REALIZADO POR EL MÉTODO DE KIRBY BAUER CON LOS ANTIBIÓTICOS PRESENTES EN EL MULTIDISCO .....	84
FIGURA 39. MEDICIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO ANTE LA PRESENCIA DE ANTIBIÓTICOS.....	85
FIGURA 40. PERFIL DE RESISTENCIA DE LAS PSEUDOMONAS AISLADAS DEL AIRE Y DEL AGUA DURANTE EL MONITOREO ANUAL .....	86

FIGURA 41. PERFIL DE MULTIRRESISTENCIA DE PSEUDOMONA AERUGINOSA PERTENECIENTE A MUESTRAS DEL AIRE Y DE AGUA.....	87
FIGURA 42. INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE LAS CEPAS KLEBSIELLA PNEUMONIAE ANTE LA PRESENCIA DE SENSIDISCOS DE ANTIBIÓTICOS.....	87
FIGURA 43. PERFIL DE RESISTENCIA DE KLEBSIELLA RECUPERADAS DE AGUA Y AIRE DURANTE TODOS LOS MUESTREOS.....	89
FIGURA 44. PERFIL DE MULTIRRESISTENCIA DE KLEBSIELLA PERTENECIENTE A MUESTRAS DEL AIRE Y DE AGUA. ....	89
FIGURA 45. MULTIRRESISTENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS PERTENECIENTE A MUESTRAS DE AGUA. ....	92
FIGURA 46. MULTIRRESISTENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS PERTENECIENTE A MUESTRAS DE AIRE .....	93
FIGURA 47. MULTIRRESISTENCIA DE LAS CEPAS DE ENTEROCOCCUS AISLADAS DE AGUA EN LAS DIFERENTES ÉPOCAS DEL AÑO. ....	94
FIGURA 48. SOFTWARE R STUDIO DONDE SE ELABORA EL MODELO.....	95
FIGURA 49. MAPA ELABORADO EN R STUDIO DONDE SE MUESTRA UN MAPA DEL ESTADO DE PUEBLA Y SE RECORTA LA CIUDAD DE PUEBLA. ....	96
FIGURA 50. MAPA DE LAS ENTIDADES QUE ABARCA EL RÍO ATOYAC .....	96
FIGURA 51. ISOTERMAS DE CALOR GENERADAS POR MEDIO DE LOS DATOS DEL SISTEMA RAMM DE LA CIUDAD DE PUEBLA.....	97
FIGURA 52. ISOTERMAS DE CALOR GENERADAS POR MEDIO DE LOS DATOS DEL SISTEMA RAMM DE LA CIUDAD DE PUEBLA.....	98
FIGURA 53. MAPA SIMULADO DE UNA ISOTERMA DE CALOR Y LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL AIRE. DONDE SE OBSERVA EN AMARILLO EL VOLCÁN POPOCATÉPETL, EN NARANJA SON COLORES QUE DENOTAN LA TEMPERATURA Y LA DENSIDAD LA CANTIDAD DE BACTERIAS EN UNA GAMA DE COLORES EN AZUL. ....	99
FIGURA 54. REPRESENTACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BACTERIAS PRESENTE EN LOS DIFERENTES PUNTOS DE MUESTREO .....	100
FIGURA 55. REPRESENTACIÓN DE LA MOVILIZACIÓN DE BACTERIAS EN EL AIRE POR EFECTO DEL VIENTO.....	102
FIGURA 56. MODELO DE DISPERSIÓN DE BACTERIAS EN EL AIRE.....	104

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE ANTIBIÓTICOS BASADO EN SU MECANISMO DE ACCIÓN .....	20
TABLA 2. NÚMERO DE IAAS REGISTRADAS EN MÉXICO DURANTE DOS AÑOS CONSECUTIVOS (2014-2015).....	38
TABLA 3. PORCENTAJE DE IAAS REGISTRADAS EN MÉXICO DURANTE EL 2023 .....	38
TABLA 4. PORCENTAJE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES REPORTADAS POR LAS PRINCIPALES INSTITUCIONES PÚBLICAS DE SALUD EN MÉXICO. ....	39
TABLA 5. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS QUE PRESENTA CADA BACTERIA DEL GRUPO ESKAPE .....	51
TABLA 6. GENES SELECCIONADOS PARA LA TIPIFICACIÓN DE PATÓGENOS DEL .....	54
TABLA 7. REGISTRO DE COORDENADAS DE LOS SITIOS DE MUESTREO .....	56
TABLA 8. REGISTRO DE LAS CONDICIONES CLIMATOLÓGICAS DEL PUNTO 1 DE MUESTREO, DURANTE LAS TRES ÉPOCAS DE ESTUDIO.....	60
TABLA 9. REGISTRO DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL AGUA RESIDUAL DEL PUNTO DE MUESTREO 1 .....	62
TABLA 10. REGISTRO DE LAS CONDICIONES CLIMATOLÓGICAS DEL PUNTO DE MUESTREO 2, DURANTE LA ETAPA DE ESTUDIO.....	63
TABLA 11. REGISTRO DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL AGUA RESIDUAL DEL .....	65
TABLA 12. REGISTRO DE LAS CONDICIONES CLIMATOLÓGICAS DEL SITIO DE MUESTREO 3 .....	66
TABLA 13. REGISTRO DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL AGUA RESIDUAL DEL SITIO 3 DE MUESTREO.....	67
TABLA 14. UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR CADA 100 LITROS DE AIRE EN LAS DIFERENTES ZONAS DE MUESTREO EN LOS MUESTREOS .....	69
TABLA 15. COMPARACIÓN DE BACTERIAS RECUPERADAS DEL AGUA PERTENECIENTES .....	72
TABLA 16. COMPARACIÓN DE BACTERIAS RECUPERADAS DEL AIRE PERTENECIENTES AL PUNTO 1 DE MUESTREO DURANTE LOS MUESTREOS REALIZADOS .....	73
TABLA 17. COMPARACIÓN DE BACTERIAS RECUPERADAS DEL AGUA PERTENECIENTES AL PUNTO 2 DE MUESTREO DURANTE LOS MUESTREOS REALIZADOS .....	73
TABLA 18. COMPARACIÓN DE BACTERIAS RECUPERADAS DEL AIRE PERTENECIENTES AL PUNTO 2 DE MUESTREO DURANTE LOS MUESTREOS REALIZADOS .....	74
TABLA 19. COMPARACIÓN DE BACTERIAS RECUPERADAS DEL AGUA PERTENECIENTES AL PUNTO 3 DE MUESTREO DURANTE LOS MUESTREOS REALIZADOS .....	74
TABLA 20. COMPARACIÓN DE BACTERIAS RECUPERADAS DEL AGUA PERTENECIENTES AL PUNTO 3 DE MUESTREO DURANTE LOS MUESTREOS REALIZADOS .....	75
TABLA 21. PERFIL DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE PSEUDOMONA AERUGINOSA.....	86

TABLA 22. PERFILES DE RESISTENCIA DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE RECUPERADAS DE LA ZONA 1 Y 2 DE MUESTREO.....	88
TABLA 23. PERFILES DE RESISTENCIA DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE RECUPERADAS EN LA ZONA 3 DE MUESTREO.....	88
TABLA 24. PERFILES DE RESISTENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AISLADA DE LAS TRES ZONAS DE MUESTREO DEL AGUA RESIDUAL .....	91
TABLA 25. PERFIL DE RESISTENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RECUPERADAS DE LAS TRES ZONAS DE MUESTREO DEL AIRE .....	91
TABLA 26. PERFIL DE RESISTENCIA DEL GÉNERO ENTEROCOCCUS EN MUESTRAS DE AGUA EN LAS DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO .....	94

## I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día se cuenta con numerosas investigaciones sobre la contaminación microbiológica del agua, causada tanto por bacterias patógenas como por antibióticos. Estos últimos van en aumento debido al uso excesivo en las diferentes áreas agroindustriales y en la clínica humana y veterinaria, por lo que, se puede encontrar la expresión de genes de resistencia entre la misma microbiota de cuerpos hídricos. Así mismo en vertederos municipales, la descarga de aguas domésticas, industriales y hospitalarias propicia un aumento de coliformes y patógenos en estos sitios, dando lugar a la interacción y transferencia de genes de resistencia (OPS, 2015). Otro compartimento ambiental donde se pueden encontrar microorganismos es en la troposfera, sin embargo, es poco estudiada en materia de biocontaminación, sus características físicas como temperatura y viento le permiten ser un excelente vehículo de transporte de microorganismos en un área geográfica, debido a que se encuentran suspendidos en forma de bioaerosol y su movilidad depende de su tamaño y de las condiciones climatológicas (Grisales Penagos et al., 2012; Mosso et al., 2002). Sin embargo, en lugares cerrados como hospitales la poblacional microbiológica es diferente, los patógenos multirresistentes son considerados como la mayor fuente de contaminación emergente entre los pacientes y el personal médico. Por lo que, el agua residual y los desechos hospitalarios sin previo tratamiento, contribuyen a la contaminación microbiológica del ambiente y representan un problema de salud a la población aledaña (Tacconelli et al., 2018).

Derivado de lo anterior, diferentes países han invertido miles de dólares en la prevención y en el tratamiento de enfermedades causadas por patógenos multirresistentes, ya que representan un grave problema de salud a nivel mundial. La OMS ha decretado a la resistencia microbiana como uno de los principales problemas del siglo XXI (Rice, 2008), con especial atención a los patógenos del grupo ESKAPE, acrónimo derivado del nombre de seis bacterias: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp. (OPS & OMS, 2021). A partir del 2017 la OMS incluyó a estos patógenos en la lista de bacterias más peligrosas para la salud humana, con prioridad alta para su investigación (Villasana et al., 2009). En el presente estudio se realizó la búsqueda de patógenos

ESKAPE en el aire y en efluentes aledaños a zonas hospitalarias de la ciudad de Puebla, con la finalidad de generar información valiosa del posible riesgo a la salud humana, debido a la presencia de patógenos multirresistentes en el ambiente de la ciudad de Puebla, los resultados darán pauta para continuar investigando y resolver dudas de los patógenos ESKAPE, como: ¿cuál es su procedencia?, ¿por qué permanecen en el ambiente? y ¿cómo adquirieron su resistencia antimicrobiana?.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La contaminación ambiental de los cuerpos de agua y del aire son temas que en la actualidad se deben atender para mejorar las condiciones ambientales. Los cuerpos de agua como los ríos adquieren y retienen múltiples contaminantes de origen químico, farmacéutico y biológico procedente de las actividades humanas. La descarga del agua residual doméstica, industrial (alimenticia, farmacéutica, eléctrica automotriz, textil, etc.) y hospitalaria, se vierten en los ríos de la ciudad; generando una alta contaminación química, física y biológica; ejemplo de ello es el río Atoyac ubicado en la Ciudad de Puebla, que se ha catalogado como uno de los ríos más contaminados de Latinoamérica (INECC, 2019). Otro compartimento ambiental contaminado en la Ciudad de Puebla es el aire, el cual, según el Informe Nacional de la Calidad del Aire en México, Puebla no cumple con los estándares anuales de calidad  $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ , tenido una calidad de aire entre regular y mala (OPS, n.d.); estos datos se corroboran con los presentados por el Sistema Nacional de Información de la Calidad del Aire (SINAICA), el cual cuenta con 6 estaciones a lo largo del estado para monitorear la calidad el aire diariamente. Estos compartimentos ambientales pueden contener bacterias patógenas pertenecientes al grupo ESKAPE, generando con ello un problema de salud pública.

Por otro lado, el problema de multirresistencia a antibióticos ha sido un tema importante para la Organización de las Naciones Unidas (ONU) y sus distintas suborganizaciones. La encargada en estudiar este fenómeno es la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual en el 2015 decretó un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, con la finalidad de disminuir los efectos negativos del uso desmedido de estos. En América latina este plan es seguido por la Organización Panamericana de

la Salud (OPS) y sus 51 países adscritos en los que se encuentra México, cuyo plan se adaptó al plan original de la OMS para cumplir las necesidades del país, en México, el análisis,

control y seguimiento está a cargo de la secretaria de Salud y la Comisión Nacional de médicos (CONAMED) (OMS, 2017; SNS, 2023; Méndez et al., 2016). Cabe resaltar que a nivel internacional y nacional no existen estudios ambientales que demuestren que estos microorganismos estén presentes en compartimientos ambientes como los cuerpos hídricos contaminados o en el aire, por lo cual es un tema importante por investigar por los efectos que puedan generar en la salud pública.

### III. JUSTIFICACIÓN

EL acrónimo ESKAPE comprende un grupo de seis patógenos altamente virulentos y resistentes a diversos antibióticos, desde el 2018 fueron dados a conocer como una amenaza mundial a la salud pública, son causantes de enfermedades respiratorias y gastrointestinales. Muchos documentos reportan la existencia de dichos patógenos en áreas hospitalarias y pocos han reportado su presencia en compartimientos ambientales, sin embargo, estos estudios ambientales no mencionan si estas bacterias son autóctonas o de procedencia hospitalaria. A nivel nacional de los 24,462,860 casos reportados de enfermedades respiratorias, 1,275,131 de ellas sucedieron en el estado de Puebla, donde los principales agentes causales fueron: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa*. Para enfermedades gastrointestinales, de 5,375,702 casos reportados, solo 3988 sucedieron en Puebla, siendo *Enterococcus faecium* y *Enterobacter* sp. los principales agentes etiológicos (Brown & Mohr, 2015; Maldonado et al., 2014).

La presencia de bacterias ESKAPE se ha registrado en plantas de tratamiento de agua residual en Alemania, sin embargo, en países en vías de desarrollo como México aún no hay suficiente información sobre la presencia de estas bacterias en el ambiente o el efecto que pueden causar este grupo bacteriano en el ambiente, debido a ello es de gran importancia el desarrollo de este proyecto ya que brindará información sobre la presencia de este grupo en el ambiente y no solo en el ámbito hospitalario. Ya que estos

patógenos representan un riesgo a la salud humana, debido a su resistencia y capacidad de escapar a la acción de antibióticos, por lo que, su permanencia en el ambiente puede tener un impacto en la población.

Los beneficios que se generarán con los resultados de esta investigación serían establecer los reservorios temporales de estas bacterias ESKAPE, en el aire y el agua residual de un efluente abierto como el río Atoyac en la ciudad de Puebla, aunado a ello se conocerán los géneros que predominan en el aire y en el agua. El análisis de la dispersión de estos microorganismos y el registro de parámetros ambientales permitirá conocer las condiciones favorables de prevalencia de los patógenos en un compartimento ambiental, además con la representación gráfica proporcionará una predicción de la dispersión de bioaerosoles.

#### **IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

- ¿Cuáles son los primeros registros de patógenos ESKAPE en la ciudad de Puebla?
- ¿Qué condiciones climáticas favorecen la presencia de patógenos ESKAPE en el agua y en el aire?
- ¿Qué patógenos ESKAPE existen en el aire y en efluentes aledaños a hospitales de la ciudad de Puebla?
- ¿Qué perfil de resistencia antimicrobiana tienen los patógenos aislados del aire y del agua?

#### **V. HIPÓTESIS**

Las condiciones climáticas de la Ciudad de Puebla favorecen la presencia y permanencia de patógenos ESKAPE en el aire y en el agua residual aledaña a hospitales.

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo general**

Evaluar la presencia y permanencia de patógenos del grupo ESKAPE en aire y en efluentes aledaños a hospitales de la ciudad de Puebla

### **6.2. Objetivos específicos**

6.2.1. Documentar el índice de enfermedades relacionadas al grupo ESKAPE a nivel nacional y en hospitales de la ciudad de Puebla.

6.2.2. Analizar y revisar documentos científicos del área ambiental que reporten la presencia de bacterias ESKAPE en aire y agua.

6.2.3. Registrar los parámetros climáticos que están relacionados con la presencia de bacterias ESKAPE en aire y en efluentes cercanos a hospitales de la ciudad de Puebla.

6.2.4. Detectar la presencia de bacterias del grupo ESKAPE en aire y agua residual aledaña a la zona hospitalaria.

6.2.5. Determinar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los patógenos ESKAPE aislados del aire y del agua.

6.2.6. Representar la dispersión de bacterias ESKAPE en el aire.

## **VI. MARCO TEÓRICO**

### **7.1. Reservorio ambiental de microorganismos: aire y agua residual**

En la actualidad, se han hecho una gran cantidad de estudios de la presencia de bacterias en diferentes ambientes, tanto en lugares cerrados como abiertos, si los microorganismos las encuentran las condiciones propicias para sobrevivir, nutrirse y establecerse se determina como reservorio. El suelo y el agua son compartimentos ambientales que les permiten proliferar, mientras que el aire se cree que tiene la función de transporte.

El aire no cuenta con una microbiota autóctona debido a sus condiciones cambiantes y factores abióticos adversos como: temperatura, presión, altitud y radiación, estas condiciones dificultan el desarrollo de las poblaciones microbianas, sin embargo, juega

un papel fundamental para el transporte de microorganismos en un área geográfica, además, reportes han evidenciado que la forma en la que las bacterias se transportan por el aire es en forma de bioaerosol, éste se define como “partícula suspendida en el aire que contiene un microfragmento de animal, planta o microorganismo” (Aguilera et al., 2021; Brown, 1953; Smith et al., 2011; Smets et al., 2016).

Algunos estudios de bioaerosoles han reportado la viabilidad de algunos microorganismos y su permanencia por tan solo unos minutos u horas hasta que llegue a un nuevo hospedero u otro compartimento ambiental. Como se había mencionado, la forma más común en la que pueden transportarse los microorganismos por los compartimentos ambientales es en forma de bioaerosol (Smets et al., 2016).

La dinámica del aire juega un papel fundamental en la atmosfera ya que con sus ráfagas transporta distintos microorganismos, cuando existe precipitación pluvial o por gravedad se depositan en diferentes superficies o quedan suspendidas a diferentes distancias de su origen y esto es debido a la interacción de otros factores como: velocidad del viento, temperatura, humedad relativa o del tamaño de la partícula (Decker & Palmore, 2014; Ghosh et al., 2015; Hernández S. & Leiva J., 2005).

Los bioaerosoles pueden causar efectos adversos en la salud, tanto en humanos como en animales, estos se introducen a través de boca, el epitelio de la conjuntiva, nariz y pasar a bronquios y alvéolos. Cuando se adhieren a la epidermis del tracto respiratorio pueden ocasionar desde una alergia hasta una infección respiratoria y esto depende del tamaño de la partícula, así como del agente etiológico. Existen diversos tamaños de partículas de bioaerosol que van 0.02  $\mu\text{m}$  hasta 100  $\mu\text{m}$ , para bacterias su tamaño varía desde 0.25 hasta 20  $\mu\text{m}$  y para hongos de 1 a 30  $\mu\text{m}$ . (Alvarado & Rozo, 2019).

Por lo contrario, en cuerpos hídricos se encuentra una gran cantidad y variabilidad de microorganismos de forma silvestre y se sabe que cuenta con las condiciones necesarias para que los microorganismos sobrevivan como: la temperatura, pH, presión y fuente de sustratos (Corrales-Reyes et al., 2018), llegando a permanecer días o semanas.

## **7.2. Problemática mundial de la existencia del grupo ESKAPE**

La existencia del grupo ESKAPE a nivel mundial es importante debido características del grupo como su multirresistencia a antibióticos y la manifestaciones clínicas que presenta, dicho problema se torna complejo, porque se encuentra inmerso en las interacciones de diferentes factores tanto personales, sociales, económicos y ambientales. En este sentido, si se revisa el impacto clínico y económico de la resistencia a los antibióticos revela que los patógenos ESKAPE están asociados con el mayor riesgo de morbilidad y mortalidad, lo que resulta un aumento de los costos de atención médica (Ponce de León-Rosales et al., 2015). En un hospital, la existencia de bacterias multirresistentes provoca la permanencia y el aumento de casos con infecciones intrahospitalarias (conocidas también como IAAS), debido a de pacientes inmunocomprometidos o con cirugías resientes, quienes son presa fácil a infecciones generando un gran problema de salud pública, un ejemplo es lo sucedido en Europa donde cada año se reporta un total de 4,544,100 de casos relacionados con bacterias intrahospitalarias generando 37,000 defunciones anuales, siendo los principales agentes etiológicos los patógenos del grupo ESKAPE (SUIVE, 2018; Sánchez et al., 2009). Los datos del Centro para el Control y prevención de las enfermedades (CDC) en EUA reportan a las bacterias del grupo ESKAPE como responsables de dos terceras partes de las infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS) (Santajit & Indrawattana, 2016).

El grupo ESKAPE representa la principal amenaza ante la vida humana para adquirir infecciones, ya que, manifiestan diversos mecanismos de patogenia y de resistencia evolutivamente desarrollados, estos últimos les permiten evadir la acción de múltiples fármacos que se pueden agrupar en tres categorías, a saber, la inactivación del fármaco comúnmente por una escisión irreversible catalizada por una enzima, la modificación del sitio blanco donde se puede unir el antibiótico, la reducción de la acumulación del fármaco debido a la permeabilidad reducida o por aumento del flujo de salida de la droga (Mulani et al., 2019). También pueden formar biopelículas que evitan físicamente las células de respuesta inmune del huésped, así como antibióticos para inhibir el patógeno. Además, las biopelículas protegen las células inactivas especializadas llamadas células

persistentes que son tolerantes a los antibióticos que causan infecciones recalcitrantes difíciles de tratar (Tacconelli et al., 2018).

La terapia antimicrobiana general para tratar eficazmente las infecciones suele ser hoy en día un dilema terapéutico, ya que implica el uso de antibióticos solos o en combinación. Con cada año que pasa, el número total de antibióticos efectivos contra ESKAPE está disminuyendo, lo que nos predispone hacia un futuro con antibióticos que no son efectivos. El análisis de las listas de antibióticos recomendadas en las directrices del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) reveló que muchos antibióticos sugeridos contra ESKAPE desde 2010 se han eliminado con la adición de relativamente pocas combinaciones de antibióticos. Además, hay incidentes de resistencia informados contra algunos de estos antibióticos recién agregados. Por lo tanto, es importante encontrar formas alternativas de tratar las infecciones causadas por patógenos ESKAPE.

### **7.3. Bacterias del grupo ESKAPE y su relación con la salud humana.**

Debido al impacto que tienen los patógenos del grupo ESKAPE en la salud humana, la OMS los incluyó recientemente en la lista de 12 bacterias contra las cuales se necesitan urgentemente nuevos antibióticos, en donde se describen tres categorías de patógenos, de prioridad crítica, alta y media (Ortega González, 2010). En la lista de prioridad crítica de patógenos se menciona *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistentes a carbapenem junto con  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE), *K. pneumoniae* y *Enterobacter spp* resistentes a carbapenem; mientras que *E. faecium* resistente a vancomicina y *S. aureus* resistente a la meticilina y vancomicina están en la lista del grupo de patógenos de prioridad alta.

Cada patógeno del grupo ESKAPE se le identifica por sus características propias, sin embargo, con el tiempo han desarrollado nuevos mecanismos de sobrevivencia, considerados paradigmas de patogénesis, transmisión y resistencia.

### **7.4. *Enterococcus faecium***

En América Latina se reporta en octavo lugar como causa de bacteriemia y, en el cuarto, como causa de infección urinaria y heridas quirúrgicas. Este coco Gram positivo,

se le ha aislado en agua, suelos, alimentos y reside habitualmente en el tracto digestivo y genital. Se desconoce, si el medio exterior juega un papel importante en la diseminación de persona a persona (Arredondo García et al., 2018; Cervantes et al., 2014; Chang-Hua et al., 2016).

### **7.5. *Staphylococcus aureus***

Es considerada como una bacteria oportunista, es la principal especie patógena de su género tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, este microorganismo Gram positivo causa infecciones tanto de origen comunitario como hospitalario, es responsable de un amplio espectro de enfermedades que van desde infecciones menores de piel hasta una infección fatal como la neumonía necrotizante (Camarena & Sánchez, 1998; Echeverri & Castaño, 2010; Garza et al., 2013).

### **7.6. *Klebsiella pneumoniae***

Esta bacteria Gram negativa coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal de los humanos, las infecciones que causa son severas y tienen una tasa de letalidad de aproximadamente 35%, por lo que se le considera una amenaza clínica y de salud pública. En ocasiones el ser humano puede ser portador asintomático durante años y diseminar el patógeno, no solo en ambientes hospitalarios sino también en la comunidad. Se han reportado, aislamientos de *K. pneumoniae* en mucosas de mamíferos, agua y suelo (Andrade & Silva, 2004; Espino et al., 2018; Vanegas et al., 2014).

### **7.7. *Acinetobacter baumannii***

Infecta y coloniza pacientes en estado crítico en unidades de cuidado intensivo y/o unidades de quemados, se asocia a infecciones quirúrgicas, infecciones de tracto urinario relacionadas con sondas, meningitis e infecciones en piel y tejidos blandos de pacientes quemados. Por su capacidad de adherencia, persiste en equipos biomédicos, teclados, cortinas e incluso celulares, origina diversos cuadros clínicos, principalmente neumonía y bacteriemia, esta bacteria Gram negativa es resistente a desinfectantes de nivel bajo o intermedio, por lo que, la prevalencia de *A. baumannii* en las manos de la población general es de un 10.4% (Aguirre et al., 2010; Barletta et al., 2018; Gómez et al., 2005).

### **7.8. *Pseudomonas aeruginosa***

Este patógeno afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos o que tienen fibrosis quística, es responsable del 10 al 15% de las infecciones nosocomiales mundiales y causa una mortalidad entre 35% a un 70%. Esta bacteria Gram negativa es la quinta causa más frecuente en las infecciones en general a nivel mundial, es la segunda causa de neumonía nosocomial, la tercera causa de infecciones urinarias, el cuarto de infecciones de sitio quirúrgico y el séptimo responsable de sepsis. (Hernández et al., 2018; Paz et al., 2019; Silva & Martínez O., 2018).

### **7.9. *Enterobacter spp***

Las infecciones causadas por *Enterobacter spp.* son: las urinarias, las de torrente sanguíneo, respiratorias, de herida quirúrgica, endocarditis, artritis séptica y osteomielitis. Este patógeno es resistente a los antibióticos betalactamasas de amplio espectro, su tasa de resistencia es entre el 40 y 100%, Estos bacilos Gram negativos se encuentran distribuidos en la naturaleza como en el suelo, agua y como parte del microbiota de animales, insectos y tracto gastrointestinal humano (González et al., 2019; Harada et al., 2016; Rojas & Ulate, 2017).

### **7.10. Resistencia a los antibióticos**

Desde el descubrimiento de la penicilina en 1928 por Alexander Fleming, se inició una nueva era en historia de la humanidad y una revolución en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Fleming también advirtió sobre los riesgos de la resistencia a los antibióticos, es por ello, que tan solo a 10 años de la creación de la penicilina, comenzaron a haber reportes de resistencia al antibiótico citado (Guzmán-Terán et al., 2018).

La resistencia a los antibióticos puede ser definida como “la capacidad que tiene un microorganismo de resistir los efectos de un antimicrobiano”, esta resistencia puede llevarse a cabo por tres razones, la primera por un proceso biológico natural como la selección natural, la segunda por una mutación ocurrida al azar o bien puede ser inducida por la aplicación de presión selectiva en una población (Del Arco, 2014; Fariña, 2016).

Esta resistencia a los antibióticos se puede dar cuando un antibiótico es administrado sobre una población para inhibir su crecimiento y propagación, sin embargo, dentro de esta población pueden existir células mutantes resistentes, las cuales no serán eliminadas, logrando continuar con su desarrollo poblacional, iniciando un proceso de selección natural, dando lugar a una población resistente al antibiótico empleado (Chavda et al., 2016).

Existen diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos los cuales se agrupan en 5 grupos (Chavda et al., 2016):

1. Dificultar el acceso del antibiótico a su diana.
2. Facilitar su transporte al exterior de la bacteria.
3. Modificar la estructura molecular del antibiótico de forma que pierda su actividad antimicrobiana.
4. Modificar la diana para dificultar la unión del antibiótico o incrementando su producción de forma que las cantidades de antibiótico sean insuficientes para unirse a toda ella.
5. Desarrollar vías metabólicas alternativas a la que inhibe el antimicrobiano.

Existen muchas formas de clasificar a los antibióticos, esta puede ser por el amplio de su espectro de bacterias que pueden inhibir, su estructura química o por su origen, sin embargo, la más empleada es por su mecanismo de acción como se muestra en la tabla 1. (Chavda et al., 2016):

Tabla 1. Clasificación de antibióticos basado en su mecanismo de acción

Grupo		Ejemplo
Betalactámicos	Penicilinas	Bencilpenicilinas: bencilpenicilina (penicilina G) Fenoximetilpenicilina (penicilina V). Isoxazolilpenicilinas: cloxacilina Aminopenicilinas: amoxicilina; ampicilina. Ureidopenicilinas: piperacilina.

	Cefalosporinas	1ª generación: cefadroxilo, cefalexina, cefazolina sódica. 2ª generación: cefaclor, cefuroxima, cefonicida, cefoxitina, ceftinox. 3ª generación: cefixima, cefpodoxima proxetilo, cefditoreno pivoxilo, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona. 4ª generación: cefepima. 5ª generación: ceftarolina fosami, ceftobiprole medocaril, ceftolozano.
	Monobactámicos	Aztreonam
	Carbapenemes	Imipenem, Meropenem, Ertapenem
	Inhibidores de las beta-lactamasas	(amoxicilina)/ácido clavulánico; (ampicilina)/sulbactam; (piperacilina)/tazobactam; (ceftazidima)/avibactam; (ceftolozano)/tazobactam.
Macrólidos		Macrólidos de 14 átomos: eritromicina, claritromicina, roxitromicina. Macrólidos de 15 átomos: azitromicina. Macrólidos de 16 átomos: espiramicina acetil, josamicina, midecamicina diacetil.
Lincosamidas		Clindamicina, lincomicina
Tetraciclinas		1ª Generación: tetraciclina clorhidrato. 2ª Generación: doxiciclina, minociclina. 3ª Generación: oxitetraciclina, tigeciclina.
Aminoglucósidos		Estreptomina, neomicina, amikacina, kanamicina, tobramicina, gentamicina, capreomicina, paromomicina
Anfenicoles		Cloranfenicol.
Peptídicos	Polipeptídicos	Bacitracina, Gramicidina
	Glucopéptidos	Vancomicina, teicoplanina, dalvabancina
	Lipopéptidos	Deptomina
	Polimixinas	Polimixinas B, Colistina
Oxazolidinona		Linezolid, tedizolid
Nitroimidazol		Metronidazol, tinidazol
Quinolonas		1ª Generación: ácido nalidixico 2ª Generación: ciprofloxacino; norfloxacino; ofloxacino; ozenoxacino. 3ª Generación: levofloxacino. 4ª Generación: moxifloxacino; nadifloxacino.
Sulfonamidas		(trimetoprima)-sulfametoxazol, conocido como cotrimoxazol; (trimetoprima)-sulfadiazina, conocido como cotrimacina; sulfacetamida; sulfadiazina argéntica
Rifamicinas (ansamicinas)		Rifabutina, rifampicina, rifaximina
Miscelánea		Ácido fusídico; bacitracina; gramicidina; tirotricina; bedaquilina; delamanid; daptomicina; fosfomicina; isoniazida; pirazinamida; etambutol; mupirocina; nitrofurantoína; polimixinas; trimetoprima.

Como se mencionó previamente, la resistencia a los antibióticos es un fenómeno natural que presentan los microorganismos para poder sobrevivir. Este hecho se ve potencializado por actividades humanas como: uso inapropiado de antibióticos (no concluir los tratamientos adecuadamente, uso desmedido en animales o industria), su pobre calidad, ineficientes o nulos programas de prevención, pésima regulación del uso y venta (puntos de venta no establecidos o fuera de la ley) de este tipo de medicamentos. Por estas razones, la resistencia a los antibióticos es una de las mayores preocupaciones no solo para México, sino, también para el mundo, ya que, según estimaciones de la OMS, sino se desarrollan nuevos antibióticos para combatir a los microorganismos, para el año 2050 ningún antibiótico será eficaz para prevenir o tratar enfermedades en el ser humano, lo que se traduciría a 10 millones de muertes atribuidas a la resistencia a antibióticos (Del Arco, 2014; NOM-156, 2012).

#### **7.11. Identificación bacteriana en el laboratorio**

La identificación bacteriana en el laboratorio es una de las etapas más importantes al realizar estudios medioambientales, en la actualidad existen diferentes métodos de identificación basadas en diferentes características propias de los microorganismos. Los métodos generales son los basados en las características fenotípicas (morfología celular y colonial) y metabólicas de las bacterias (pruebas bioquímicas), ahora han surgido diversas metodologías para confirmar la identificación bacteriana como: métodos moleculares y, métodos proteómicos, los cuales están tomando gran relevancia a nivel mundial (Bou et al., 2011).

Las pruebas **fenotípicas** se basan en las características observables de los microorganismos como lo son: morfología, desarrollo y propiedades metabólicas. Estas pruebas inician con una buena elección del medio del cultivo, donde se puede observar las características coloniales. Desde su crecimiento en placa se identifica: mucosidad, color, tamaño, incluso características como el olor o cómo ha cambiado el medio de cultivo sensible a pH, para continuar con la identificación fenotípica, se realizan por lo general pruebas bioquímicas, las cuales están relacionadas con el metabolismo bacteriano, las básicas son MIO, LIA, TSI, Citrato y MR-VP, sin embargo, estas pruebas pueden aumentar dependiendo el grado de exactitud que se busca al momento de hacer

la identificación bacteriana, otras pruebas que se pueden hacer son: oxidasa, catalasa, coagulasa, lipasa, la prueba de CAMP y un largo etc. (Bou et al., 2011; Giraldo et al., 2021; Rivas & Mota, 2008). Existen otras técnicas de identificación fenotípica que permiten reducir el tiempo de identificación como el uso de la galería API (BioMérieux SA., 2017; Herazo et al., 2010; NHI, 2023).

En los **métodos automatizados**, son similares a las galerías multipuebas, sin embargo, la inoculación, incubación y lectura de las placas empleadas en estos equipos son automáticas, estos métodos no solo nos brindan información del metabolismo de los microorganismo, si no, que también tiene la capacidad de brindar información sobre el antibiograma de cada bacteria, ejemplo de estos métodos son: MicroScan, Vitek, ATB, Pasco, Winder, Phoenix, etc (Herazo et al., 2010).

**Métodos moleculares.** En los últimos años, sirven como métodos complementarios o como métodos alternativos a las pruebas de identificación básica. Estos métodos son altamente específicos, por lo cual, los resultados garantizan la identificación infalible de los microorganismos, ejemplos de este tipo métodos, la amplificación y secuenciación del gen que codifica para el ARN16s, gen ARNr 23s, gen rpoB, sin embargo, estos genes no son muy útiles para la identificación del género y especie de bacterias simplemente denotan su presencia en una muestra. La técnica más empleada para determinar la presencia de genes específicos es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Bou et al., 2011; Herazo et al., 2010).

La reacción en cadena de la polimerasa a grandes rasgos es una técnica de laboratorio que nos permite amplificar un segmento específico de ADN. Esta técnica implica el uso de cebadores (también conocidos como iniciadores o primers) para seleccionar un segmento del genoma (ADN), dNTPs (bloques básicos de ADN necesarios para la síntesis de nuevas cadenas de ADN), Taq polimerasa (enzima termoestable que sintetiza ADN complementario. a múltiples copias de ADN con la finalidad de amplificar este segmento y poder ponerlo de manifiesto pro electroforesis (NHI, 2023).

## **7.12. Modelo de dispersión de material particulado**

En la actualidad, la contaminación del aire es uno de los problemas más importantes que se deben atender en el ambiente, para mejorar la calidad de vida de una población. Es por ello, que se han implementado diferentes estrategias para medir la calidad del aire en ciudades con una alta densidad poblacional, implementado estaciones de monitoreo que pertenecen al Sistema de Monitoreo de la Calidad el Aire (SMCA), este sistema se encarga de detectar los contaminantes de mayor preocupación como: partículas suspendidas (PM10 y/o PM2.5), ozono (O3), dióxido de azufre (SO2), dióxido de nitrógeno (NO2) y monóxido de carbono (CO) (Ríos et al., 2017). Estos contaminantes de la atmosfera pueden desplazarse y verse alterados por diferentes procesos naturales como: la precipitación, la temperatura, presión atmosférica, presencia de viento, etc.

La medición de contaminantes atmosféricos es una actividad que se realiza bajo ciertos lineamientos y se ha realizado durante mucho tiempo, por lo que se han establecido leyes en todos los países para regular las partículas de diámetro menores o iguales a 10 micras (PM10), menores o iguales a 2.5 micras (PM2.5), sin embargo, en el aire se puede encontrar microorganismos que fungen como contaminantes temporales, estos microorganismos, se pueden encontrar anclados en objetos (como hojas) o partículas suspendidas en el aire (como el polvo) o en forma de bioaerosol (Mosso et al., 2002).

Existen diversos reportes científicos sobre la cuantificación de contaminantes biológicos en el aire de lugares cerrados como: hospitales y en industrias, sin embargo, la cuantificación de contaminantes biológicos en lugares abiertos es limitada y aún más si se tratan de reportar bacterias específicas como patógenos del grupo ESKAPE.

El monitoreo de patógenos en el ambiente no es común, sin embargo, por atención a la salud pública se han realizado seguimientos epidemiológicos de microorganismos patógenos como son: el virus del ébola, virus de gripe y más recientemente virus del Sars-Cov-II, sin incluir hasta el momento bacterias de importancia médica, tales como: grupo ESKAPE (Ríos et al., 2017).

El seguimiento epidemiológico es muy importante para disminuir el contagio y propagación de un microorganismo y así evitar o disminuir los daños colaterales en la

sociedad. Los estudios epidemiológicos utilizan de diferentes herramientas para realizar esta tarea, sin embargo, hasta el momento no se ha realizado un modelo de computacional para determinar como un microorganismo pueda dispersarse en un área geográfica tomando en cuenta los factores ambientales (OPS, 2023).

Los modelos de dispersión utilizan los datos de las estaciones meteorológicas del área de estudio y un software, sin embargo, se debe tener en cuenta que es un modelo de partículas, el cual tendrá que ser adaptado a la necesidad del estudio.

## **8. DESARROLLO METODOLÓGICO**

La ciudad de Puebla cuenta aproximadamente con 27 hospitales con servicio público y privado, ubicados a lo largo de la mancha urbana, la mayoría de ellos dan atención general, integral o de especialidad (Fig.1). Por otra parte, los servicios básicos de agua y alcantarillado de estos hospitales son parte fundamental, el sistema de alcantarillado conduce el agua utilizada y de desecho para que sea tratada o bien eliminada a cauces naturales donde converge con el agua residual de desechos domésticos y de industrias, siendo los principales vertederos de la ciudad de Puebla el río Atoyac, el río San Francisco y el río Alseseca.

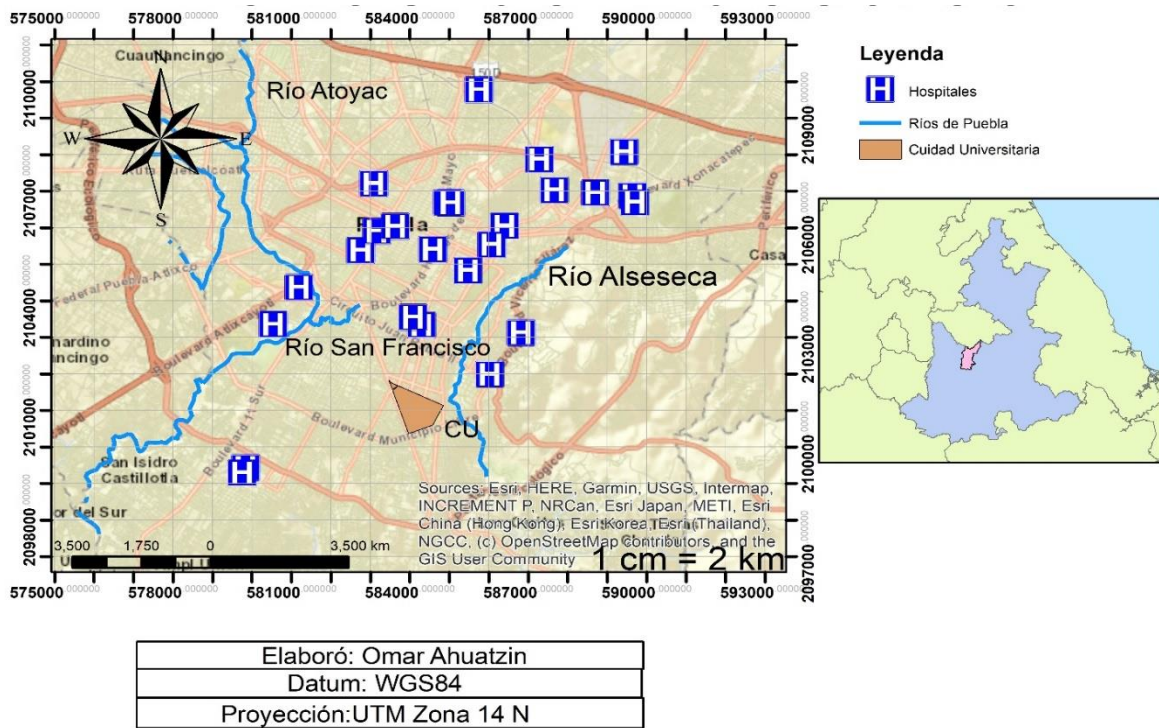


Figura 1. Mapa de hospitales de la ciudad de Puebla

### Etapas del proyecto

El desarrollo de este trabajo de investigación se realizó por medio de cuatro etapas: gabinete, campo, laboratorio y representación gráfica, cada una de ellas se detalla en la figura 2.

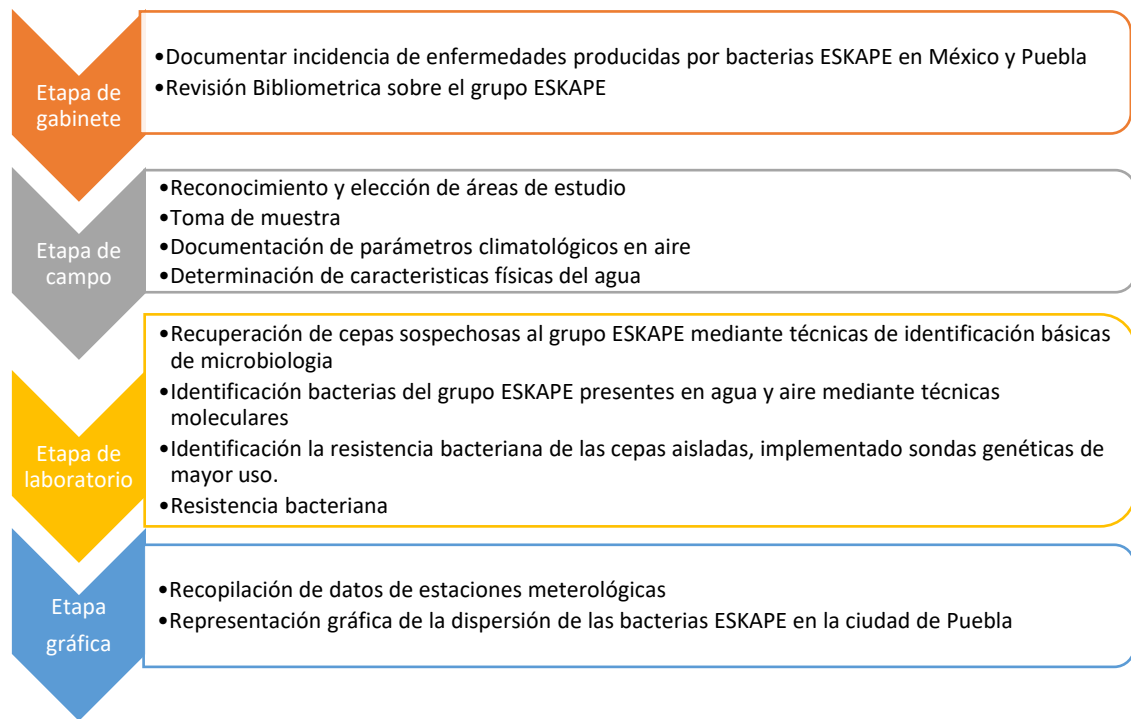


Figura 2. Diagrama de trabajo.

### 8.1. Índice de enfermedades relacionadas al grupo ESKAPE a nivel nacional y en los hospitales de la ciudad de Puebla

La búsqueda de información del grupo ESKAPE se realizó por medio de un análisis bibliométrico (Corrales et al., 2018), el cual nos proporcionó una forma más eficiente los documentos publicaciones siguiendo los criterios establecidos, la ruta de investigación se muestra en la figura 3.

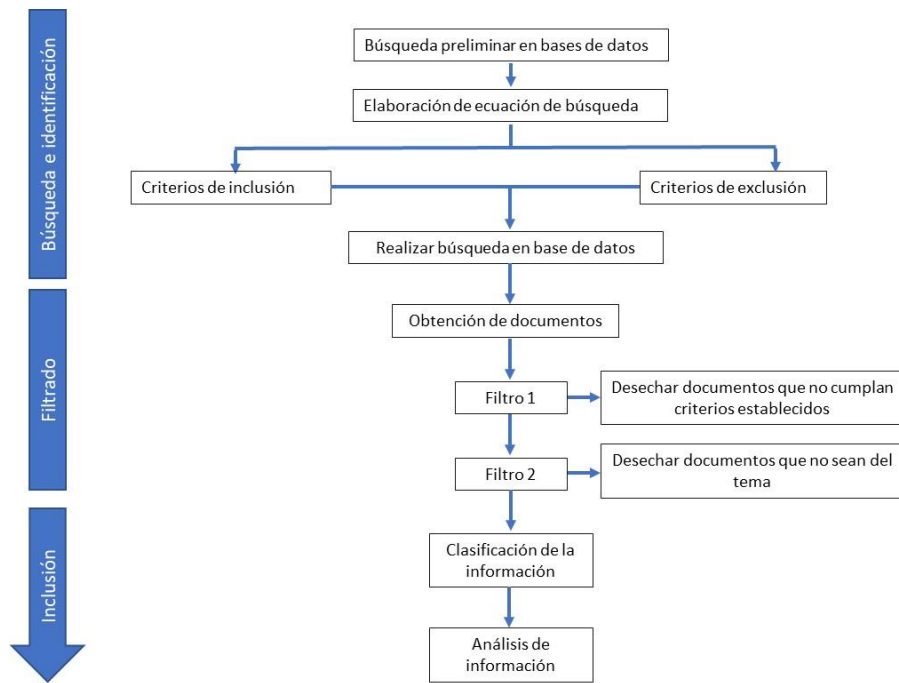


Figura 3. Diagrama de trabajo para una búsqueda bibliométrica

Para documentar el índice de enfermedades provocadas o relacionada con el grupo ESKAPE se emplearon diferentes bases de datos y documentos emitidos por instancias gubernamentales, tanto nacionales como locales, las cuales tienen reportadas las enfermedades nosocomiales que se han presentado en sus diferentes hospitales a lo largo del año. Las bases de datos empleadas fueron de instancias como: la Secretaría de Salud y del Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Los documentos consultados para obtener información sobre las infecciones generadas por bacterias del grupo ESKAPE fueron informes reportados por la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) y de los informes de la Comisión Nacional de Arbitraje Médico (CONAMED). Las búsquedas en estas bases de datos se centraron en palabras clave como: Bacterias ESKAPE, enfermedades intrahospitalarias, Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), enfermedades nosocomiales, así como en cada una de las bacterias que pertenecen al grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp).

## 8.2 Reportes científicos del área ambiental con relación a la presencia de bacterias ESKAPE en aire y agua

Se realizó un análisis de los reportes científicos relacionados con el área ambiental con temática del grupo ESKAPE y su presencia en el aire y en el agua se llevó a cabo una revisión bibliométrica sobre la presencia de las bacterias del grupo ESKAPE en el ambiente como se muestra en la figura 4.

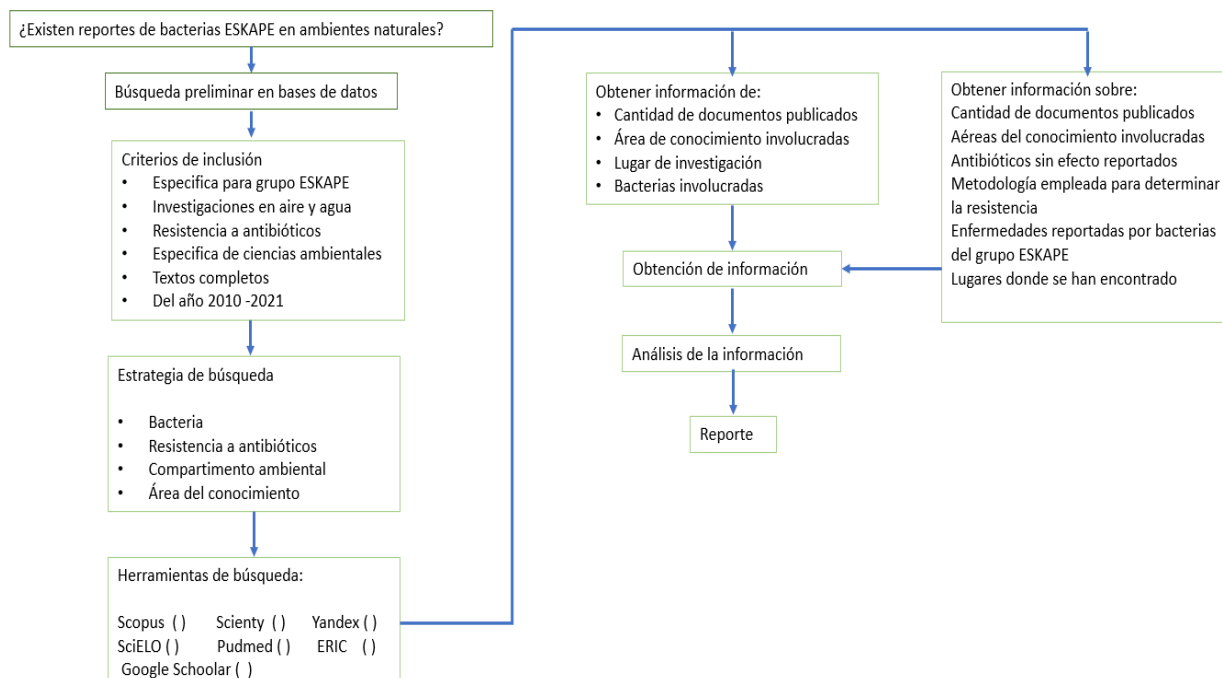


Figura 4. Diagrama de trabajo para una búsqueda bibliométrica del grupo ESKAPE

Esta metodología se empleó para realizar la búsqueda de información sobre el grupo ESKAPE, así como la búsqueda de documentos para cada uno de los patógenos, para cada una de estas búsquedas se utilizaron ecuaciones de búsqueda diferentes. Estas ecuaciones de búsqueda están conformadas por: *Nombre de la bacteria+ compartimento ambiental+ problemática*. Las plataformas que se emplearon fueron: Scopus, Scienty, Yandex, SciELO, Pudmed, ERIC y Google Scholar, una vez realizada la búsqueda se tomaron en cuenta los siguientes criterios de inclusión:

- Específica para grupo ESKAPE
- Investigaciones en aire y agua

- Resistencia a antibióticos
- Específica de ciencias ambientales
- Textos completos
- Del año 2010 -2021

Los datos de interés que se buscan para el tema ESKAPE fueron:

- Cantidad de documentos publicados
- Área de conocimiento involucradas
- Lugar de investigación
- Bacterias involucradas

Los datos de interés para las bacterias del grupo ESKAPE fueron:

- Cantidad de documentos publicados
- Áreas del conocimiento involucradas
- Antibióticos sin efecto reportados
- Metodología empleada para determinar la resistencia
- Enfermedades reportadas por bacterias del grupo ESKAPE
- Lugares donde se han encontrado
- Genes de resistencia a antibióticos reportados para cada bacteria

### **8.3 Identificación de genes específicos de patógenos ESKAPE**

Todas las bacterias del grupo ESKAPE poseen una amplia variabilidad de genes de resistencia a diferentes clases de antibióticos, sin embargo, la OMS y la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA por sus siglas en inglés) reportan los antibióticos con mayor resistencia: carbapenem, betalactámicas de espectro extendido (BLEE), vancomicina y meticilina. Para detectar los genes de resistencia específicos del grupo ESKAPE se consideró lo reportado por Kizny y col. (Kizny et al., 2017; López et al., 2016), quienes realizaron una selección de genes con base a una revisión de los últimos 20 años, indicando que existe una mayor incidencia en la resistencia a carbapenemasas y a  $\beta$ -lactamasas. La amplificación de genes específicos se realizó siguiendo la metodología reportada por López y col (López et al., 2016) con modificaciones de PCR en punto final en geles de agarosa y se tomaron las

recomendaciones de Brooke y col (Brooks et al., 2018) quienes evalúan la selección evolutiva de los genes de eflujo de todos los patógenos ESKAPE.

Se realizó un análisis bibliométrico de los documentos reportados sobre las bacterias del grupo ESKAPE en el ambiente y también se hizo un análisis de cada una de las bacterias en los diferentes repositorios digitales de diferentes revistas científicas y en especificó aquellos estudios enfocados al aislamiento de patógenos en aire y en agua. Los análisis se realizaron en la plataforma SCOPUS la cual es una de las más importantes a nivel mundial, se consideraron datos como: cantidad de artículos emitidos por año, principales fuentes de información y documentos por área del conocimiento (figura 7). De igual forma se realizó una búsqueda de los genes de resistencia de cada patógeno basados en el boletín denominado “La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos” (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2017).

#### **8.4 Elección de áreas de estudio para la toma de muestras de aire**

Con base a un escrutinio previo de la localización exacta de los hospitales en la ciudad de Puebla y la dinámica de pacientes de cada hospital, se seleccionaron tres áreas estratégicas de estudio considerando las siguientes características básicas:

- 1) área con 3 a 5 hospitales cercanos y que tengan una alta dinámica poblacional en pacientes.
- 2) área con 1 o 2 hospitales cercanos y con moderada dinámica poblacional
- 3) área sin ningún hospital

En cada una de las áreas de estudio se realizó la toma de muestras de aire en la zona aledaña al área de hospitales correspondiente a la época de primavera/verano, al mismo tiempo se documentaron las mediciones in situ de los parámetros climatológicas registradas por las estaciones meteorológicas de la red RAMM. Se documentaron los parámetros físicos que están relacionados con la dispersión y persistencia de bacterias ESKAPE en aire y efluentes cercanos a hospitales, la toma de muestra se realizara con base a la figura 5.

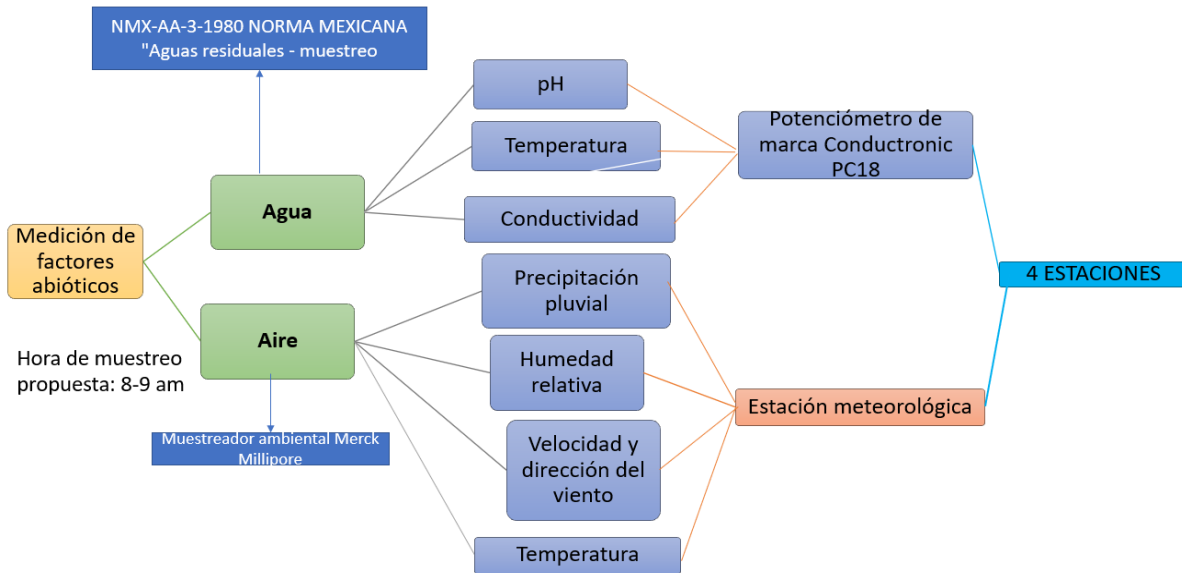


Figura 5. Diagrama de toma de muestra y medición de parámetros climatológicos

### 8.5 Toma de muestras del aire y medición de parámetros climatológicos

Para la toma de muestra de aire en las áreas de estudio, se siguieron las recomendaciones de la NOM-156-SEMARNAT-2012 “Establecimiento y operación de sistemas de monitoreo de la calidad de aire” (Norma Mexicana AA-003, 1980) y la NOM-025-SSA1-1993 "Salud ambiental, criterio para evaluar la calidad del aire ambiente" (NOM-025, 2014) y que entró en vigor a partir de diciembre del 2014, donde establecen que la cantidad de datos necesaria para la evaluación del aire se requiere un mínimo de datos de cada uno de los trimestres del año.

En el presente estudio, se utilizó el muestreador ambiental Merck Millipore (figura 6), que permite tomar diferentes volúmenes de aire y quedar impactados los bioaerosoles en cajas Petri con medios de cultivo selectivos, para recuperar patógenos ESKAPE. El funcionamiento del equipo es sencillo, el aire es aspirado a una velocidad de impacto inferior a 20 m/s por una turbina que atraviesa una rejilla estéril, la cual captura partículas de un tamaño 3 µm. el volumen de aire aspirado impacta contra la placa Petri, después del procedimiento se trasladaron todas las placas al laboratorio para ser incubadas a

37°C/24h, después del periodo de incubación se eligieron colonias sospechosas para su identificación bacteriológica y detección molecular de patógenos ESKAPE(Pérez & Sánchez, 2010).

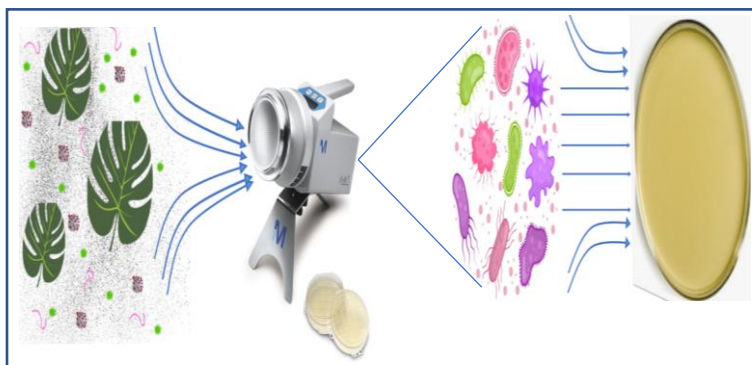


Figura 6. Funcionamiento del equipo Merck Millipore

En los puntos de estudio se realizaron los registros de los parámetros climáticos empleando las estaciones meteorológicas del sistema RAMM (Red Automática de Monitoreo Meteorológico), los datos obtenidos fueron: precipitación pluvial, humedad relativa, velocidad y dirección del viento, esto se realizó para cada muestro en las 3 estaciones del año seleccionadas.

### **8.6 Toma de muestras del agua residual y registro de sus parámetros físicos**

Las muestras del agua residual se obtuvieron atendiendo la norma NMX-AA-14-1980 NORMA MEXICANA "Cuerpos receptores - muestreo" y se trasladaron en cadena de frío hacia el laboratorio de Patogenicidad Microbiana del ICUAP, para la detección molecular de las bacterias del grupo ESKAPE. La toma de muestra del agua residual de cada área de estudio también se realizó cada estación climatológica seleccionada (primavera, verano e invierno) (Alfaro, 2019).

Se documentaron in situ los factores físicos del agua residual como: pH, temperatura, oxígeno disuelto y conductividad utilizando un potenciómetro de marca "Conductronic PC18" durante los monitoreos establecidos en las 3 estaciones del año por duplicado para posteriormente sacar un promedio y una correlación de los datos de muestras.

## ETAPA DE LABORATORIO

Se identificaron patógenos del grupo ESKAPE que están presentes en agua y aire de la zona de estudio, mediante técnicas moleculares, a partir de las muestras recuperadas, como se indica en la figura 7.

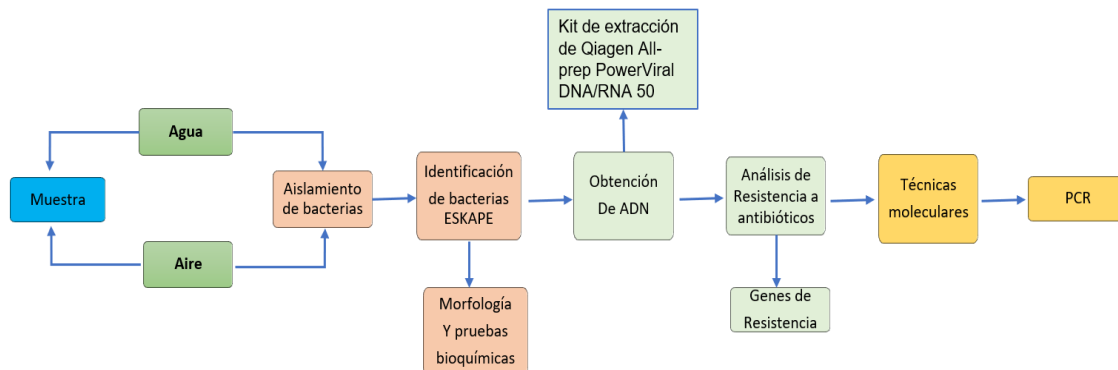


Figura 7. Diagrama de trabajo para la etapa 2

### 8.7 Aislamiento, identificación y tipificación molecular de patógenos ESKAPE a partir de las muestras del aire y del agua residual

Una vez obtenidas las placas con las muestras de aire, se colocaron en una incubadora a 36 °C por 24 horas, se verificó el crecimiento bacteriano en los diferentes medios de cultivo empleados en la toma de muestra, se seleccionaron las colonias de interés y se resembraron en placas con el mismo tipo de medio del cual fueron tomadas. Las colonias aisladas de los bioaerosoles fueron sometidas a pruebas de rutina de laboratorio para identificar la pertenencia a los géneros bacterianos del grupo ESKAPE, posteriormente se extrajo el DNA de cada una de ellas utilizando el kit Qiagen de extracción y purificación de ADN o por medio de la extracción de ADN por solventes orgánicos (véase anexo 2), para confirmar la pertenencia al grupo ESKAPE se emplearon genes específicos de cada patógeno y técnicas de biología molecular.

### 8.8 Identificación molecular de bacterias ESKAPE provenientes de aire y agua

A partir de la muestra de agua se realizaron dos metodologías, la primera metodología fue el análisis microbiológico del agua residual, el cual consiste en agregar 100 µl en extensión en placa para sembrar homogéneamente la muestra en todo el agar,

se colocaron las placas en la incubadora a 36 °C por 24 horas, después se seleccionaron colonias de interés, estas colonias seleccionadas se resembraron en una placa nueva con el mismo medio de cultivo y se incubaron de nuevo 24 horas, las colonias aisladas se identificaron por medio de pruebas bioquímicas.

La segunda metodología fue identificación es por medio de la extracción total de DNA. Para poder realizar esta metodología, primero se filtró la muestra de agua para eliminar los microorganismos de mayor tamaño como, hongos, parásitos y levaduras, con la finalidad de trabajar solo con ADN bacteriano ya que el ADN de los otros microorganismos podría causar interferencia con la búsqueda de bacterias ESKAPE. El papel filtro empleado en la filtración se lavó con caldo nutritivo por 24 horas. El caldo nutritivo con crecimiento, se realizó la extracción de ADN total siguiendo el protocolo del Kit de extracción de Qiagen All-prep PowerViral DNA/RNA 50. Posteriormente se utilizarán los primers prescritos y reportados de los genes específicos de cada género del grupo ESKAPE, finalmente se empleó la técnica de PCR tiempo final para obtener los amplicones deseados utilizando el equipo thermoscientific y la enzima DreamTaq Green PCR Máster Mix (2x) (Kizny Gordon et al., 2017). Estas metodologías se encuentran explicadas a detalle en el anexo 2.

### **8.9 Representación la dispersión de bacterias ESKAPE en el aire**

Para estimar la dispersión de patógenos ESKAPE, se siguieron las recomendaciones de la United States Environmental Protection Agency (USEPA), se empleó un modelo computacional de dispersión asociado a variables ambientales como: temperatura, presión, humedad, velocidad del viento, estación del año, dirección del viento, tamaño de partícula del bioaerosol y precipitación pluvial, con todos estos datos se estima como un bioaerosol puede dispersarse en el aire hacia diferentes lugares. Para el modelo se utilizaron dos programas de licencia libre, el primero es R estudio (con el cual se desarrolla el modelo) y C++ con el cual nos apoyamos para tratamiento de imágenes, ambos programas en conjunto nos ayuda a tratar los datos obtenidos de las estaciones meteorológicas pertenecientes a la Red Automatizada de Monitoreo Meteorológico (RAMM). En la ciudad de Puebla existen 6 de las 21 estaciones meteorológicas

pertencientes a la RAMM de las cuales se obtiene la información meteorológica de los puntos de muestreo como se observa en la figura 8.

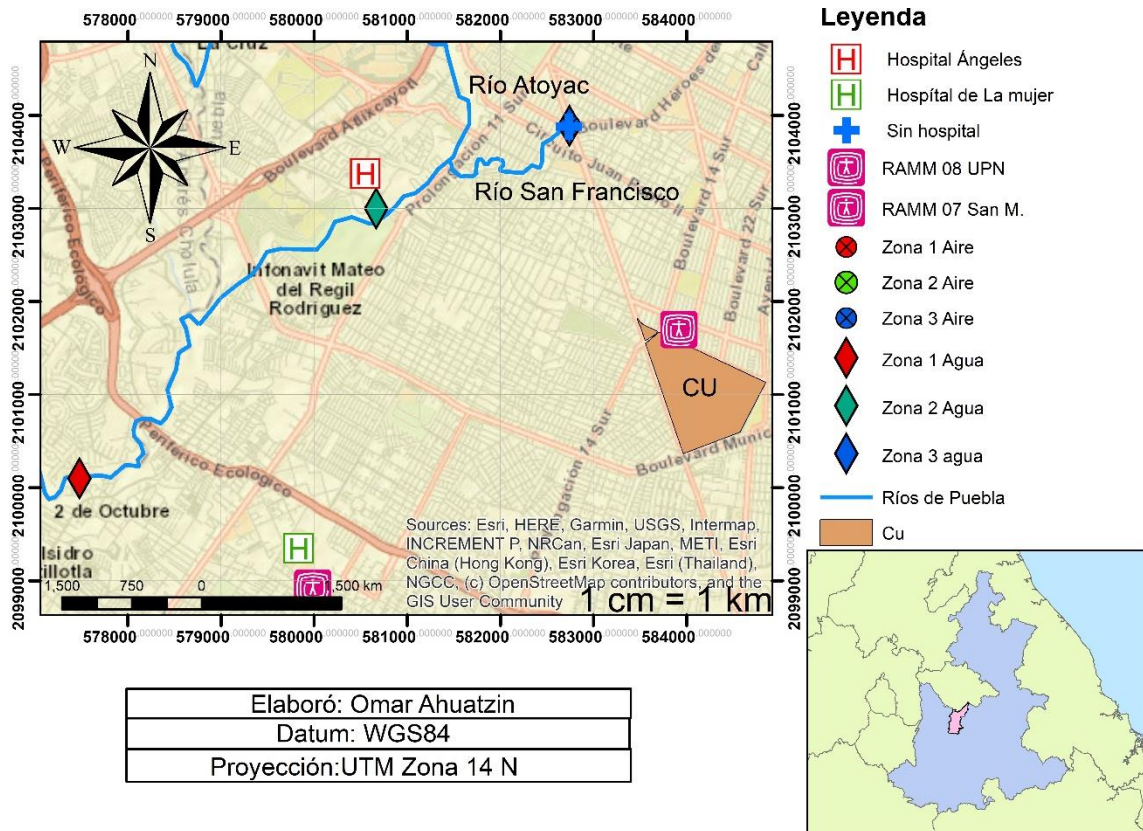


Figura 8. Mapa de las estaciones meteorológicas empleadas y su cercanía con puntos de muestreo.

## 9. RESULTADOS y DISCUSIÓN

### 9.1 Reportes nacionales de Infecciones causadas por bacterias ESKAPE

En México la detección y estadísticas de las enfermedades infecciosas en hospitales depende de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE). Dicha red consiste en un sistema de vigilancia centinela nacional, que se estableció formalmente en 1997 y cuenta con una Norma Oficial Mexicana, la NOM-045-SSA2-2005 (NOM-045, 2008). Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales, se conformaba hasta el 2015 con un total de 385 hospitales adscritos, en todo el territorio mexicano. Con dicha información se visualiza el panorama nacional de

IAAS en cada entidad federativa, destacando en primera posición la ciudad de México con más de 6900 casos desde el 1ro. de enero hasta el 31 de agosto de 2022, seguido del estado de Jalisco, México y Veracruz. Puebla se coloca en sexto lugar por el número de casos (1454) presentados en el periodo registrado, no obstante, es un número considerable para su atención y preocupación a diferencia de Nayarit con 132 casos, y este problema se agrava debido a patógenos resistentes a diversos antibióticos y al incremento de pacientes vulnerables, representando un desafío en los sistemas de salud (Figura 9) (SESA & RHOVE, 2022).

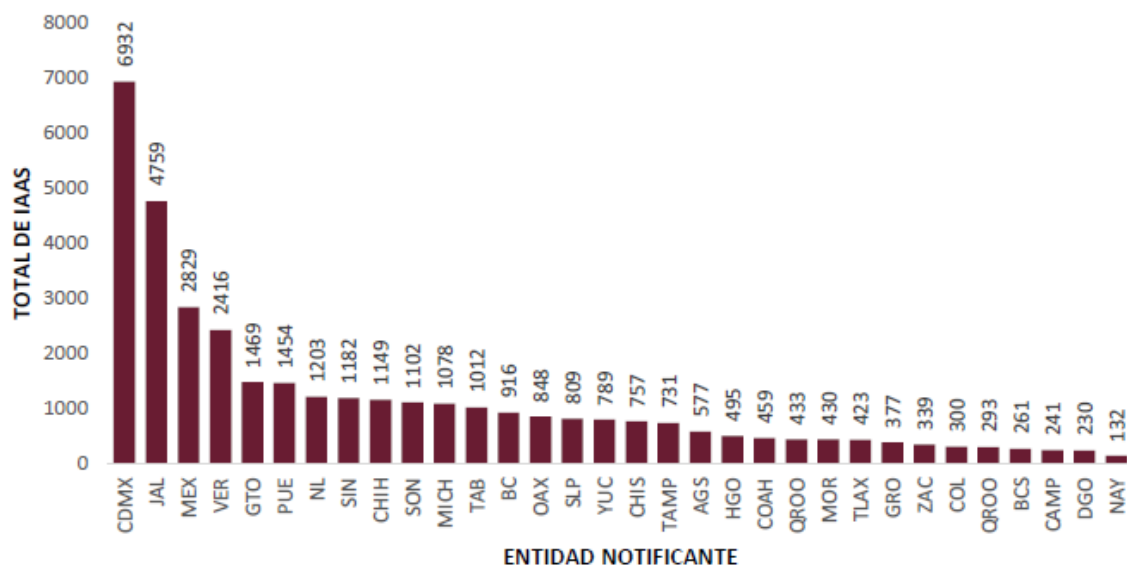


Figura 9. Número de casos de IAAS por entidad federativa 2022 (RHOVE, 2022)

El registro de casos de IAAS va cambiando cada año, entre 2014 y 2015 el Instituto nacional de estadística y geografía (INEGI, 2020) reportó 61,969 IAAS, fue la mayor proporción de infecciones notificadas en ambos años representadas por las bacteriemias y neumonías como se muestra en la tabla 2. Sin embargo, para el 2023 se reportó una ligera disminución a 58 mil IAAS, lo que denota que aún estas infecciones siguen siendo un gran problema dentro de los hospitales, por lo que, se requiere una vigilancia continua para identificar riesgos o situaciones potencialmente peligrosas para los pacientes o la comunidad hospitalaria.

Un dato muy importante asociado al grupo ESKAPE es el tipo de infecciones que generan en los pacientes hospitalarios, como se puede observar en la tabla 3, la mayor cantidad de IAAS que se reportaron en el 2023 fueron asociadas a neumonía por ventilador, seguida por infecciones en vías urinarias asociadas a catéter y por último bacteriemias, las cuales pueden estar asociadas a heridas.

Tabla 2. Número de IAAS registradas en México durante dos años consecutivos (2014-2015).

	IAAS 2014		IAAS 2015	
	n	%	n	%
<b>Infección del torrente sanguíneo*</b>	13,969	23.4	14,856	24.0
<b>Neumonías**</b>	22,930	20.0	12,851	20.7
<b>Infección de las Vías Urinarias</b>	9,463	15.9	9,750	15.7
<b>Infección de sitio Quirúrgico***</b>	9,182	15.4	9,301	15.0
<b>Otras&amp;</b>	15,155	25.4	15,211	24.6
<b>Total, IAAS</b>	59,699	10	61696	100

\* Incluye ITS confirmada por laboratorio, relacionada a catéter, relacionada a contaminación de soluciones, secundaria a procedimiento bacteriemia primaria, secundaria y no demostrada.

\*\*Neumonía: Incluye a neumonía asociada a procedimiento, asociada a ventilador, con aislamiento microbiológico y definida clínicamente.

\*\*\*Infección de sitio quirúrgico incluye superficial, profunda y de órganos y espacios & infección del sitio del catéter, infecciones de piel y tejidos blandos, conjuntivitis, gastroenteritis, infección de úlceras de decúbito, endometritis, etc. (DGE, 2017)

Tabla 3. Porcentaje de IAAS registradas en México durante el 2023 (Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica et al., 2024)

	Tipo de infección	Número	%
<b>1</b>	Neumonía asociada a ventilador	8,439	14%
<b>2</b>	Infección de vías urinarias asociadas a catéter	7,402	13%
<b>3</b>	Infección de torrente sanguíneo asociada a catéter	4,409	8%
<b>4</b>	Infección incisional profunda	3,836	7%
<b>5</b>	Neumonía definida clínicamente	3,687	6%
<b>6</b>	Infección de torrente sanguíneo confirmada por laboratorio	3,304	6%
<b>7</b>	Infección en piel y tejidos blandos	3,226	6%
<b>8</b>	Infección incisional superficial	3,140	5%
<b>9</b>	Bacteriemia primaria	2,971	5%
<b>10</b>	Bacteriemia no demostrada	2,562	4%
	Total	42,976	74%
	Total, global	58,604	100%

Las enfermedades que más se reportaron en los hospitales de México durante el 2023 fueron aquellas relacionadas al uso de ventiladores como la neumonía, seguidas por las infecciones urinarias e infecciones del torrente sanguíneo por el uso de catéteres, también se reportaron infecciones de heridas quirúrgicas que ocurren dentro de los 30 primeros días después del procedimiento quirúrgico y finalmente las infecciones definidas clínicamente y las bacteriemias (Tabla 4). Estas últimas fueron reportadas con mayor incidencia en hospitales públicos del SESA y las neumonías fueron más frecuentes en el ISSSTE. El grupo de edad con mayor vulnerabilidad en adquirir infecciones en los hospitales son los niños menores de un año de edad y los adultos mayores de 60 años, en el caso de los niños es por la falta de madurez de su sistema inmunológico y en el caso de los adultos es debido por la disminución de su sistema inmunológico (figura 10).

Tabla 4. Porcentaje de infecciones nosocomiales reportadas por las principales instituciones públicas de salud en México.

Prevalencia*	Global	SESA	IMSS	ISSSTE	P*
<b>General</b>	21%	21%	21%	22.5%	0.560
<b>Bacteriemias</b>	1.4%	2.0%	1.1%	0.9%	0.023
<b>Neumonías</b>	7.8%	7.9%	6.9%	9.0%	0.144

Tasa de infecciones nosocomiales detectadas durante la visita de evaluación por 100 pacientes hospitalizados con criterios de inclusión del estudio.

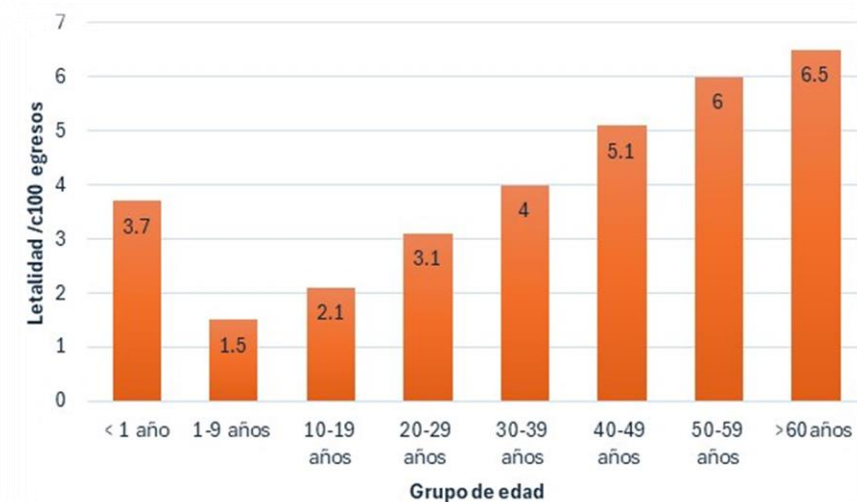


Figura 10. Grupos de edad asociados a IAAS en los hospitales de México (DGE, 2024)

De las IAAS reportadas en México durante el 2023, se encontró que el principal patógeno causal de estas infecciones es: *Escherichia coli*, seguida de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus*, dichos patógenos concuerdan con las bacterias que se requiere una vigilancia epidemiológica especial a nivel internacional, ya que pertenecen al grupo ESKAPE. (Figura 11) (DGE, 2017).

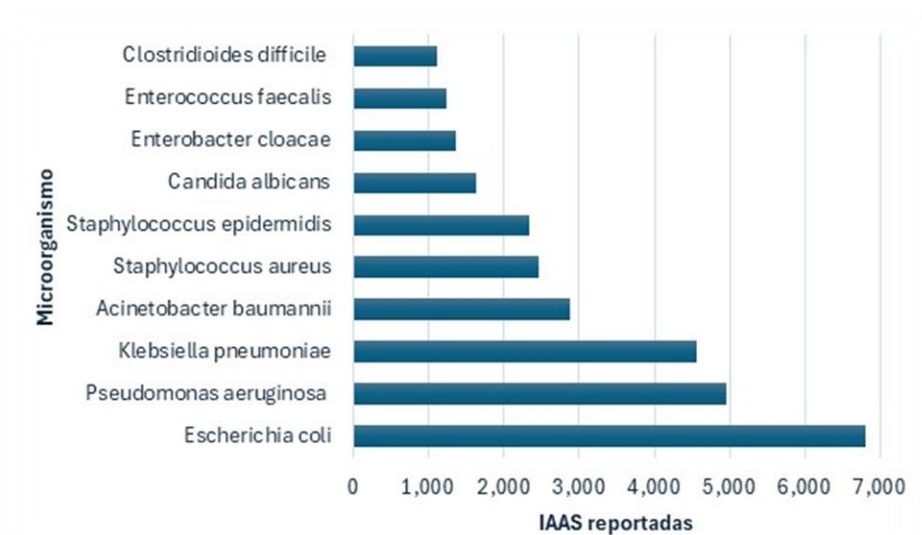


Figura 11. Principales patógenos aislados de IAAS en los hospitales de México (DGE, 2024)

## 9.2 Reportes de estudios realizados del grupo ESKAPE en el área ambiental

Tras el uso de la palabra “ESKAPE” en la plataforma SCOPUS se identificaron más de 1300 documentos (artículos de investigación y revisión) existentes en el periodo 2010-2021, dicho acrónimo está utilizado en todas las áreas del conocimiento al menos en un 2%. En el gráfico de registro de documentos, se observa solo un reporte del tema ESKAPE en el 2008, a partir del 2015 existe un aumento de los documentos, llegando a un número considerable de artículos entre el 2019 y 2020 con más de 104 artículos en cada año, en el 2024 se ha encontrado más de 300 documentos y se espera que cada vez vaya en aumento, debido al problema latente de resistencia antimicrobiana (Figura 12).

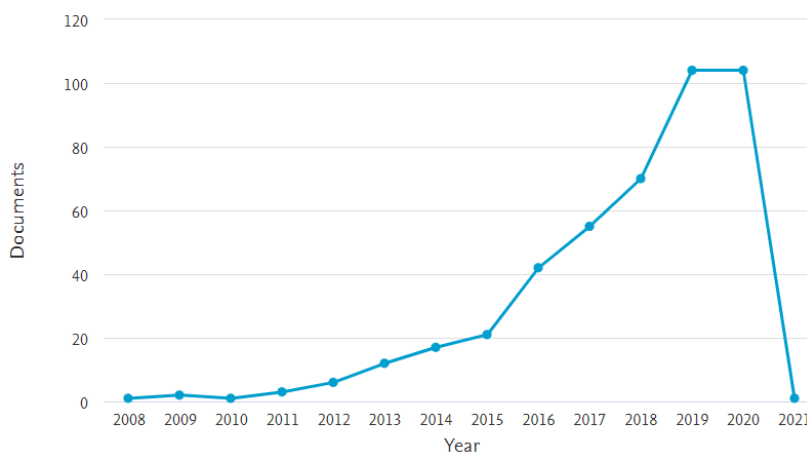


Figura 12. Documentos científicos reportados durante 2010-2021, donde se ha reportado el grupo ESKAPE en el área ambiental 0. Fuente SCOPUS

En el análisis de los documentos reportados sobre los patógenos ESKAPE en las diferentes áreas del conocimiento, se destaca el área de la medicina con 207 artículos, esto se deba posiblemente a los reportes anunciados por el número de casos de IAAS, que han sido ocasionados por patógenos resistentes en las áreas hospitalarias. Posteriormente, sigue el área de bioquímica, farmacología e inmunología con más de 161 documentos, a diferencia de 16 documentos reportados en el área de ambientales, por lo que, se considera que dicho tema debería ser importante en todas las áreas del conocimiento relacionadas con el sector salud, pero ha sido poco profundizada en áreas ambiental (Figura 13). En el análisis de documentos durante este periodo (2010 - 2021) se destaca la aportación de estudios realizados por investigaciones estadounidenses con 164 documentos a comparación a los 14 documentos realizados en nuestro país (Figura 14), dando pie a la necesidad de monitorear dichos patógenos tanto en áreas hospitalarias como en el ambiente.

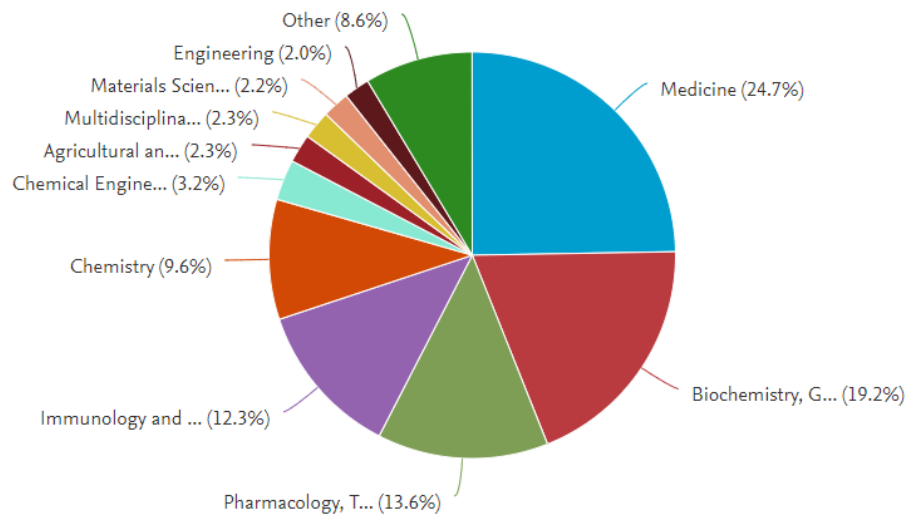


Figura 13. Áreas del conocimiento donde se ha publicado el tema ESKAPE (2010-2020). Fuente SCOPUS.

También existen documentos de divulgación científica que dan a conocer el tema de los patógenos ESKAPE, resaltando la problemática mundial debido a su resistencia antimicrobiana y a la difícil tarea de combatirlos. En dicho acervo del 2015 al 2020, destaca la divulgación microbiológica, seguida de los reportes de agentes antimicrobianos y las cartas al editor, en comparación con los documentos de la microbiología ambiental solo se encontraron dos (Figura 15).

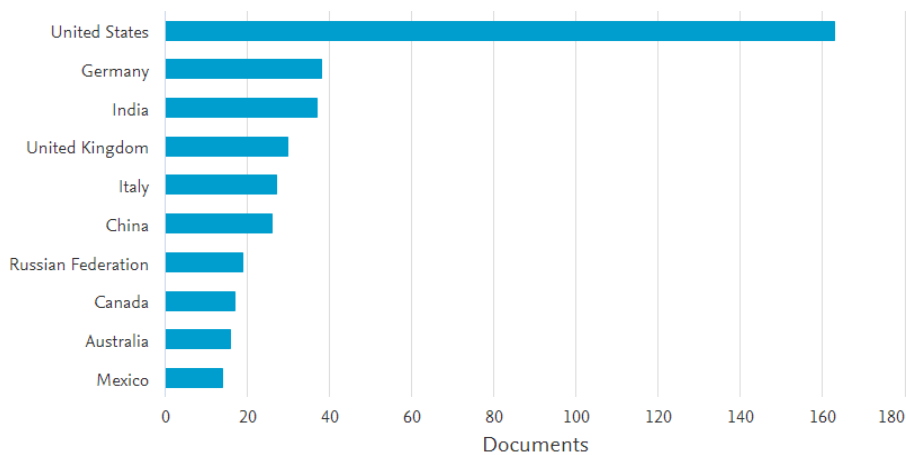


Figura 14. Regiones con mayor número de estudios realizados con patógenos

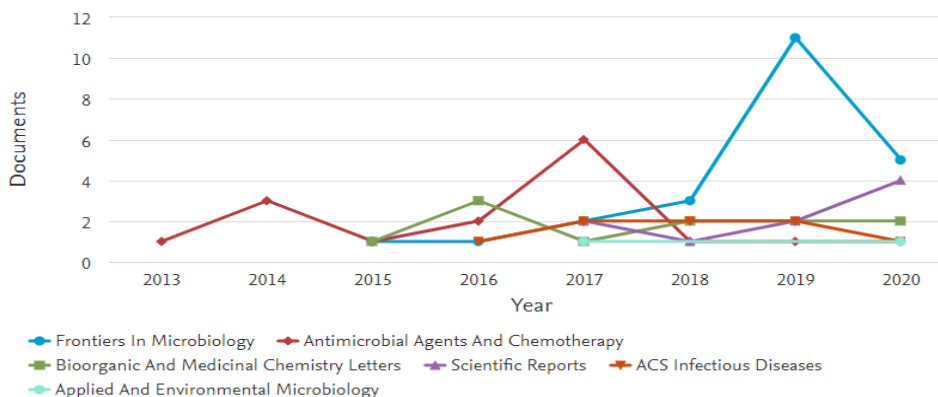


Figura 15. Publicaciones de divulgación científica que reportan el grupo ESKAPE.

### 9.3 Documentos que reportan la presencia de patógenos ESKAPE en agua y aire.

A partir del escrutinio anterior, se realizó un análisis detallado de los documentos y se seleccionaron aquellos que reportaran la presencia de los patógenos del grupo ESKAPE en agua y aire. Tras realizar dicho análisis se encontró que en diferentes cuerpos de agua como, ríos, lagos, agua potable y agua residual reportan la presencia de dichos patógenos, destacando la presencia de *Staphylococcus aureus* en 349 documentos, seguida por *Klebsiella pneumoniae* con 249, en tercer lugar esta *Pseudomonas aeruginosa* con 140 y *Enterococcus faecium* con 134, *Acinetobacter baumannii* y *Enterobacter spp* son las menos reportadas, sin embargo, se pudieron localizar 31 y 21 documentos respectivamente, es importante recordar que dichos documentos se encuentran en el área del conocimiento ambiental, por lo que no se descarta la posibilidad de encontrar otros documentos relacionados con el tema, además, conforme va avanzando el tiempo existen más reportes científicos dedicados a la detección de los patógenos en cuerpos hídricos, destacando solo tres patógenos del grupo ESKAPE: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* (Figura 16). La cantidad de documentos hallados en este estudio se relaciona con la importancia de cuidar y monitorear la calidad microbiológica del agua, debido a

que el recurso hídrico es vital para el ser humano e indispensable para todas sus actividades, por lo tanto, el agua contaminada con patógenos se vuelve extremadamente peligrosa para beber y representa un riesgo para la salud humana, además altera el ecosistema y las cadenas tróficas. Dado este escenario, diversos trabajos se han centrado en la contaminación microbiana del agua por uno o varios patógenos, como el realizado por Some y colaboradores en 2021, donde han reportado la presencia de bacterias multirresistentes capaces de causar una epidemia de enfermedades transmitidas por el agua.

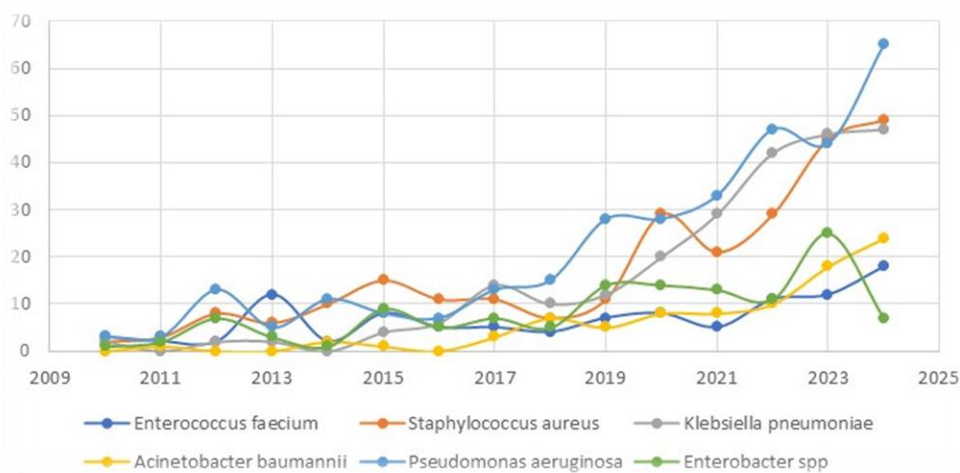


Figura 16. Número de publicaciones que reportan cada uno de los patógenos

En la selección de documentos que reportan bacterias ESKAPE en aire, se observó que existen una menor cantidad en comparación con lo reportado en cuerpos hídricos, el hallazgo indicó que es un tema ambiental fértil para su investigación, ya que no se han realizado los suficientes estudios sobre las causas y consecuencias de encontrar estas bacterias ESKAPE fuera de ámbito hospitalario. Sin embargo, el hallazgo de estos reportes indica que se han encontrado patógenos en el aire con resistencia antimicrobiana como: *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter baumannii*, se encontraron 29 documentos de cada una de estas bacterias partir del 2010 al 2021, seguidas por *Klebsiella pneumoniae* con 23 documentos, *Enterococcus faecium* con 14 reportes, mientras las bacterias con menor documentos publicados fueron:

*Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp* con 5 y 4 respectivamente. A partir del 2021 a la fecha, existe un aumento de los reportes científicos donde se halla la presencia de *Staphylococcus aureus* en espacios abiertos y con clima frío, asociado a infecciones respiratorias en diferentes regiones con temperaturas bajas. También aumentaron los reportes de *Pseudomonas aeruginosa* causante de neumonía, seguida de *Acinetobacter baumani* y de *Klebsiella pneumoniae*, en comparación con lo hallado en cuerpos hídricos hasta alcanza un total de 62 documentos (Figura 17). Aunque hasta el momento existan pocos documentos de este tema, está reportado que las actividades humanas como el comercio, la industria y la movilidad vial contribuyen a la producción de desechos biológicos, físicos y químicos, emitiendo material particulado que ayuda al camuflaje de bacterias, hongos o virus del suelo, del agua o de una planta y/o microbiota humano para dispersarse en ambientes exteriores debido a las corrientes del aire, dichas partículas con entidades microbianas son denominadas bioaerosoles y durante los últimos diez años ha incrementado sus estudios (Ruiz-Gil et al., 2020).

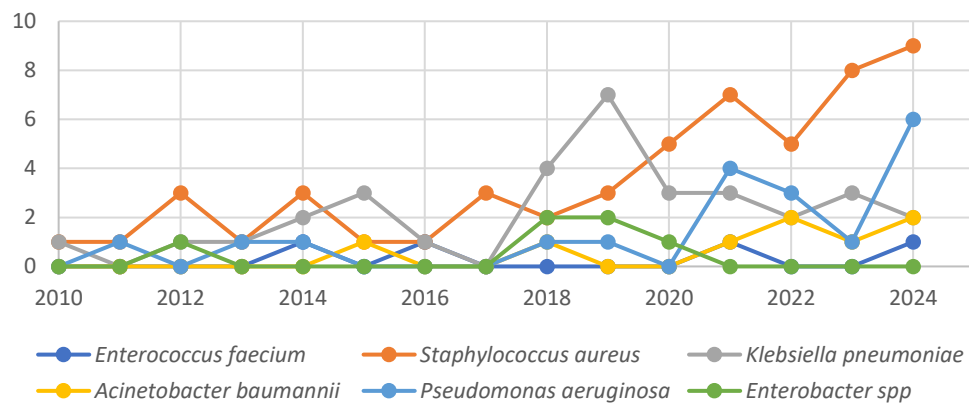


Figura 17. Número de publicaciones que han reportado cada uno de los patógenos

Se realizó un análisis de las áreas del conocimiento con los documentos anteriores, donde han registrado la presencia de cada uno de los patógenos ESKAPE en cuerpos de agua y en aire. Para el caso de los documentos dedicados al estudio de la contaminación hídrica por la presencia de estos patógenos, se encontró que

*Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* han sido las bacterias que más se han reportado en el área del conocimiento de las ciencias ambientales con un 57%, hecho que concuerda, con lo reportado por Mécik y colaboradores en ( 2024) quienes reportan la prevalencia de ambas bacterias en aguas residuales hospitalarias y municipales, se caracterizan por producir biopelículas que le permiten sobrevivir y colonizar el agua y el suelo, ambos son patógenos oportunistas capaces de evadir la acción de diversos antibióticos, su búsqueda en el agua se debe a que es un reservorio clave para la adquisición de genes de resistencia (Adegoke et al., 2020). Además de encontrar estos patógenos en el área ambiental, también se encontraron en otras áreas del conocimiento como la medicina, la química y la agricultura con un 12%, 11% y 6% respectivamente (Figura 18).

Del acervo estudiado, el siguiente patógeno que tiene mayor número de documentos por ser un contaminante en cuerpos de agua fue *Enterobacter spp.* con un 45%, seguido de *Enterococcus faecium* con un 39%, posteriormente *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* con un 18% y 17% respectivamente (Figura 18). Todos estos documentos recomiendan que es indispensable monitorear los patógenos en los cuerpos de agua, para notificar los posibles brotes infecciosos, al mismo tiempo se deben observar las tendencias en la resistencia antimicrobiana como una necesidad inmediata de resguardar y mejorar la calidad del agua para proteger a la población de enfermedades, tal como lo propone Some, et al (2021) al realiza una revisión de documentos de la contaminación microbiana del agua.

Por otra parte, los documentos que mayormente reportan *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* están enfocados en el área médica con un 43% y 44% respectivamente, en dichos documentos se destaca la preocupación científica por encontrarse en áreas hospitalarias, causando de enfermedades respiratorias del tracto respiratorio superior e infecciones del tracto gastrointestinal, en algunos casos si no están controladas las infecciones pueden causar juntas una muerte por bacteriemia (Deodatus et al., 2021).

Con el acervo de documentos encontrado, se puede observar que todos los patógenos del grupo ESKAPE han sido reportados en diferentes áreas del conocimiento, por lo que, se puede analizar a profundidad algunos aspectos de resistencia que han adquirido a través del tiempo.



Siguiendo el análisis de los documentos, se observó que en las diferentes áreas del conocimiento se ha reportado la presencia de al menos uno los patógenos ESKAPE en el aire, por ejemplo, en el área ambiental se ha reportado la presencia de *Staphylococcus aureus* con un 51% de los documentos y *Pseudomonas aeruginosa* con un 50%, en estudios realizados de ambientes exteriores (Figura 19). Diversos estudios han demostrado que las partículas de un aerosol de origen biológico provienen de un alto porcentaje del cuerpo humano, como la piel, secreciones orales y respiratorias, emitidas por tos, estornudos y conversaciones, de tal forma que una persona enferma puede depositar una cantidad considerable de bacterias en el aire, sin embargo, la sobrevivencia de cada microorganismo en el aire varía, para el caso de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* pueden sobrevivir en condiciones desfavorables durante un largo periodo, incluso varios meses en superficies secas sin dejar de ser contagiosas para humanos (Kozajda et al., 2019). Ambos patógenos son la causa más común de las infecciones crónicas de heridas y cuando se encuentran juntas resultan ser las peores infecciones para el paciente (DeLeon et al., 2014).

De acuerdo con el análisis, se observó que en el área de la medicina el 55% de los documentos reportaron la presencia de *Acinetobacter baumannii* en el aire de lugares cerrados de los hospitales, como son las unidades de cuidados intensivos, seguidos por *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium* y *Enterobacter spp.*, cada patógeno con un 46% de los documentos publicados (Figura 19). Las áreas más comunes donde se publica el estudio de estos patógenos son la medicina, inmunología, farmacología y las ciencias biológicas, sin dejar atrás el área de las ciencias ambientales, en todas estas áreas se denota la preocupación por la existencia de patógenos con perfiles de resistencia antimicrobiana a más de tres o cuatro tipos de antibióticos, por lo que, los autores de los documentos recomiendan dar seguimiento a dichos patógenos, registrar las principales fuentes de emisión e identificar los principales factores que regulan su dispersión y viabilidad (Carrazana et al., 2023). Otros documentos destacan el deterioro y el impacto que causan los patógenos en los ecosistemas, así como en los componentes dentro de ellos (personas, animales plantas, otros organismos biológicos) que interactúan en un mismo compartimento ambiental (Ruiz-Gil et al., 2020).

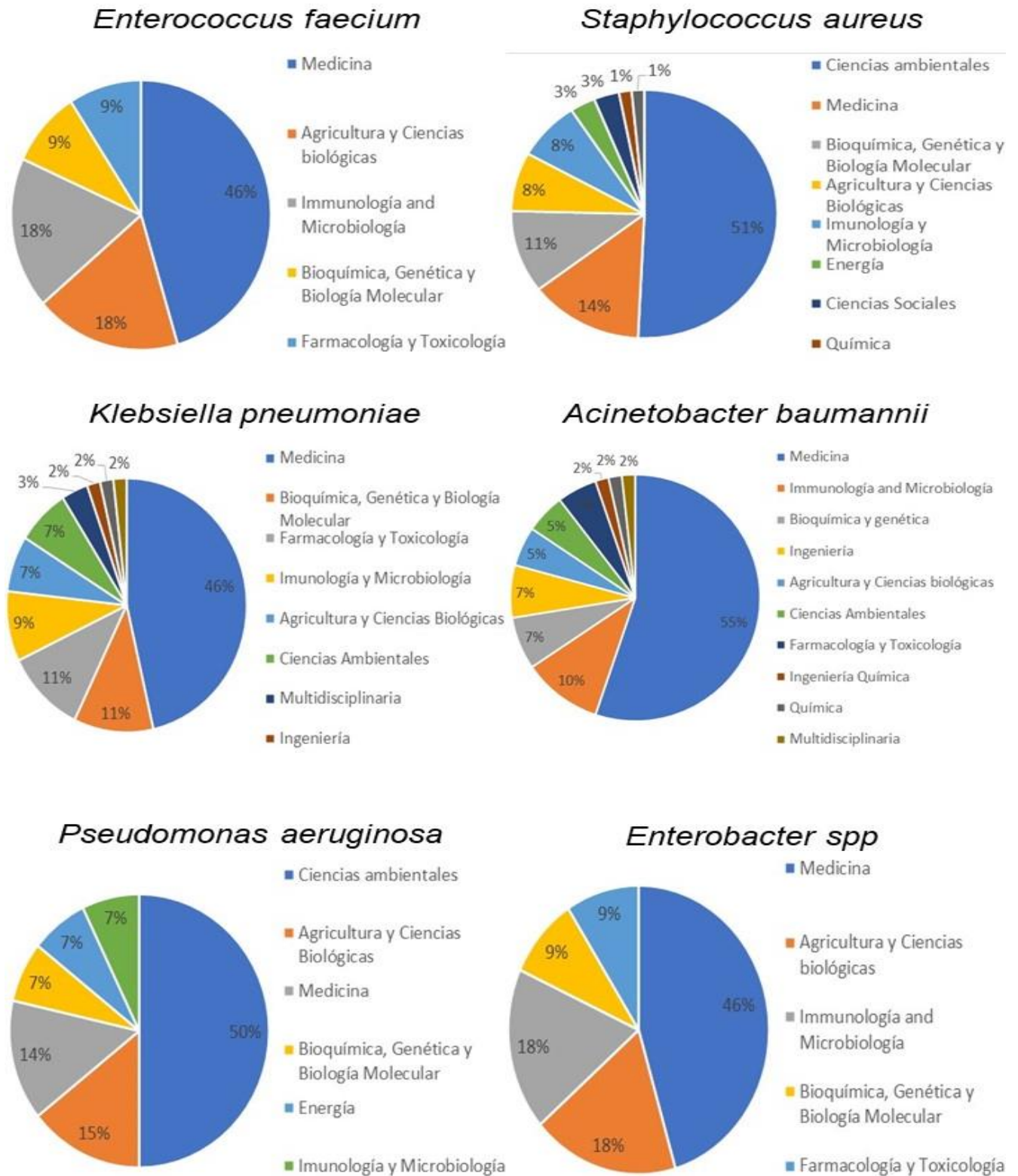


Figura 19. Comparación de los documentos publicados de cada patógeno ESKAPE en el aire y reportados en las diferentes áreas del conocimiento.

#### 9.4 Perfiles de resistencia antimicrobiana de los patógenos ESKAPE.

Tomando en cuenta la lista que publicó la OMS (OPS & OMS, 2021) y su importancia para su estudio, se realizó una investigación bibliográfica de las resistencias a los diferentes antibióticos que presentan, los resultados se muestran en la tabla 5. Como se observa ya todas bacterias pertenecientes al grupo ESKAPE son multirresistentes a antibióticos, sin embargo, la OMS menciona en su comunicado que es importante la investigación en torno a la resistencia que presentan en el antibiótico de primera elección. Es importante mencionar, que existen varios grupos de antibióticos, sin embargo, no todos son efectivos para tratar las enfermedades producidas por todas las bacterias, por ello es importante encontrar mejores antibióticos que se ha visto que sean efectivos contra determinado microorganismo.

Tabla 5. Resistencia a antibióticos que presenta cada bacteria del grupo ESKAPE

Bacteria	Principal resistencia	Resistencia secundaria	Referencia
<b><i>E. faecium</i></b>	Vancomicina	Doxiciclina Eritromicina Gentamicina Kanamicina Estreptomicina Tetraciclina	(Hamarova et al., 2021; Powers et al., 2020; Terra et al., 2019)
<b><i>S. aureus</i></b>	Meticilina Vancomicina	A todos los betalactámicos Cloranfenicol Macrólidos Lincosamidas Aminoglucósidos Fluoroquinolonas	(Gu et al., 2020; Lykov & Volodkin, 2021a; Mairi et al., 2019)
<b><i>K. pneumoniae</i></b>	Ampicilina	Amoxicilina/ácido clavulánico Nitrofurantoína Cefalosporinas 3ra.g Fluoroquinolonas Carbapenems Colistin	(Furlan et al., 2020; Lepuschitz et al., 2019; Thamlikitkul et al., 2019a)
<b><i>A. baumannii</i></b>	Carbapenémicos	Ceftazidima, Piperacilina Colistina	(P. C. Brown et al., 2019; Savin et al., 2020; Voigt et al., 2020)
<b><i>P. aeruginosa</i></b>	Carbapenémicos	Septan Gentamicina Tobramicina	(Baghal Asghari et al., 2021; Falodun & Ikusika, 2020; Thamlikitkul et al., 2019b)

		Ofloxacina Levofloxacina	
<i>E. spp</i>	Ampicilina Amoxicilina	Cefepime Cefpirome	(Lykov & Volodkin, 2021b; Suzuki et al., 2020; Zatsarinnaya et al., 2019)

Para continuar con el análisis biométrico de las diferentes bacterias, se realizó un análisis genético en los diferentes repositorios de artículos, como menciona un comunicado de la OMS denominado “La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos”, esta lista es de alta relevancia ya que muestra las bacterias que han presentado resistencia a los medicamentos de primera elección, los cuales son los más efectivos para tratar enfermedades relacionados con dichos microorganismos. Al realizar un análisis minucioso encontramos un total de 4 bacterias ESKAPE, las cuales según el sistema de prioridad para su atención dado por la OMS se tiene que; en prioridad 1 (critica) se encuentran bacterias ESKAPE como *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos, *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a los carbapenémicos. En prioridad 2 (elevada) encontramos a *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina, *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la vancomicina. Sin embargo, fue una sorpresa no encontrar 2 bacterias las cuales complementaria al grupo ESKAPE dentro de esta lista las cuales son, *Klebsiella pneumoniae* resistente principalmente a ampicilina y *Enterobacter spp* resistente principalmente a ampicilina y amoxicilina.

#### 9.4.1 Genes de resistencia de los patógenos ESKAPE.

Una vez que se obtuvo la principal resistencia de cada bacteria, se realizó una búsqueda en los diferentes bancos de genes. Con la finalidad de encontrar el gen que confiere la resistencia del antibiótico de interés de la OMS. Como se observa en la tabla 6 se realizó un compendio de los genes de resistencia que presentan más comúnmente el grupo ESKAPE. Cabe aclarar que la tabla se presentan las resistencias que presenta cada bacteria según la OMS, hay varias bacterias que presentan una gran cantidad de genes de resistencia ya sea a uno o más antibióticos, esto es debido que la OMS menciona que existen organismos en esta lista que presentan uno o más resistencias.

Además, existen varios genes que codifican a la misma resistencia y lo presentan las bacterias.

En la tabla 6 se muestran un total de 32 genes de resistencia repartidos en las 6 bacterias ESKAPE que se han descrito, como se observa los genes que codifican a un mecanismo de resistencia hacia los betalactámicos (generación de betalactamasas) son los que se presentan en mayor cantidad dentro de estas bacterias, incluso existen genes como *blaKPC* que se encuentran en dos (o como en este caso) o 3 bacterias diferentes, los genes que se han encontrado en dos bacterias diferentes son; *blaTEM3*, *blaSHV1*, *blaVIM*, *blaIMP*, *blaNDM*, *blaOXA48* y *blaGES*, estos son los únicos genes que presentan coincidencia con diferentes bacterias, los demás genes no repiten y son específicos para los diferente microorganismos.

Con relación al número de resistencias que presentan, la bacteria con más genes de resistencia presenta es *Klebsiella pneumoniae*, esta bacteria presentó un total de 11 genes de resistencia de los cuales 8 codifican a betalactámicos, 2 a quinolonas y 1 a misceláneos. La siguiente bacteria con una gran cantidad de genes de resistencia es *Pseudomonas aeruginosa* presenta 9 genes de resistencia a betalactámicos mientras que *Acinetobacter baumannii* cuenta con 6 genes de resistencia a betalactámicos. *Enterococcus faecium* presenta 5 genes de resistencia a gluco péptidos, más específicamente a resistencia vancomicina. *Enterobacter spp* presenta 3 genes de resistencia a betalactámicos y por último *Staphylococcus aureus* cuenta con dos genes de resistencia a betalactámicos, específicamente a penicilinas.

Es importante mencionar que estos genes son únicamente los antibióticos que la OMS menciona en su listado de bacterias, aun no se han tomado en cuenta los diferentes genes que presentan las bacterias que les confiere la multirresistencia a varios antibióticos de primera o de segunda elección. Ya que se ha determinado que la mayoría (aún no se confirma que todas) presentan resistencia más de dos antibióticos, por ende, este grupo de bacterias sigue siendo de alta importancia clínica.

Tabla 6. Genes seleccionados para la tipificación de Patógenos del grupo ESKAPE pertenecientes al aire y agua

Bacteria	Gen
Enterococcus faecium	<i>ddlE</i> (d-Ala-d-Ala ligase)
Staphylococcus aureus	nuc
Klebsiella pneumoniae	blaKPC-D
Acinetobacter baumannii	OXA-48
Pseudomonas aeruginosa	exoA
Enterobacter spp	16S rRNA

### 9.5 Características generales de las zonas hospitalarias seleccionadas.

En la ciudad de Puebla se cuenta con un total de 27 hospitales que varían entre públicos y privados, de los cuales se tomaron de forma arbitraria 4 hospitales que cumplen los criterios de inclusión para el presente proyecto, los hospitales son: el hospital de la mujer y el hospital general de la zona sur (ambos con alta dinámica poblacional), hospital Puebla y el hospital Ángeles (ambos con media dinámica poblacional). El estado de Puebla cuenta con una población de 4,650,982 derechohabientes adscritos a algún seguro de salud, de los cuales, 1,445,433 pertenecen al IMSS, 218,559 al ISSSTE, 97,861 al ISSSTE estatal y 90,326 están asegurados a instituciones privadas (SCOPUS., 2020). Los datos estadísticos pertenecientes a cada uno de los hospitales no se dan a conocer de manera pública, ni siquiera al INEGI por lo cual es muy difícil tener una certeza de la cantidad de pacientes que asisten a estos hospitales, tampoco se sabe si son hospitales adscritos al sistema RHOVE o si presentan estadísticas de problemas con bacterias nosocomiales. Para conocer los datos estadísticos es necesario hacer trámites en el departamento de estadística de cada hospital y aun así no es seguro obtener esa información y más si son hospitales particulares.

El hospital de la mujer es un hospital público, sin embargo, no ofrece servicios a personas los cuales no tengan un seguro a la salud, se debe estar afiliado al seguro popular. Su dinámica poblacional es alta y da tratamientos especializados en ginecología y obstetricia.

El hospital general del sur tiene unas condiciones similares al hospital de la mujer, para tener atención médica es necesario contar con algún tipo de seguro y vivir en un radio cercano al hospital, es un hospital de alta dinámica por el crecimiento demográfico elevado que ha presentado la zona en últimos años, este hospital es general por lo que cuenta con la mayoría de los departamentos para brindar atención a la ciudadanía.

El hospital Puebla, tiene una dinámica poblacional media con atención particular, es pago por derecho a la atención y está abierto a todo público y no requiere afiliación o ser derechohabiente, sin embargo, la atención médica también se puede brindar a sectores u organizaciones que tengan convenio con ellos y generalmente los costos disminuyen, cuenta con una infraestructura ideal para tratar problemas sencillos de salud hasta problemas más complejos como cirugías oncológicas o incluso cirugías plásticas.

El hospital Ángeles es una institución privada de alta especialidad con una mínima dinámica poblacional y por pago por derecho a la atención, al ser uno de los hospitales más caros del Estado de Puebla, no requiere afiliación, cuenta con instalaciones de alta tecnología, además su catálogo de servicios va desde consulta externa hasta cirugías mayores. Todos los puntos de muestreo se muestran en la figura 20.



Hospital Ángeles

Hospital de la mujer

Prados Agua azul

Figura 20. Zonas hospitalarias de estudio

### 9.5.1 Georreferenciación y elección de los puntos de muestreo de aire y de agua residual

Al hacer un reconocimiento de las zonas de muestreo in situ se seleccionaron los puntos para la toma de muestras de agua y de aire, considerando la accesibilidad del terreno y cercanía al área hospitalaria. Para el caso de la toma de muestra del agua se seleccionaron dos puntos de muestreo, debido a la dificultad de terreno para la toma de muestra y lo inaccesible, la elección de los puntos se muestra en la tabla 14 en coordenadas:

Tabla 7. Registro de coordenadas de los sitios de muestreo

Área de Muestreo	Hospital	Coordenadas
Zona 1 de aire	Hospital de la mujer y hospital general del sur	18°59'9.88"N, 98°14'32.91"O
Zona 1 de agua	Hospital de la mujer y hospital general del sur	18°59'31.36"N, 98°15'51.51"O
Zona 2 de aire	Hospital Ángeles. Hospital Puebla	19° 1'16.99"N, 98°14'10.29"O
Zona 2 de agua	Hospital Ángeles. Hospital Puebla	19° 1'3.62"N, 98°14'0.50"O
Zona 3 de aire	Zona sin Hospitales	19° 1'32.30"N. 98°12'50.80"O
Zona 3 de agua	Zona sin Hospitales	19° 1'32.41"N, 98°12'50.49"O



Figura 21. Zonas de muestro para la toma de muestra de agua residual:(Cúmulo de Virgo)

Se realizó un mapa con el programa AGIS para identificar los puntos de muestreo, de color rojo se muestra el punto numero 1 el cual corresponde al hospital de la mujer y al hospital de la zona sur de Puebla (hospitales con alta dinámica poblacional y con dos hospitales cercanos), de color verde se muestra la zona de muestreo 2 perteneciente al hospital Ángeles (hospital con media dinámica poblacional), en color azul se muestra la zona con baja dinámica población perteneciente a una zona son hospitales. Se muestran también polígonos de colores, de color rojo se marca el complejo hospitalario perteneciente a la zona de muestreo 1, de color verde se muestra el hospital Ángeles y modo de punto de referencia se muestra el color azul la zona de muestreo 3 en la zona de Prados de Agua Azul, donde se encuentra la salida del Río San Francisco. Los puntos de muestreo del aire están situados en la figura 22, dicha muestra se logró con ayuda del muestreador ambiental Merck Millipore obtendremos las muestras de microorganismo aéreos, cabe destacar que estos puntos no tuvieron modificación. Con relación a las tres áreas seleccionadas para el muestreo atmosférico, se efectuó un análisis hidrográfico de cada una de ellas (figura 23). Se realizó un recorrido a campo abierto de cada área, con la finalidad de hallar el punto de descarga más cercano al área de estudio, además de fácil acceso para tomar la muestra de agua residual. La toma de muestra de agua residual y el registro de parámetros ambientales se realizó in situ y en los 4 periodos estacionales del año de estudio.

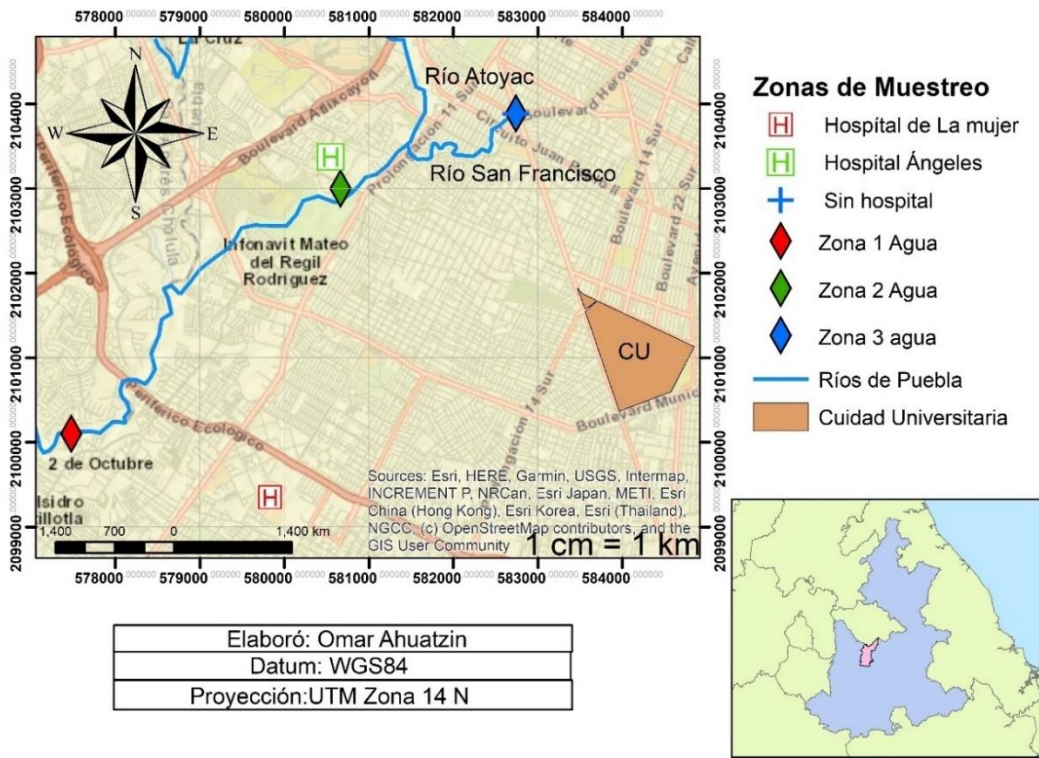


Figura 22. Puntos de muestreo para la toma de muestras del agua residual

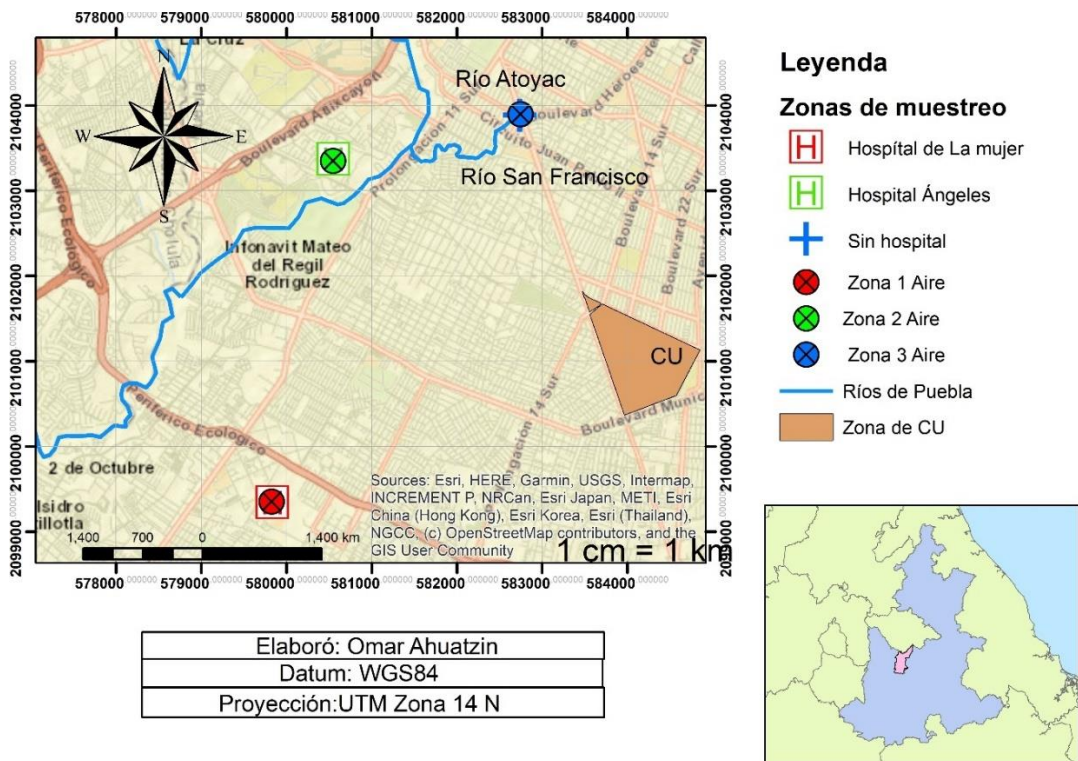


Figura 23. Puntos de muestreo de aire en la ciudad de Puebla.

## **9.6 Registro de las características climatológicas y de los parámetros físicos del agua residual**

Una vez seleccionados los puntos de muestreo de aire y agua, se procedió a realizar la toma de muestra para cada punto, la cual una de las primeras actividades fue realizar la medición los parámetros. En el caso del agua, los parámetros físicos fueron registrados in situ, tras realizar la toma de muestra de agua. Para el caso del aire los registros de los parámetros climatológicos fueron solicitados en la Red Automatizada de Monitoreo Meteorológico (RAMM) de la ciudad de Puebla, en el que se registra a través un dispositivo móvil con internet los datos en tiempo real de los parámetros climatológicos, dichos registros se solicitaron de la estación meteorológica más cercana al punto de muestreo. Los datos se presentan a continuación.

### **9.6.1 Características climatológicas del punto 1 de muestreo y registro de los parámetros físicos del agua residual.**

En la zona de muestreo 1 correspondiente al Hospital de la mujer y al Hospital general del sur de la ciudad de Puebla se realizaron muestreos en primavera, verano e invierno. El primer muestreo (primavera) se llevó a cabo entre las 9:00 a 9:30 am, considerando un registro de temperatura entre 19 a 20 °C, el segundo muestreo se realizó en el mes de junio del 2023, en dicho día se registró un una ola de calor, la cual generó temperaturas de hasta 30 °C en la ciudad de Puebla con la ausencia de precipitación pluvial, el tercer muestreo se realizó en el mes de febrero del año consecutivo, donde se presentaron efectos climatológicos similares, con una ola de calor más severa comparada con el muestreo 2, la temperatura fue superior a los 30 °C, llegando a temperaturas máximas de 33 a 35°C en la ciudad de Puebla, sin mencionar que, no se había presentado precipitaciones pluviales en meses, estas condiciones no son las ideales para la proliferación bacteriana en el ambiente ya que son un factor para su disminución (Tabla 8).

Tabla 8. Registro de las condiciones climatológicas del punto 1 de muestreo, durante las tres épocas de estudio.

<b>Factores ambientales</b>	<b>Primavera</b>	<b>Verano</b>	<b>Invierno</b>
Temperatura	19°C	23°C	19 °C
Velocidad del viento	6-9 Km/h intermitente	9 km/h intermitente	12 km/h intermitente
Dirección del viento	Noreste a Suroeste	Noreste a Suroeste	Norte a sur
Humedad relativa	45%	26%	18%
Precipitación	0 mm	0 mm	0mm
Descripción del cuerpo acuático	El río Atoyac presenta un color café, olor fétido y mucha espuma	El río Atoyac presenta un color café oscuro, olor muy fétido y sin espuma	El río Atoyac presenta un color verde bandera, olor muy fétido y con mucha espuma

Nota: Registros obtenidos de la estación meteorológica

Los datos meteorológicos de este punto fueron obtenidos en el momento de la toma de muestras con el apoyo de la Red Automatizada de Monitoreo Meteorológico (RAMM) perteneciente al Departamento de Investigaciones Arquitectónicas y Urbanísticas (DIAU) dependiente de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, para lo cual se visitó su sitio de internet ya que la RAMM 8 está localizada a una cuadra del Hospital de la mujer y los datos emitidos de esta estación meteorológica se actualizan cada 5 minutos. En la figura 24 se muestra la toma de aire cercano al hospital de la mujer durante el muestreo invernal.



Figura 24. Toma de muestras del aire (a) y del agua residual (b) de la zona 1 de estudio

La medición de los indicadores físicos del agua para este punto pertenece al río Atoyac y los datos fueron registrados in situ con ayuda de un equipo portátil PC18 (tabla 9), en las muestras de agua el valor de pH se mantuvo constante a lo largo de los meses y se ve evidenciado en las diferentes tomas de muestra, siendo su valor de 7.93 para la muestra de primavera mientras para la muestra de invierno fue de 7.73, habiendo solo una diferencia de  $\pm 0.2$  entre el valor más alto y el más bajo.

Los registros de la temperatura del agua presentaron valores aproximados durante las tres épocas del año entre 15 a 19°C, aunque se presentaron durante ese tiempo olas de calor la temperatura del agua permaneció constante, ya que la brecha entre el valor más alto y el más bajo fue de alrededor de 4 °C, esto a pesar de que la hora de toma de muestra es muy similar.

Los registros de la conductividad en las muestras de agua variaron en el periodo de invierno, obteniendo valores de 0.9mS a diferencia de los periodos de primavera y verano donde se registraron de 1.43mS y 1.5mS respectivamente.

Tabla 9. Registro de los parámetros físicos del agua residual del punto de muestreo 1

<b>Parámetros físicos del agua</b>	<b>Primavera</b>	<b>Verano</b>	<b>Invierno</b>
Temperatura	15°C	18°C	19 °C
Conductividad	1.43mS	1.5mS	0.9 mS
pH	7.93	7.84	7.73

### 9.6.2 Características climatológicas del punto 2 de muestreo y el registro de los parámetros físicos del agua residual.

Los datos obtenidos en el punto 2 de muestreo que corresponde a la zona del Hospital Ángeles y al hospital Puebla de la ciudad de Puebla, se realizaron entre 10:30 a 11:30am en las tres épocas del año, la toma de muestra del aire se hizo frente al hospital Ángeles, por considerarse importante y factible. La muestra de agua se hizo cercano al boulevard Cumulo de Virgo debido a la factibilidad y acceso a la toma de muestra. El registro de las características climatológicas se encuentra en la tabla 10, donde se observa que la temperatura ambiental fue de 23°C en primavera, 29°C en verano y 25°C en invierno. La velocidad del viento fue mayor en verano con 15km/h a diferencia de primavera e invierno que no sobrepaso más haya de 8 km/h, es preciso mencionar que el viento es un factor importante para el desplazamiento de partículas o bioaerosoles suspendidos (Ruiz-Gil et al., 2020). La humedad relativa fue mayor en el periodo de primavera con 48.1% a diferencia de las estaciones de verano e invierno con 18 % y 10% respectivamente.

Tabla 10. Registro de las condiciones climatológicas del punto de muestreo 2, durante la etapa de estudio.

<b>Factores ambientales</b>	<b>Primavera</b>	<b>Verano</b>	<b>Invierno</b>
Temperatura	23°C	29°C	25°C
Velocidad del viento	4 km/h esporádico	15 km/h esporádico	8 km/h esporádico
Dirección del viento	Noreste a Suroeste	Noreste a Suroeste	Norte a sur
Humedad relativa	48.1%	18 %	10%
Precipitación	0 mm	0 mm	0 mm
Descripción del cuerpo acuático	El río Atoyac presenta un color café, olor fétido y con espuma	El río Atoyac presenta un color café oscuro, olor muy fétido y sin espuma	El río Atoyac presenta un color verde oscuro, un olor muy fétido y con mucha espuma

Las muestras de agua del punto dos se realizaron siguiendo las especificaciones de la Norma Mexicana NMX-AA-003-SCFI-1980 ( NMX-AA-003, 1992), en dicho lugar se registró un olor muy fétido, además está justo al lado de un parque donde se practica ciclismo y ejercicio cardio vascular, por lo cual, es un punto importante para muestrear debido a la presencia constante de deportistas los cuales están en interacción constante con los bioaerosoles, aumentando así la probabilidad de contagio. La toma de muestra del aire se hizo frente al hospital Ángeles como se observa en la figura 25, ya que era el punto donde se pudo hacer la toma de muestra con mayor facilidad, además había una gran cantidad de polvo ya que el hospital tenía obras de infraestructura en proceso, por lo cual la dinámica poblacional era muy alta por la cantidad de personas que trabajaban tanto en las obras como en el hospital, sin mencionar los familiares de los pacientes, sin embargo, no era tan alta como en el hospital de la mujer, otra característica muy

interesante es la gran cantidad de vehículos que circulan por la zona, lo cual es un factor para encontrar más o menos cantidades de bacterias presentes en el aire.

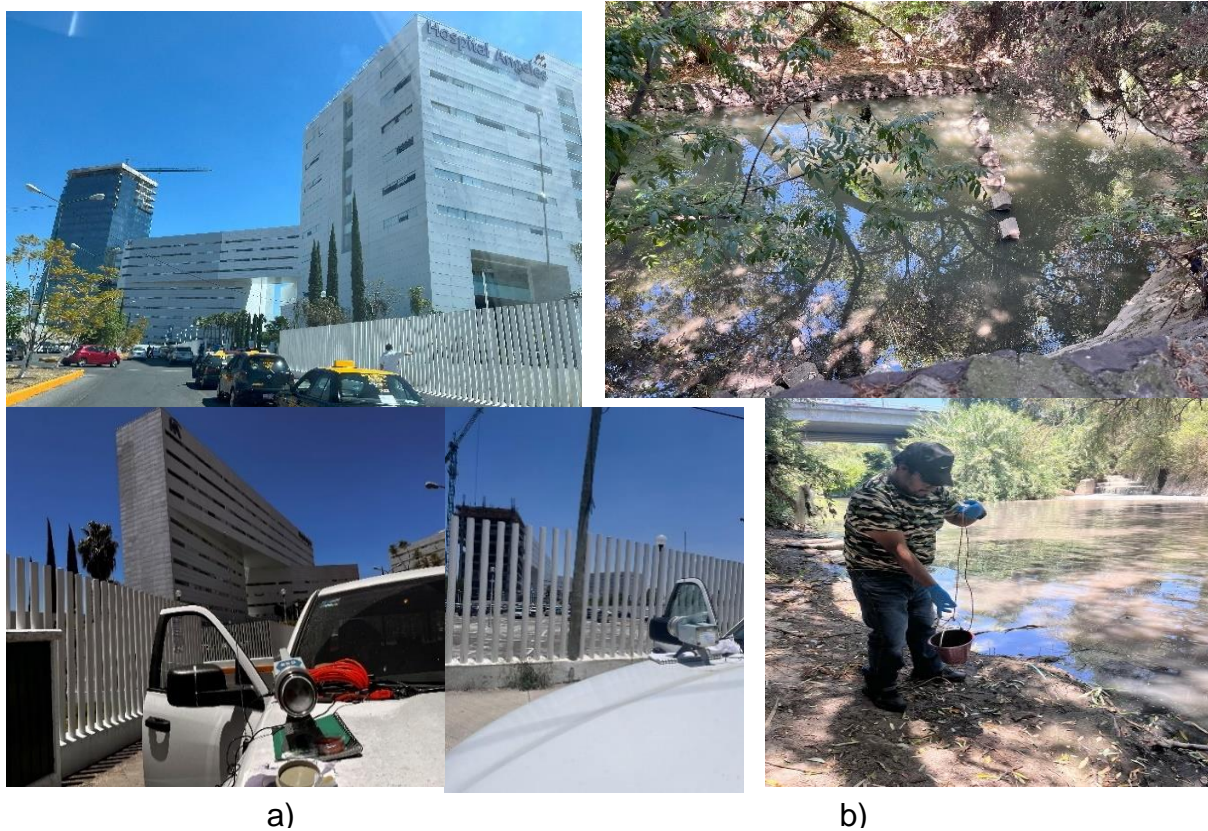


Figura 25. Toma de muestras del aire (a) y del agua residual (b) de la zona de estudio 2

Los registros de los parámetros físicos del agua proveniente del río Atoyac se observan en la tabla 11 durante los tres periodos del año. Los registros de temperatura fueron diferentes en primavera, verano e invierno con 18°C, 21°C y 16.5°C respectivamente, cada registro se relaciona con su temporal. Para la conductividad, los registros fueron similares en primavera y verano con 1.6mS y 1.5mS, para invierno el valor de conductividad bajo a 0.2mS y en cuanto al valor de pH se mantuvo durante las tres épocas entre 7.6 y 7.7. Estos datos probablemente explican la constante actividad industrial, doméstica y hospitalaria ya que vierten desechos hídricos con diferentes

sustancias o contaminantes que pueden alterar los valores de pH y conductividad del agua residual (Męcik et al., 2024).

Tabla 11. Registro de los parámetros físicos del agua residual del punto 2 de muestreo, durante la etapa de estudio.

Parámetros físicos del agua	Primavera	Verano	Invierno
Temperatura	18°C	21°C	16.5
Conductividad	1.62 mS	1.56mS	0.2 mS
pH	7.76	7.76	7.62

### 9.6.3 Características climatológicas del punto tres de muestreo y registro de los parámetros físicos del agua residual.

Los datos obtenidos en la zona de muestreo 3 que se localiza en la zona de Prados de agua azul, específicamente donde se encuentra la salida del río San Francisco a cielo abierto de la Capital Poblana se realizaron las tomas de muestra de agua y del aire. Los registros climatológicos en dicho punto fueron obtenidos de la Red Automatizada de Monitoreo Meteorológico, fue la estación meteorológica más cercana al punto de interés. Las muestras de agua y del aire fueron tomadas alrededor de las 13:00 a 13:30 pm y al igual que los otros puntos de muestro se realizaron durante la estación de primavera, verano e invierno. Los registros de las condiciones climatológicas de este punto se presentan en la tabla 12 donde se observa un rango de temperatura de 27°C en invierno y 30.5°C en verano, algo característico de la zona es que no se presentó velocidad de viento y por consiguiente no se tiene valor de su dirección, lo que podría relacionarse con la suspensión de partículas o bioarerosoles por cierto tiempo (Alfaro, 2019) ya que cuando existen ráfagas de viento ayudan a desplazar los microorganismos que se encuentran depositados en el asfalto hacia lugares aledaños. La humedad relativa fue mayor en primavera con un 26.9% a diferencia de verano e invierno con 18% y 10% respectivamente. Aunque en el día que se realizó la toma de muestras aéreas no se

registró precipitación pluvial, la humedad relativa favoreció la permanencia de los microorganismos en el aire (Kozajda et al., 2019).

Tabla 12. Registro de las condiciones climatológicas del sitio de muestreo 3

Factores ambientales	Primavera	Verano	Invierno
Temperatura	28°C	30.5°C	27 °C
Velocidad del viento	Sin registro	17 km/h	5 km/h
Dirección del viento	Sin registro	Este/oeste	Noroeste/suroeste
Humedad relativa	26.9%	18%	10%
Precipitación	0 mm	0 mm	0 mm
Descripción del cuerpo acuático	El río San Francisco presenta un color café, olor fétido y mucha espuma	El río San Francisco presenta un color verde, olor muy fétido y sin espuma, parece muy fétido y sin agua estancada	El río San Francisco presenta un color café oscuro, olor y sin espuma, parece muy fétido y sin agua estancada

Las características físicas de la zona 3 de muestreo permitieron tomar fácilmente las muestras del agua y del aire (figura 26), en esta zona existe una gran cantidad de autos que tienen un flujo constante por la mañana y tarde, sin embargo, la dinámica poblacional es media ya que raramente pasa gente caminando en esta zona, ambas características pueden ser factor, para que las bacterias queden más tiempo suspendidas en el aire, como la toma de agua se realiza en el mismo punto, se logró determinar que dependiendo el mes del año existe una mayor o menos cantidad de agua en el efluente, por ejemplo, en invierno el nivel y la cantidad de agua era escasa, a comparación de la época de verano y primavera.

Las mediciones de los parámetros físicos del agua pertenecientes a los periodos de primavera, verano e invierno están en la tabla 13, dichos registros fueron tomados en el río de San Francisco, para esta zona de muestreo, durante el primer muestreo se registró un pH de 8 manteniéndose aproximadamente durante los periodos estacionales en un rango de 8 a 7.7. Cuando el agua tiene una acidificación se debe a diversos

factores como las sustancias que son arrojadas a este cuerpo acuático, ya que haciendo una correlación, entre más se acidifica el pH la conductividad disminuye, lo cual puede causar un efecto negativo en la presencia de las bacterias presentes en este compartimento ambiental, la temperatura del agua fue variable pero eso se explica por el aumento o disminución de la sombra presente, ya que, en esta zona se encuentran una gran cantidad de árboles silvestres, los cuales crecen de manera desmedida haciendo un aumento o disminución de sombra por la época del año o el cuidado que se les da, dando así temperaturas mayores o menores del agua de este efluente.



a)



b)

Figura 26. Toma de muestras del aire (a) y del agua residual (b) de la zona del río de San Francisco

Tabla 13. Registro de los parámetros físicos del agua residual del sitio 3 de muestreo

Parámetros físicos del agua	Primavera	Verano	Invierno
Temperatura	15°C	21°C	14.7°C
Conductividad	1.57 mS	1.5mS	1.22 mS
pH	8.04	7.70	7.81

Los registros de las características climatológicas son diferentes en cada una de las zonas de muestreo y durante las tres épocas del año, haciendo una comparación en la temperatura ambiental existe una variación de 3 a 5°C posiblemente por el tiempo que se invirtió para trasladarse de un punto a otro, lo cual pasaron alrededor de 3 horas entre el punto 1, 2 y al 3, aun así, se tomaron los registros el mismo día. En el caso de los parámetros físicos del agua son homogéneos en dos zonas de muestreo (1 y 2) que pertenecen al río Atoyac, los datos que fueron similares son los de conductividad y de pH. Comparando los parámetros físicos del río Atoyac con los del río San Francisco igual no hay una variación muy significativa en el mismo conjunto de datos. La única variación que hubo fue en temperatura del agua, sin embargo, esto se debe a la diferencia de hora en la que se realizó la toma de muestra, la variación más interesante encontrada fue la perteneciente a la conductividad ya que fue lo más inestable específicamente en el punto número 3, mientras que las zonas 1 y 2 fue homogéneo a lo largo del año, por cual se podría inferir que las sustancias arrojadas en el río San Francisco esta causado variaciones en la composición del agua, lo cual aún no se sabe el efecto a la naturaleza o a la microbiología propia del río.

#### **9.6.4 Aislamiento e identificación de bacterias sospechosas en muestras de agua residual y de aire.**

Para la toma de muestra de agua se emplearon medios de cultivo diferenciales y selectivos para favorecer el crecimiento de bacterias de interés (figura 27). Las muestras de agua se sembraron en agar nutritivo y Mc Conkey por triplicado en cada monitoreo. Los medios son selectivos son empleados para determinar la presencia diferentes bacterias de interés ya que inhibirán el crecimiento de otras bacterias que son poco relevantes por no pertenecer al grupo ESKAPE, en la tabla 15 se muestra los diferentes medios con las bacterias a los que son específicos.



Figura 27. Medios de cultivo utilizados en los muestreos

Una vez que las muestras de agua y de aire fueron llevadas al laboratorio para su procesamiento, primeramente, se incubaron a 37 °C durante 24 horas, la placa de agar nutritivo se empleó para realizar el conteo en placa para las muestras de aire, los resultados muestran en la tabla 16, seguido de esto se prosiguió a realizar la purificación e identificación de las cepas, por lo cual se realizaron resiembras y pruebas bioquímicas para este fin (figura 28 y 29).

Se siguió la misma ruta de trabajo que el muestro 1 en los muestreos 2 y 3, donde las placas fueron llevadas al laboratorio y fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, transcurrido este tiempo se verifico el crecimiento de las placas y se realizó el conteo de UFC en el agar TSA para las muestras de aire (tabla 14).

Tabla 14. Unidades Formadoras de Colonias por cada 100 litros de aire en las diferentes zonas de muestreo en los muestreos

Punto de muestreo	Primavera UFC/100 l	Verano UFC/100 l	Invierno UFC/100 l
Hospital de la mujer	20± 9.8	7± 3.6	58± 67.5
Hospital Ángeles	20.6± 29.7	23± 15.3	62.6± 80.8
Río San Francisco	257± 207.8	22.6 ± 9.7	27.3± 31.1

La cantidad de bacterias halladas en cada muestreo vario en cada temporal, como se puede observar no hay ningún punto de muestreo que haya tenido una cantidad de bacterias homogéneo a lo largo del año, puntos de muestreo como el 2 y 3 presentan variaciones muy importantes en los diferentes en la cantidad de bacterias encontradas tanto en el mismo muestreo o comparado con muestreos en otras épocas del año , un ejemplo de esto de esto es el punto de muestreo 3 donde hay placas con pocos microorganismos como en verano e invierno pero en primavera las placas tuvieron una gran cantidad de macroorganismos que los hizo incontables, y se nota más observando la desviación estándar de los datos, donde se observa la gran variabilidad que hubo en muestras diferentes muestras. Por ejemplo en el muestreo 3 en la zona dos hay una placa con 156 UFC y otras dos réplicas del mismo punto con 14 y 18 UFC, lo cual no tendría sentido si no se tuviera como variante la presencia del viento, el cual si es un factor de la presencia o el aumento de UFC en los diferentes muestreos, sin embargo, no es el único factor presente, en estos puntos la dinámica poblacional o la alta presencia de vehículos generan aun aumento de micro ráfagas de viento y con eso un aumento de las UFC en el aire por cortos periodos de tiempo.

Otra variante a tomar en cuenta para conocer si una población bacteriana se ve afectada es la temperatura, como ya se había comentado, en los muestreos de verano e invierno se presentó una fuerte ola de calor, dándonos temperaturas mayores a 30 °C y con ello también un aumento de la luz UV, como menciona Smets, la temperatura si es una variable que afecta el desarrollo de las bacterias en el medio ambiente (Smets et al., 2016), por lo cual si la temperatura ambiental es muy alta, la cantidad de microorganismos puede verse disminuida ya que al aumentar la temperatura también aumenta radiación solar, otro de los factores ambientales que de la misma forma afecta el desarrollo de los microorganismos. La relación de la temperatura y la cantidad de bacterias se pudo observar en todos los medios de cultivo que utilizamos en el muestro 2, ya que hubo una disminución evidente en la cantidad de colonias recolectadas, por lo cual la obtención de bacterias para su aislamiento e identificación fue considerablemente menor y aún peor en las placas del muestreo número 3, donde la población bacteriana

en las diferentes placas con medio de cultivo fueron tan bajas que prácticamente no crecieron bacterias en ciertos medios selectivos como McConkey o cetrimida. Una vez realizado el conteo en placa, se prosiguió a realizar el aislamiento de bacterias de interés y posteriormente se identificaron por medio de pruebas bioquímicas los resultados se muestran en la tabla 15). En la imagen 28 se muestra un ejemplo de colonias sospechosas obtenidas de los diferentes muestreos, en la imagen 29 se observa un ejemplo de identificación bacteriana.



Figura 28. Crecimiento bacteriano de colonias sospechosas en medios selectivos

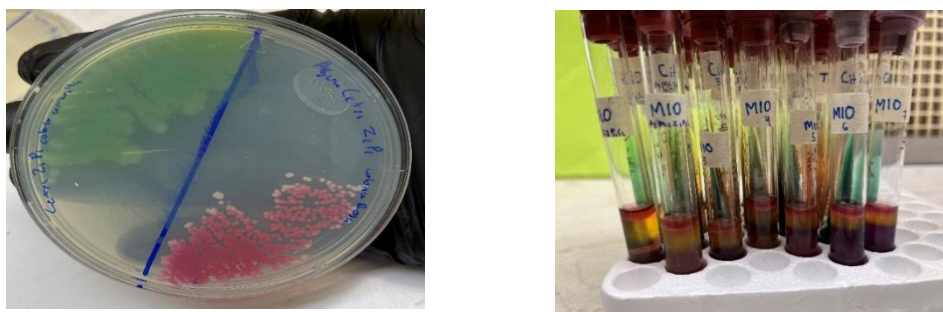


Figura 29. Pruebas de laboratorio para la identificación microbiológica

Las bacterias identificadas en muestras de aire y agua pertenecientes a las estaciones de primavera, verano e invierno, sin embargo, cabe resaltar que no solo se encontraron bacterias en las diferente muestras ya que también hubo presencia de hongos y levaduras, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* fueron las bacterias que más se encontraron. La temperatura ambiental si generó estragos en la cantidad y diversidad bacteriana en los diferentes puntos de muestro ya que en cada uno fue disminuyendo

cada uno de sus valores, esto queda muy evidenciado si comparamos el punto de muestreo 1 con el número 3 , donde se observa que en el punto de muestreo 1 se encontraron una mayor cantidad de bacterias en las placas y una mayor diversidad de las mismas, mientras que en el punto de muestreo 3 se presenta una menor cantidad de bacterias en los medios como TSA, agar nutritivo o incluso McConkey , y en cuanto a la diversidad esta también disminuyo mucho, siendo que hay menos géneros bacterianos presentes, esto puede deberse a dos factores la época del año ya que era invierno y hasta antes de la ola de calor las temperaturas eran no mayores a 21 grados y en las noches era temperaturas cercanas a las 8 °C o por sí solo la ola de calor y el aumento de radiación UV causaron este fenómeno , sin embargo, no se cuenta con información suficiente para esclarecer este fenómeno. Los resultados de la identificación bacteriana se muestran a detalle en las tablas 15 y 16.

Tabla 15. Comparación de bacterias recuperadas del agua pertenecientes al punto de muestreo 1 durante los muestreos realizados

Agua		
Primavera	Verano	Invierno
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Proteus Mirabillis</i>	<i>Proteus Mirabillis</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Pseudomona</i>	<i>Pseudomona</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Klebsiella subpneumoniae</i>	<i>Klebsiella subpneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Citrobacter freudii</i>	<i>Edwardsiella tarda</i>	
<i>Proteus Mirabillis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Enteric group 64</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	

En la tabla 16 se muestran los resultados de identificación bacteriana y comparativa en géneros bacterianos encontrados en los diferentes estaciones del año en el aire en el

punto número 1, donde se observa que las bacterias encontradas son las mismas a lo largo del año.

Tabla 16. Comparación de bacterias recuperadas del aire pertenecientes al punto 1 de muestreo durante los muestreos realizados

AIRE		
Primavera	Verano	Invierno
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella sp</i>	<i>Klebsiella sp</i>

Como se observa en las tablas 17 y 18, se presentan los microorganismos presentes en el aire y agua en los diferentes puntos de muestreo, es importante destacar que principalmente encontramos bacterias como *E. coli*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella sp*, además, se encontraron en las diferentes zonas de muestreo en las diferentes épocas del año, las cuales fueron sometidas a pruebas moleculares y de resistencia a los antibióticos. Los resultados se mostrarán más adelante. En el muestreo número 2 fue donde se obtuvo una mayor diversidad de bacterias mientras que en el periodo invernal.

Tabla 17. Comparación de bacterias recuperadas del agua pertenecientes al punto 2 de muestreo durante los muestreos realizados

Agua		
Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella sp</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella Gallinarum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Yersinia rohdel</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>

<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enteric group 69</i>	
	<i>Staphylococcus</i>	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	
	<i>Proteus Mirabillis</i>	

Tabla 18. Comparación de bacterias recuperadas del aire pertenecientes al punto 2 de muestreo durante los muestreos realizados

AIRE		
Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus sp</i>
<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Pseudomona sp</i>	<i>Klebsiella sp</i>
	<i>Klebsiella sp</i>	

Los microorganismos presentes en el aire y agua en zona 3 perteneciente al área sin hospitales, en este caso *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Staphylococcus* fueron las bacterias que más se encontraron en las muestras (Tabla19 y 20).

Tabla 19. Comparación de bacterias recuperadas del agua pertenecientes al punto 3 de muestreo durante los muestreos realizados

Agua		
Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella sp</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Enteric group 59</i>	<i>Proteus mirabillis</i>

	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Bacillus</i>
	<i>Enteric group 60</i>	

Tabla 20. Comparación de bacterias recuperadas del agua pertenecientes al punto 3 de muestreo durante los muestreos realizados

Aire		
Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus sp</i>
<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Shigella sp</i>	<i>Salmonella Gallinarum</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

En cuanto a los microorganismos encontrados se en los tres puntos se localizaron una gran diversidad de bacterias, sin embargo, los medios empleados fueron selectivos a ciertos microorganismos que son de interés por lo cual eso limito mucho la varias de especies que pudimos obtener en crecimiento, como se puede observar en las diferentes muestras de agua las especies de *Klebsiella*, *Salmonella* y *Escherichia* son las bacterias que más se encontraron, mientras que en el aire las bacterias predominantes fueron de los géneros *Staphylococcus* y *Escherichia coli*, cabe destacar que se encontraron muchas especies bacterianas más pero en menor cantidad, además, aún hay muchas especies las cuales al no ser relacionadas con el grupo ESKAPE fueron descartadas de para realizar más pruebas.

Como se puede observar en las tablas anteriores, se observa que las bacterias que se identificaron por puebas bioquímicas son muy similares en los tres puntos, cabe destacar que se obtuvieron una menor cantidad de bacterias de interés comparado con el punto de muestreo 1, en la mayoría de los medios selectivos hubo una baja cantidad de UFC de interés o no presentaban crecimiento, en la mayoría de los medios enriquecidos se pudieron aislar hongos, levaduras o bacterias de poco interés.

Las bacterias que, si eran de interés, se les realizaron pruebas de identificación, a y posterior extracción de ADN, además de resguardo para su uso posterior y para

realizar su análisis molecular. Un punto muy interesante que destacar es que se aislaron bacterias como *Klebsiella*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* que serían consistentes con bacterias del grupo ESKAPE, sin embargo, para poder confirmar su pertenencia al grupo ESKAPE se requiere hacer estudios de identificación molecular y determinar si la posible fuente de estas bacterias sería el ámbito hospitalario.

### 9.6.5 Tipificación molecular de genes específicos de patógenos ESKAPE

Una vez aisladas e identificadas las diferentes bacterias de las muestras de aire y agua, se extrajo el ADN total de las muestras de agua, se realizó la amplificación por PCR del gen que codifica para el ARNr 16S, para confirmar su origen bacteriano. Tras realizar los dos protocolos de extracción de ADN de la muestra de agua mediante un kit comercial y utilizando solventes químicos (Técnica Fenol-Cloroformo) (Aguirre-Avalos et al., 2010), Posteriormente se realizó un corrido electroforético en geles de agarosa al 1% y se visualizó la extracción y purificación de ADN utilizando un transiluminador de UV. Una vez obtenido el ADN se realizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se utilizaron primers específicos realizando una mezcla de reacción total de 25µl (Buffer 10x, Mg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Taq Polimerasa, dNTP's, 1 µl de cada oligonucleótido y 5 µl de ADN problema), posteriormente dicha mezcla se sometió a 25 ciclos de amplificación, las muestras amplificadas se corrieron electroforéticamente en geles de agarosa al 1% (Figura 30).

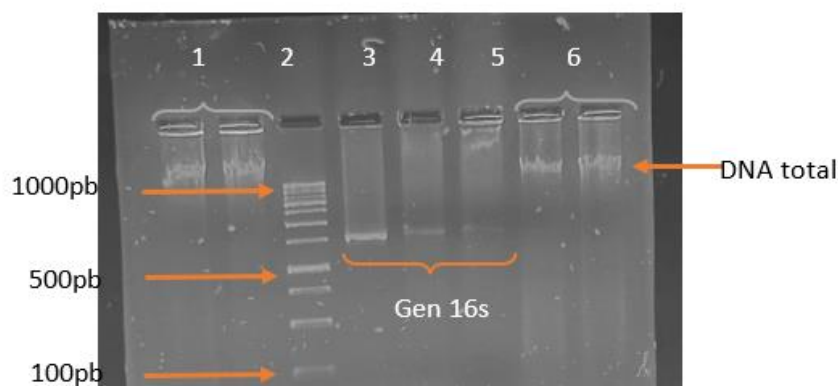


Figura 30. Gel de agarosa con el ADN genómico y el amplicón del ARNr 16s obtenido de las muestras del agua residual.

Carriles: 1.-ADN total del agua residual 2.-Marcador de peso molecular, 3.- Amplificación del gen16s, 4.-Amplificación del gen16s 5.-Amplificación del gen16s, 6 ADN total del aqua residual

La amplificación del gen que codifica para el ARNr 16S, tiene un tamaño de 1500 pb, se observa bandas bien definidas y una correcta amplificación de genes, ya sean extraídas con kit (pozos 3, 4, 5 y 6) o con solventes (pozo 1 y 2). Los pozos 3, 4 y 5 son resultado de la estandarización ya que, cada muestra tiene una cantidad diferente de ADN, en el pozo 3 hay una cantidad de 8  $\mu$ l, mientras que pozo 4 hay 6  $\mu$ l de muestra y en el pozo 5 hay 4  $\mu$ l de muestra, esto se puede observar ya que la banda va de mayor a menor concentración, generando así que no sea tan nítida.

Una vez que se realizó la identificación primaria con pruebas bioquímicas de las bacterias presentes en las muestras, seleccionamos las muestras de interés, se realizó la detección de genes de interés presentes en bacterias del grupo ESKAPE, por lo cual, empleamos la técnica de PCR, para ello es necesario conocer los genes específicos de identificación de para cada bacteria, en el caso de *Klebsiella* se seleccionó al gen OMPA, para *Pseudomonas* se seleccionó al gen Exo A, *Staphylococcus* se seleccionó al gen nuc-A. A estos genes seleccionados, se analizó su viabilidad en dos software, el primero fue Oligo-Analyzer, el cual nos brinda información con respecto a las características de la secuencia seleccionada, como son: tamaño, cadena complementaria, temperatura de fusión, además nos brinda información sobre Delta G, que es una variable que nos brinda información sobre la posible formación de horquillado en nuestro oligonucleótido y el segundo fue Primer-blast, este software nos brinda información sobre si esta secuencia de oligonucleótido ha sido reportada y sobre que microorganismos, la finalidad de saber esto es evitar que nuestra secuencia seleccionada no se una a un gen de otra bacteria con una similar secuencia genética generando falsos positivos. Una vez realizado este análisis y verificar si es apto o no se mandaron a secuenciar y se emplearon en la técnica de PCR.

Para la determinación de los genes de interés de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, se extrajo ADN empleando kit comercial y con solventes orgánicos, como se muestra en la figura 31 observa un gel de agarosa producto de una electroforesis la cual muestra el ADN bacteriano obtenido de la extracción con kit (carril 2) y con solventes orgánicos. Se realizó PCR para amplificar el gen Exo-A y se empleó la técnica de

electroforesis para determinar la presencia o ausencia del gen, el cual tiene un PM de 398 pb. Como se puede observar en la figura 31 y 32 se encuentran los amplicones de PCR para determinar la presencia o ausencia del gen Exo-A en muestras de agua y aire.

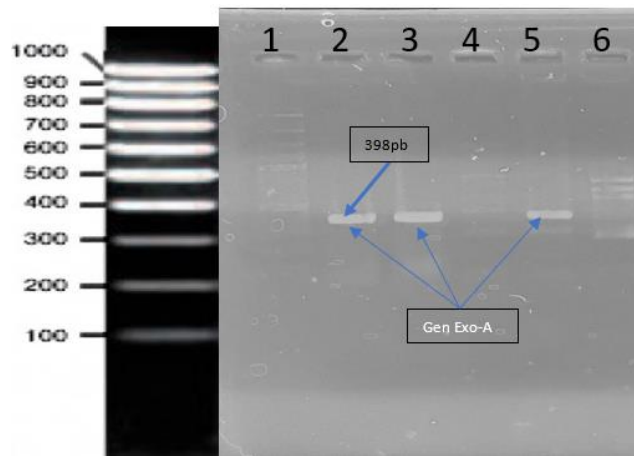


Figura 31. Amplificación del gen *exo-A* de las muestras del agua residual. Carriles: 1.-Marcador de peso molecular, 2.- Control positivo 3 y 5 ADN positivo de *Pseudomonas* 4 y 6 ADN Negativo

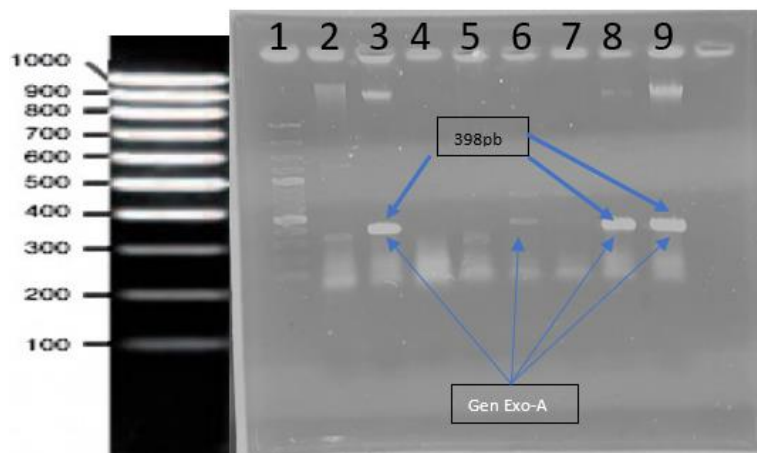


Figura 32. Amplicón *exo-A* obtenido de las muestras del agua residual. Carriles:  
1.-Marcador de peso molecular  
2.- Control negativo  
3.- Control positivo  
4-9 muestras ambientales del agua

Para el muestreo número 2 se muestran los resultados en la figura 33, solo se pudieron recuperar 4 muestras presuntivas a *Pseudomonas aeruginosa* en las diferentes muestras de aire y de agua, al momento de realizar el la PCR y posterior electroforesis se determinó la presencia positiva en solo 2 muestras, una perteneciente a una muestra de agua y una al aire, presentes en los carriles 3 y 5 respectivamente, las otras dos bacterias presuntivas resultaron ser negativas a la presencia del gen *exo-A*, presentes en los carriles 4 y 6, sin embargo, las pruebas bioquímicas tradicionales arrojaron un resultado positivo. Es importante mencionar, que en este caso se localizaron una cantidad mucho menor de esta especie bacteriana en las diferentes zonas de muestreo debido a las condiciones climatológicas, las cuales debido al excesivo calor y al alto índice UV, no son condiciones propicias para un correcto desarrollo de las bacterias.

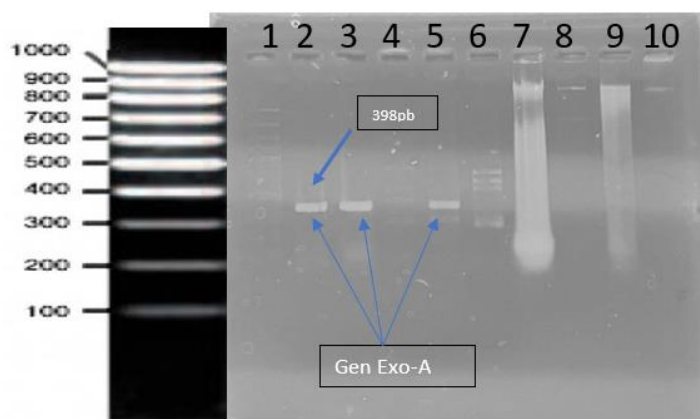


Figura 33. Amplicón *exo-A* obtenido de las muestras del agua residual del muestreo 2. Carriles: 1.- Marcador de peso molecular, 2.- Control positivo, 3--10 muestras ambientales

Para el muestreo número 3, hubo condiciones peores que en el muestreo número 2, las temperaturas ambientales para esos días fueron mucho más altas durante un periodo mayor de tiempo, al momento del muestreo, hubo 4 días previos de altas temperaturas debido a una anomalía climatológica. En este caso, solo se pudieron obtener 4 muestras presuntivas a *Pseudomonas aeruginosa*, de los cuales no hubo ninguna positiva al gen *Exo-A* como se puede observar en la figura 34, sin embargo, las pruebas clásicas de identificación bacteriana de laboratorio sugieren la posibilidad de la presencia de esta bacteria en las diferentes muestras.

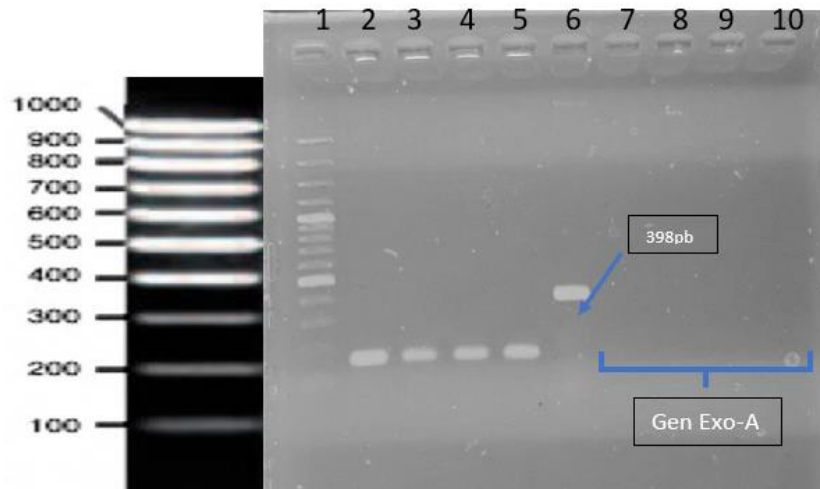


Figura 34. Amplicón *exo-A* obtenido de las muestras del agua  
 Carriles:  
 1.- Marcador de peso molecular  
 6.- Control positivo *Pseudomonas*  
 7-10 Muestras presuntivas

Se realizó la búsqueda del gen *Exo-A* perteneciente a *Pseudomonas aeruginosa* a 8 bacterias presuntivas obtenidas de muestras de aire (2 bacterias) y a agua (6 bacterias) de los diferentes puntos de muestreo, se observa que tuvimos en el primer gel 2 muestras positivas (marcadas con una flecha azul), una de agua y una de aire, mientras que en el segundo gel encontramos 3 muestras positivas (marcadas con una flecha azul), todas pertenecientes a agua (todas del segundo muestreo), por lo cual es un claro indicativo que al menos *Pseudomonas aeruginosa* que es una bacteria perteneciente al grupo ESKAPE si se encuentra en ambientes extra hospitalarios, en este caso en particular en el río Atoyac y en el aire aledaño a este río, por lo cual supone un problema de salud pública muy elevado si llegase a interactuar con los habitantes cercanos a estas áreas.

#### 9.6.6 Amplificación del gen OMPA Y blaKPC para la detección de *Klebsiella* en muestras de aire y agua

Una vez realizada la identificación primaria de bacterias presuntivas a *Klebsiella*, se sometieron a pruebas moleculares para determinar la presencia del gen OMPA con un peso de 198 pb Y blaKPC 916 pb, ambos genes según la bibliografía, están presente

dentro del genoma de *Klebsiella* y son únicos de esta bacteria, se realizaron 3 geles, 1 para cada muestreo realizado, por lo cual se confirmaría la presencia del género *Klebsiella*. Como se observa en la figura 35, el carril 1 es el marcado de peso molecular, el carril 2 es el control positivo para el gen *blaKPC*, en el carril 3 se presenta el control negativo del gen *blaKPC*, los carriles 4,5 y 6 son muestras presuntivas a *Klebsiella* analizadas con el gen *blaKPC*, los carriles 7, 8 y 9 son las mismas muestras del carril 4, 5 y 6 pero analizadas con el gen *OMPA*, el carril número 10 es un control empleado para observar si la amplificación del gen había sido realizada de forma correcta. Como se puede observar se encontraron 2 muestras positivas al gen *OMPA* que están en el carril 7 y en el carril 8, correspondientes a una muestra de aire y una de agua, en el carril 9 esta una muestra negativa a *OMPA* obtenida de una muestra de agua. Sin embargo, ninguna de las bacterias fue positiva al gen *blaKPC*.

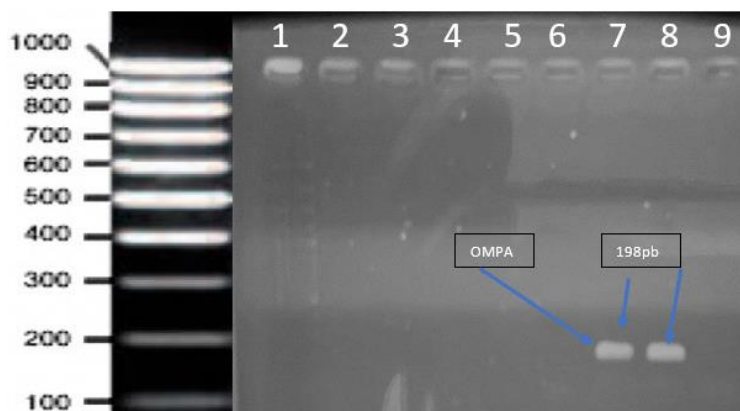


Figura 35. Amplicón *OMPA* Y *blaKPC* obtenido de las muestras del agua residual y aire del muestreo 1. Carriles:  
1.- Marcador de peso molecular  
2.- Control positivo a gen *blaKPC*  
3.- Control negativo  
4-9.- Muestras ambientales

Para el muestreo 2, correspondiente a la estación de verano, se logró obtener 3 muestras presuntivas a *Klebsiella*, esto con ayuda de las pruebas clásicas de identificación microbiológica, una de las correspondiente al aire y dos provenientes de agua residual, en esta ocasión solo se empleó el gen *OMPA* ya que se realizaron varias pruebas con el gen *blaKPC*, sin un resultado favorable, en el gel de agarosa en la figura

36 podemos observar en el carril 1 el marcador de peso molecular, en el pozo 2 encontramos el control positivo al gen OMPA, en los pozos 3, 4 y 5 son muestras positivas al gen OMPA provenientes del aire y dos muestras de agua respectivamente, en el pozo 6 encontramos el control.

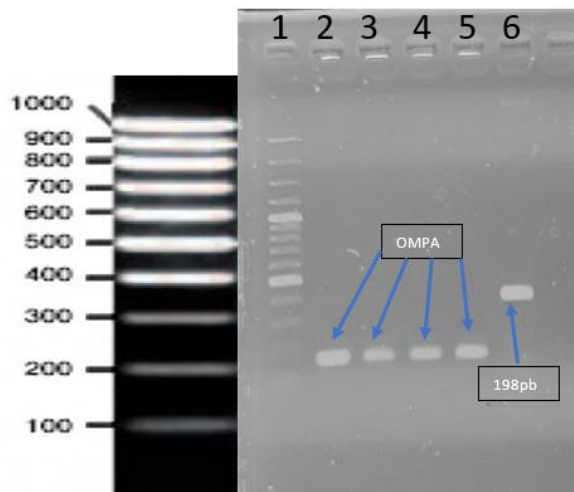


Figura 36. Gel de agarosa con el amplicón OMPA obtenido de las muestras del agua residual y aire del muestreo 2 . Carriles:

- 1.- Marcador de peso molecular
- 2.- Control positivo a gen OMPA
- 3-5.- Muestras presuntivas

Para el muestreo número 3 perteneciente a la estación de invierno, se encontraron un total de 4 bacterias presuntivas a Klebsiella, identificadas y aisladas por medio de microbiología clásica, al igual que el gel de agarosa del muestreo 2, se realizó la PCR solo con el gen OMPA, debido a que con el gel blaKPC ninguna muestra salió positiva, incluyendo los diferentes tipos de cepa control.

En el gel de agarosa que se muestra en la figura 37 se muestra en el carril 1 el marcador de peso molecular, en el carril 2 y 3 se muestra el control positivo del gen OMPA con un peso de 198 pares de bases (pb), en los carriles del 4 al 7, se observan las 4 muestras obtenidas en el muestreo 3, de las cuales 3 son muestras de agua y una muestra de aire,

todas positivas al gen OMPA. Ya que confirmamos la presencia de *Klebsiella pneumoniae* en las muestras de aire y agua, se realizó el análisis de resistencia a los antibióticos por medio del método de Kirby Bauer

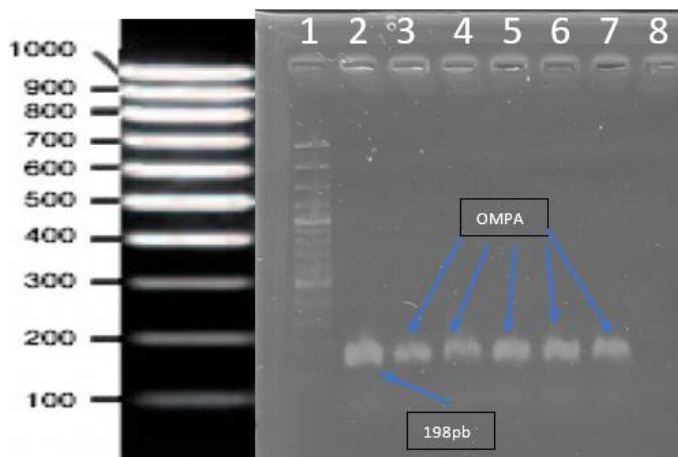


Figura 37. Gel de agarosa con el ADN genómico y el amplicón OMPA obtenido de las muestras del agua residual y aire del muestreo 3

Carriles:

- 1.- Marcador de peso molecular
- 2.- Control positivo a gen OMPA
- 3.- Control positivo a gen OMPA
- 4-7.- Muestras presuntivas a *Klebsiella* con gen OMPA

### 9.7 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de los patógenos aislados del aire y del agua residual.

Una vez realizado el análisis molecular y haber confirmado la presencia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en las muestras provenientes de las diferentes zonas de muestreo en los 3 muestreos programados. Las cepas positivas serán sometidas a un análisis de resistencia a antibióticos por medio del método de Kirby Bauer, este método nos permitirá conocer que antibióticos tienen un efecto inhibitorio al estar en contacto con la cepa por medio del escaso o nulo crecimiento de la bacteria, formándose un halo de inhibición como se observa en la figura 38, el cual será medido con una regla, el resultado de este análisis se divide en tres categorías (resistente, intermedio y sensible) dependiendo del tamaño del halo de inhibición y del tipo de antibiótico que esté presente en el multidisco.

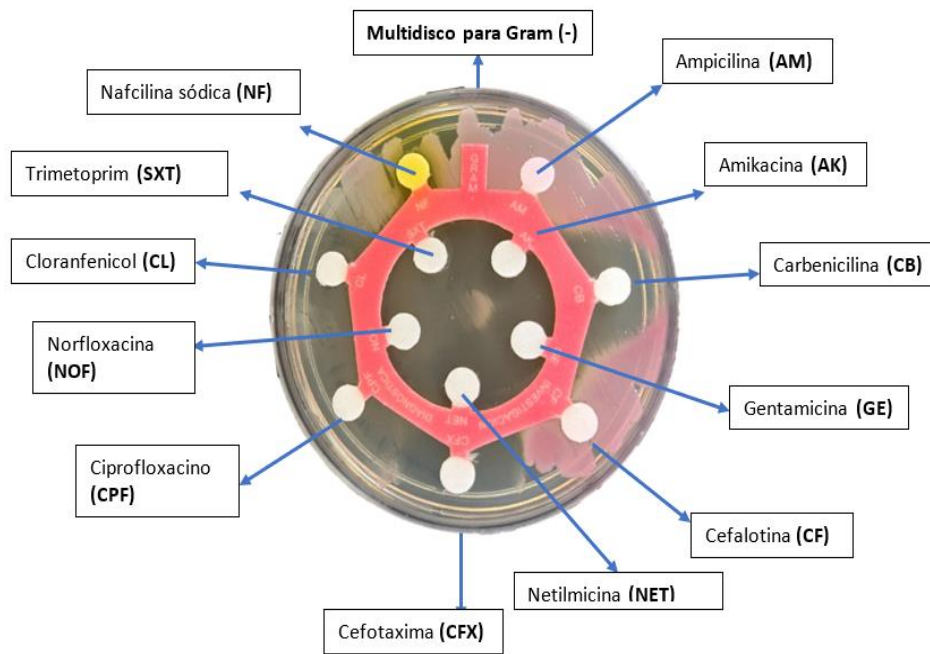


Figura 38. Antibiograma realizado por el método de Kirby Bauer con los antibióticos presentes en el multidisco

Una vez realizada la identificación de cepas pertenecientes al género *Klebsiella* por medio de la identificación de genes OMPA, se realizó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, por lo cual los resultados del antibiograma de las cepas positivas a *Klebsiella* fueron comparados con los resultados de resistencia de la cepa control (figura 39), los halos de inhibición fueron medidos y comparados en mm, para determinar el grado de resistencia, cada tamaño de halo determina si la cepa es resistente (R), medianamente resistente o de efecto intermedio (I) o sensible (S).

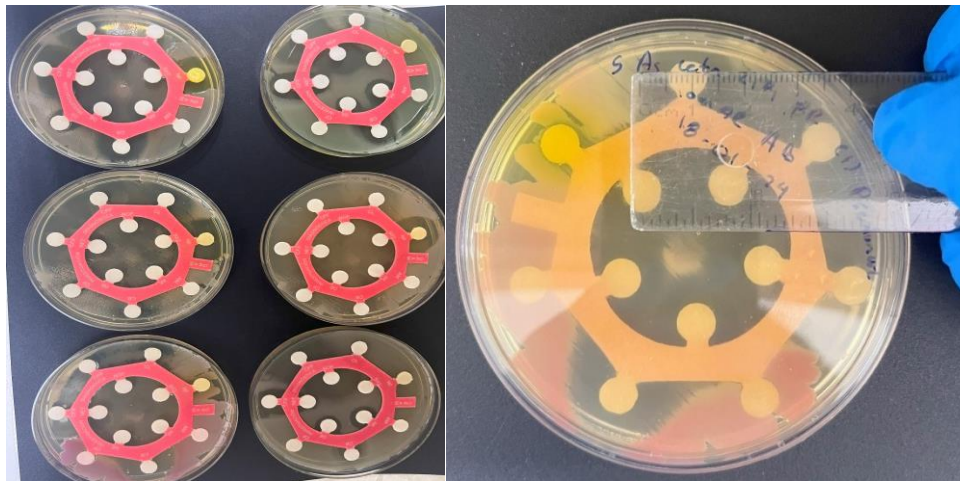


Figura 39. Medición del halo de inhibición del crecimiento bacteriano ante la presencia de antibióticos

Una vez realizadas las mediciones de los halos de inhibición, se clasificaron en función a su resistencia (Tabla 21), las cepas positivas a *Pseudomona aeruginosa* fueron resistentes a ampicilina (AM) (100%) y a Cefalotina (CF) (100%), el 83% de ellas fueron resistentes a Cefalexina (CL) y el 50% a Nafcilina sódica (NF) (figura 40). Todos los demás antibióticos si tuvieron efecto inhibitor, teniendo como mención especial porque las bacterias fueron especialmente sensibles a Ciprofloxacino (CPF) y Norfloxacina (NOF), la mayoría de las bacterias fueron resistentes o medianamente resistentes dando halos de inhibición pequeños. Estos resultados de resistencia ante ampicilina (Am) es la que más ampliamente ha sido estudiada, lo cual esta evidenciado en el estudio bibliométrico que se realizó, sin embargo, antibióticos como cefalotina y cefalexina no se encuentran dentro de los antibióticos reportados por la comunidad científica, en su lugar se estudiaron medicamentos que pertenecen o son similares como Cefotaxima, Ceftriaxona, Cefixima, Cefazolina. Por lo cual pueden tener un principio activo similar, misma actividad o célula diana y quizá un mecanismo de reacción similar.

Tabla 21. Perfil de resistencia a los antibióticos de Pseudomona aeruginosa

Antibiótico	<i>E. coli</i> C(-)	PA01 C(+)	M1 Aire	M4AguaM1	M5AguaM1	M10AguaM1	M2 aire	M2 Agua
AM	R	R	R	R	R	R	R	R
AK	I	I	S	S	I	I	S	I
CB	S	I	I	S	S	I	I	I
GE	S	I	S	S	I	I	S	I
CF	I	R	R	R	R	R	R	R
CFX	S	I	S	S	S	I	S	I
NET	I	I	S	S	S	I	S	I
CPF	S	S	S	S	S	S	S	S
NOF	S	S	S	S	S	S	S	S
CL	S	I	R	R	S	R	R	R
SXT	S	R	S	S	S	R	S	R
NF	S	R	S	S	R	R	S	R

NOTA: resistente (R), medianamente resistente o de efecto intermedio (I) o sensible (S).

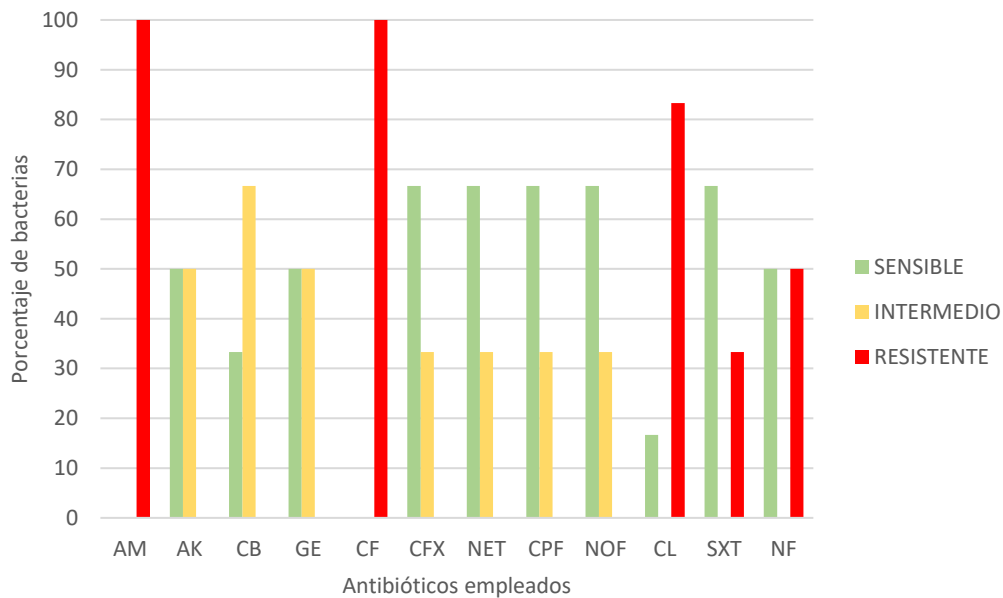


Figura 40. Perfil de resistencia de las Pseudomonas aisladas del aire y del agua durante el monitoreo anual

Antibióticos sin efecto en *Pseudomona* en agua y aire en  
muestreros 1 y 2

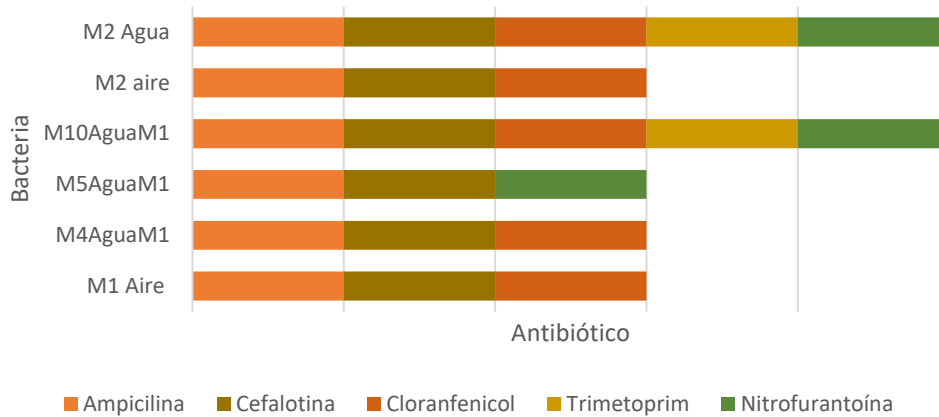


Figura 41. Perfil de multiresistencia de *Pseudomonas aeruginosa* perteneciente a muestras del aire y de agua

### 9.7.1.1 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas *Klebsiella pneumoniae*

Una vez que se determinó la presencia de *Klebsiella* en muestras de agua y aire en los diferentes puntos de muestreo en los diferentes muestreos, se realizó el análisis de resistencia a los antibióticos, siguiendo la misma metodología que se empleó para *Pseudomonas* (figura 42).

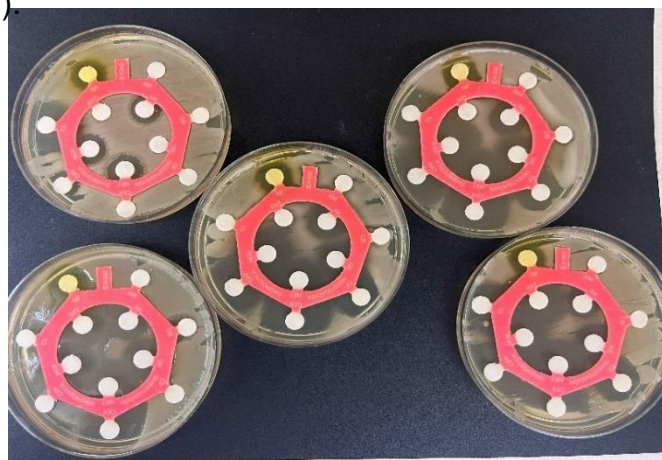


Figura 42. Inhibición de crecimiento de las cepas *Klebsiella pneumoniae* ante la presencia de sensidiscos de antibióticos

Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* aislada de los tres puntos de muestreo se encuentran en la tabla 22 y 23, en donde se observa que solo en tres antibióticos son completamente resistente ante ampicilina (AM), Carbenicilina (CB) y Cefalexina (CL), los demás antibióticos también generaron inhibición en menor proporción. Las figuras 43 y 44 muestran la resistencia de *Klebsiella* en forma de gráfico de barras.

Tabla 22. Perfiles de resistencia de *Klebsiella pneumoniae* recuperadas de la zona 1 y 2 de muestreo

Antibiótico	K7 (C+)	M1 P3 Ai	M1AgP2col 18	3AgP2M2c ol1	5AgP2M2c ol1	9AiP2M2c ol3
AM	R	R	R	R	R	R
AK	S	I	S	I	I	I
CB	R	R	R	R	R	R
GE	S	R	S	R	S	I
CF	S	R	R	R	S	S
CFX	S	R	S	R	S	S
NET	S	I	S	I	S	S
CPF	S	I	S	I	S	S
NOF	S	I	S	I	S	S
CL	R	S	S	S	S	S
SXT	R	R	S	R	S	R
NF	I	S	S	S	I	I

Tabla 23. Perfiles de resistencia de *Klebsiella pneumoniae* recuperadas en la zona 3 de muestreo.

Antibiótico	K7 (C+)	M3P3Ag 8	M3P3AI	M3P1col6A g	MCK5Ag
AM	R	R	R	R	R
AK	S	I	I	I	I
CB	R	R	R	R	R
GE	S	I	I	S	I
CF	S	S	S	I	S
CFX	S	S	S	S	S
NET	S	S	S	S	S
CPF	S	S	S	S	S
NOF	S	S	S	S	S
CL	R	S	S	S	S
SXT	R	S	S	S	S
NF	I	S	I	I	I

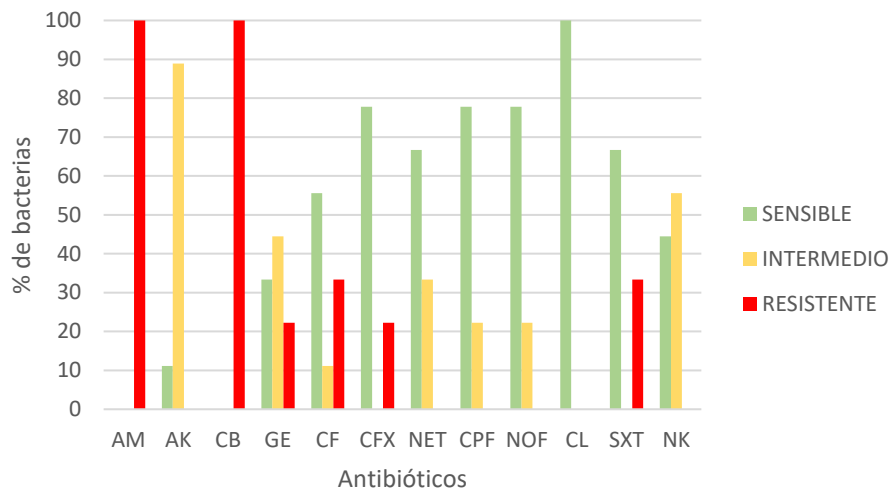


Figura 43. Perfil de resistencia de Klebsiella recuperadas de agua y aire durante todos los muestreos

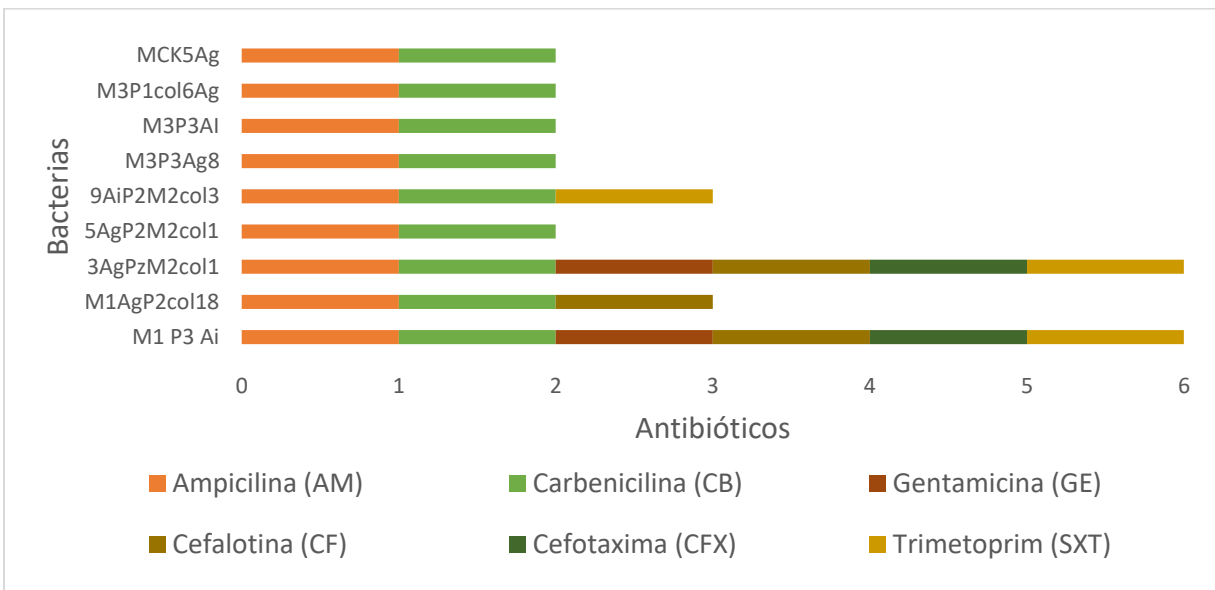


Figura 44. Perfil de multiresistencia de Klebsiella perteneciente a muestras del aire y de agua.

Los resultados hallados de susceptibilidad de *Klebsiella pneumoniae* coincide con lo reportado especialmente en ampicilina y carbenicilina, ya que son los antibióticos de prescripción médica ante el patógeno, esto no significa que no haya sido estudiado, quizá solo sea necesario ampliar la búsqueda para observar si esta reportado o no, en los otros casos de resistencia los resultados son variados, por ejemplo, el caso de Trimetoprima-sulfametoxazol (SXT ya ha sido reportado con anterioridad por la comunidad científica, sin embargo, la cefalotina aún no se ha reportado, de la misma forma es recomendable realizar o hacer una actualización de este tema para verificar si se ha estudiado o no. Es muy importante hacer notar que pese a lo resultados reportados existen 3 bacterias encontradas que son M1P3Ai, M1AgP2col18 y 3AgP2M2col1 los cuales son los que presentan una gran cantidad de resistencia a los antibióticos, M1 P3 Ai tiene 5 antibióticos a los que es resistente (son ampicilina (AM), Carbenicilina (CB), Gentamicina (GE), Cefotaxima (CFX), Cefalotina (CF)), M1AgP2col18 tiene 3 antibióticos a los que es resistente (son ampicilina (AM), Carbenicilina (CB), Cefalotina (CF) y 3AgP2M2col1 tiene 5 antibióticos a los que es resistente (son ampicilina (AM), Carbenicilina (CB), Gentamicina (GE), Cefotaxima (CFX), Cefalotina (CF), por lo cual estar en contacto con estas bacterias si representan un peligro para la salud humana por lo cual constituye un problema de salud pública grave.

#### **9.6.1.1 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Staphylococcus aureus* aislada de diferentes zonas de muestreo**

*Staphylococcus aureus* fue la cepa con mayor número de aislamientos tanto en aire como en agua, en el análisis de susceptibilidad a los antibióticos se observó que todas las cepas presentaron similares perfiles de resistencia a dos antibióticos y máximo a ocho, por lo que, se puede mencionar que son multirresistentes, los antibióticos más comunes a su resistencia fueron ampicilina (Am) y doxiciclina (Dc) (tabla 24 y 25).

Tabla 24. Perfiles de resistencia de *Staphylococcus aureus* aislada de las tres zonas de muestreo del agua residual

	Control	P2M2 Ag	AgP1M2Col2	C2P1M3 Ag	AgP2M1	AgP2M3	C2M3	AgP1M3	AgP3M1
Am	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CF	R	R	R	S	R	S	S	S	S
CFX	R	R	R	S	R	S	S	S	S
DC	R	R	R	R	S	R	R	R	R
CPF	S	S	S	S	R	S	S	S	S
CLM	S	S	S	S	S	R	S	S	S
GE	R	R	R	I	S	S	S	S	S
E	S	R	S	R	S	R	S	S	S
SXT	S	S	S	S	S	S	S	S	S
PE	R	R	R	S	R	R	S	S	S
VA	S	S	S	S	S	R	S	S	S
TE	R	R	S	R	R	R	R	S	S

Tabla 25. Perfil de resistencia de *Staphylococcus aureus* recuperadas de las tres zonas de muestreo del aire

	AiZ3P3C1M2	M1AiZ1P1C3	P1M1Col1Ai	AiP1M2
Am	R	R	R	R
CF	S	S	I	S
CFX	S	S	R	I
DC	R	R	R	R
CPF	S	S	S	S
CLM	S	R	S	S
GE	I	S	R	S
E	S	R	S	S
SXT	R	S	S	S
PE	R	R	R	S
VA	S	R	S	S
TE	S	R	R	S

Como se puede observar en la imagen 45 y 46 se muestran los perfiles de multirresistencia de las cepas obtenida en los diferentes muestreos de *Staphylococcus aureus*, se hace evidente como cada bacteria es resistente a Ampicilina y la gran mayoría a doxiciclina, además, se pone de manifiesto como todas las bacterias obtenidas y analizadas son resistentes a más de dos antibióticos, cabe destacar bacterias como P2M2Ag presente en agua y M1AiZ1P1C3 proveniente del aire, quienes presentan 8 y 7 resistencias a antibióticos respectivamente son microorganismos de alta importancia en cuestión de salud pública ya que su elevada resistencia a los antibióticos las hace bacterias de cuidado para la población, y que su proximidad con la población podría generar una gran cantidad de infecciones, las cuales generarían problemas a la población ya que serían muy difíciles de erradicar, sin mencionar la cantidad de defunciones que pueden causar en sectores vulnerables de la población.

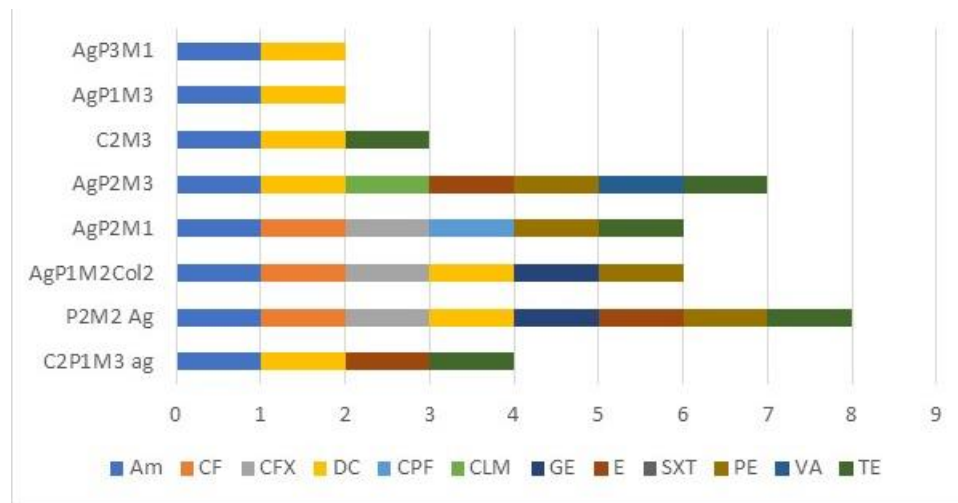


Figura 45. Multirresistencia de *Staphylococcus aureus* perteneciente a muestras de agua.



Figura 46. Multirresistencia de *Staphylococcus aureus* perteneciente a muestras de aire

### 9.6.1.2 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Enterococcus faecalis* y de *Enterococcus faecium* aisladas del agua

El análisis de susceptibilidad a antibióticos para las cepas de *Enterococcus* se muestra en la tabla 26 donde se puede observar que las cepas aisladas del agua tienen un perfil de resistencia similar ante los antibióticos AM, DC, CLM, E VA y TE, y son sensibles a CF, CFX, CPF, GE, en casos específicos como SXT donde la bacteria 03 MCKasoM3 es resistente comparada con las demás que es sensible y PE donde Ag Z1P1C2M2 generó una sensibilidad intermedia, es importante recalcar que las diferentes bacterias provienen del río Atoyac pero de diferentes épocas del año, en el caso del compartimiento aire, no se logró encontrar evidencia de la presencia de estas bacterias, sin embargo, no se puede descartar la ausencia total de esta bacteria.

Tabla 26. Perfil de resistencia del género *Enterococcus* en muestras de agua en las diferentes estaciones del año

	MCK 01M3	03MCK asoM3	Z1P1C2M1	AgZ1P1C2M2
AM	R	R	R	R
CF	S	S	S	S
CFX	S	S	S	S
DC	R	R	R	R
CPF	S	S	S	S
CLM	R	R	R	R
GE	S	S	S	S
E	R	R	R	R
SXT	S	R	S	S
PE	R	R	R	I
VA	R	R	R	R
TE	R	R	R	R

Seis cepas de *Enterococcus* presentaron multirresistencia de seis a ocho antibióticos (figura 47), por lo cual revela que dichos antibióticos son ineficientes para la terapia química. En este análisis se observa que la cepa AgZ1P1C2M2 tuvo resistencia seis, MCK sangre01M3 y SangreZ1P1C2M1 son cepas con 7 resistencias y 03MCK asoM3 es la cepa con mayor número de resistencias a ocho antibióticos (AM, DC, CLM, E, SXT, PE, y TE) no importando el momento de su aislamiento dichas cepas tenían el mismo patrón de resistencia.

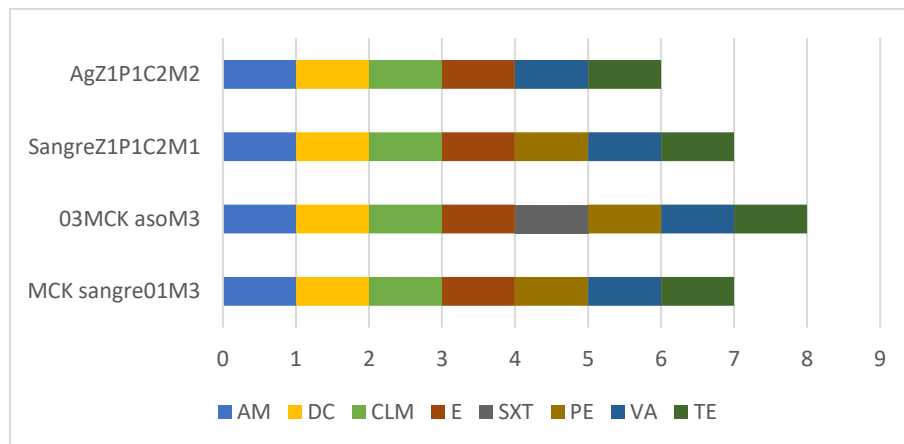
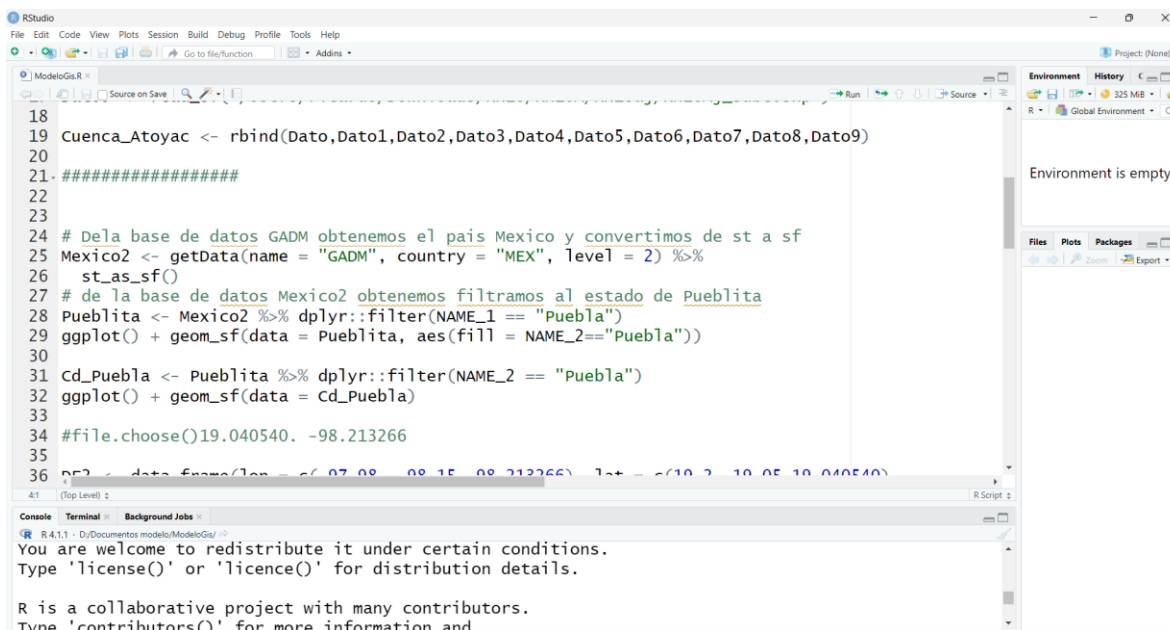


Figura 47. Multirresistencia de las cepas de *Enterococcus* aisladas de agua en las diferentes épocas del año.

## 9.8 Uso del modelado para observar la dispersión de bacterias en la ciudad de Puebla

El uso de modelos en la microbiología ambiental es algo poco común debido a la dificultad que representa, generalmente los modelos epidemiológicos nos permiten observar los focos de infección y hacia donde se propagan debido a los reportes de ciudadanos enfermos, por lo cual la realización de este modelo es importante e innovador debido a que nos centramos en el movimiento del microorganismo en el ambiente por medio de las condiciones ambientales, algo que hasta ahora no se ha realizado.

La realización de este modelo se está llevando a cabo en el software R studio y matlab, el cual es de licencia libre, hasta el momento se tiene un gran avance en la realización del modelo (figura 48). Hasta el momento se ha mejorado el modelo a un modelo más funcional, y ya se han podido agregar mapas de la ciudad de Puebla y se logrado hacer mapas de calor de la ciudad con datos reales como se observa en la figura 48.



```
18
19 Cuenca_Atoyac <- rbind(Dato,Dato1,Dato2,Dato3,Dato4,Dato5,Dato6,Dato7,Dato8,Dato9)
20
21 #####
22
23
24 # De la base de datos GADM obtenemos el país Mexico y convertimos de st a sf
25 Mexico2 <- getData(name = "GADM", country = "MEX", level = 2) %>%
26   st_as_sf()
27 # de la base de datos Mexico2 obtenemos filtramos al estado de Pueblita
28 Pueblita <- Mexico2 %>% dplyr::filter(NAME_1 == "Puebla")
29 ggplot() + geom_sf(data = Pueblita, aes(fill = NAME_2=="Puebla"))
30
31 Cd_Puebla <- Pueblita %>% dplyr::filter(NAME_2 == "Puebla")
32 ggplot() + geom_sf(data = Cd_Puebla)
33
34 #file.choose()19.040540. -98.213266
35
36 DF2 <- data.frame(lon = c( 07.08, 08.15, 08.213266), lat = c(19.0, 19.05, 19.040540))
```

Console Terminal Background Jobs

```
R 4.1.1 - D:\Documentos modelo\ModeloGis/
You are welcome to redistribute it under certain conditions.
Type 'license()' or 'licence()' for distribution details.

R is a collaborative project with many contributors.
Type 'contributors()' for more information and
```

Figura 48. Software R studio donde se elabora el modelo

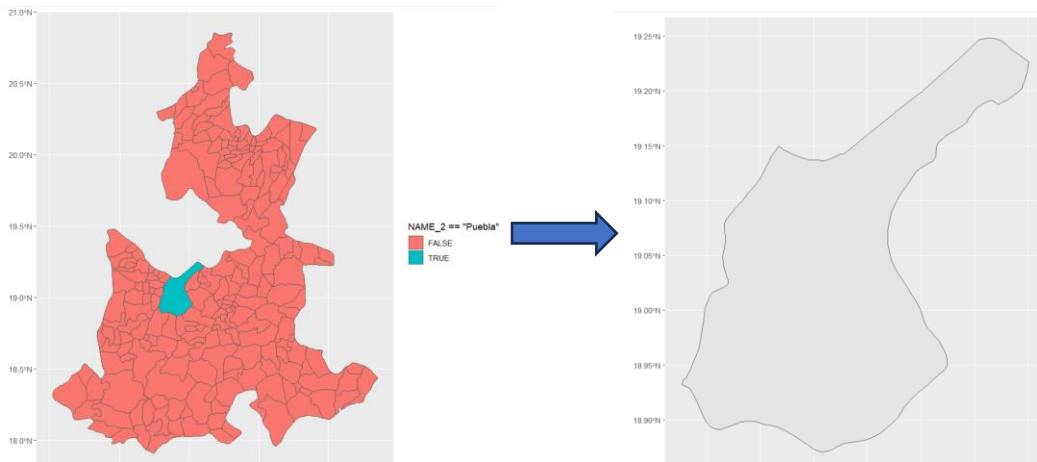


Figura 49. Mapa elaborado en R studio donde se muestra un mapa del estado de Puebla y se recorta la ciudad de Puebla.

Una vez se pudieron insertar y recortar los mapas para centrarnos en la ciudad de Puebla, se realizó un mapa por donde observara el Río Atoyac y se marcaron la posición de algunas estaciones meteorológicas del sistema RAMM como se observa en la figura 50, cabe destacar que los base de datos para elaborar este mapa se descargó de la página del INEGI, por lo cual nos guiamos directamente de áreas geográficas que ellos emplean para la elaboración de sus mapas y exactamente de como lo indica un mapa

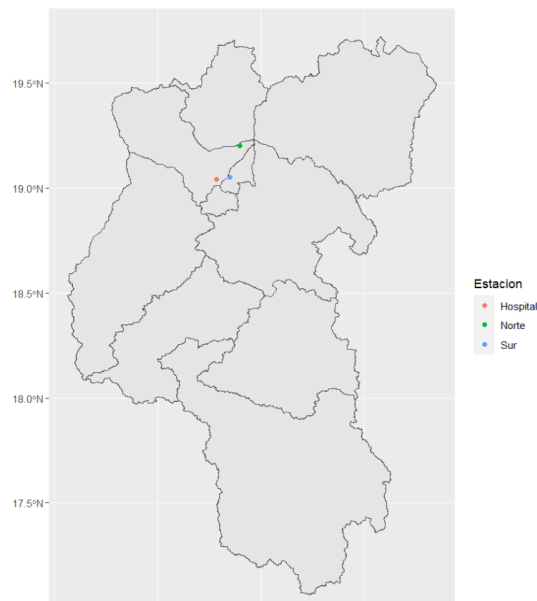
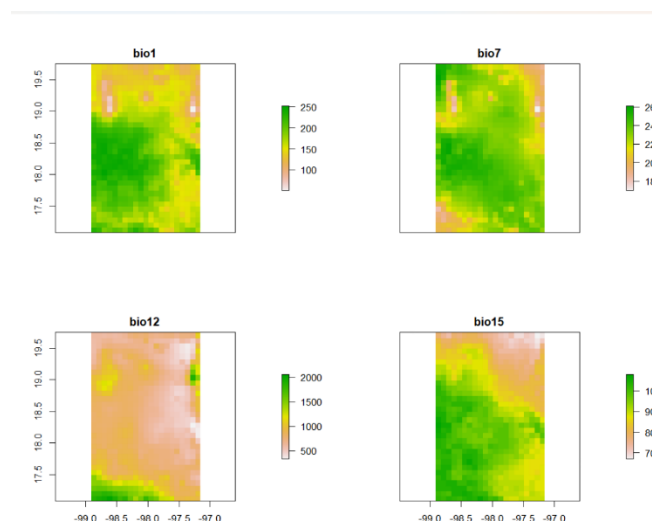


Figura 50. Mapa de las entidades que abarca el Río Atoyac

Con los mapas encontrados del INEGI pudimos elaborar las primeras pruebas de los cambios de temperatura en las zona que abarca la ciudad de Puebla con respecto a los mapas del INEGI y los datos que tenemos en los diferentes puntos de muestreo en diferentes días otorgados por el sistema RAMM como se puede observar en la siguiente figura 51, sin embargo, aún no hemos podido juntarlo en un sola mapa ya que según los shape files que empleamos genera los mapas de isotermas de calor por separado, estado a cierta altura, ya que logramos hacer un mapa de calor que abarcara esta zona (según datos del INEGI) pero de una altitud mucho mayor como se observa en la figura 52.



*Figura 51. Isotermas de calor generadas por medio de los datos del sistema RAMM de la ciudad de Puebla.*

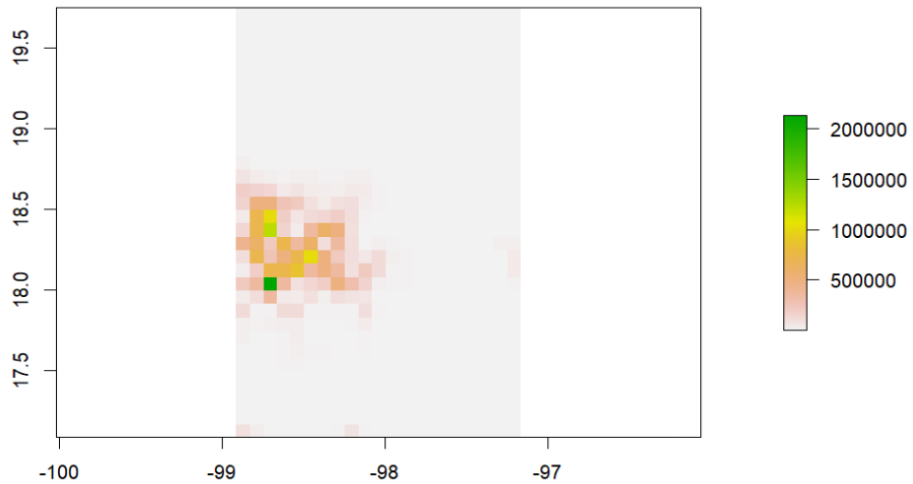


Figura 52. Isothermas de calor generadas por medio de los datos del sistema RAMM de la ciudad de Puebla.

En la figura 53, se observa en color verde el volcán Popocatepetl y los municipios aledaños, donde se puede observar el espectro de calor presente en estas entidades. Por último, se hizo un ensayo con la misma zona donde se realizó los isothermas de calor, pero ahora agregando una cantidad de microorganismos con valores simulados, como se puede observar en la figura 88, se presenta un mapa simulado donde se emplearon las variables de temperatura y cantidad de microorganismos, en la zona de se observa el Popocatepetl y los municipios aledaños.

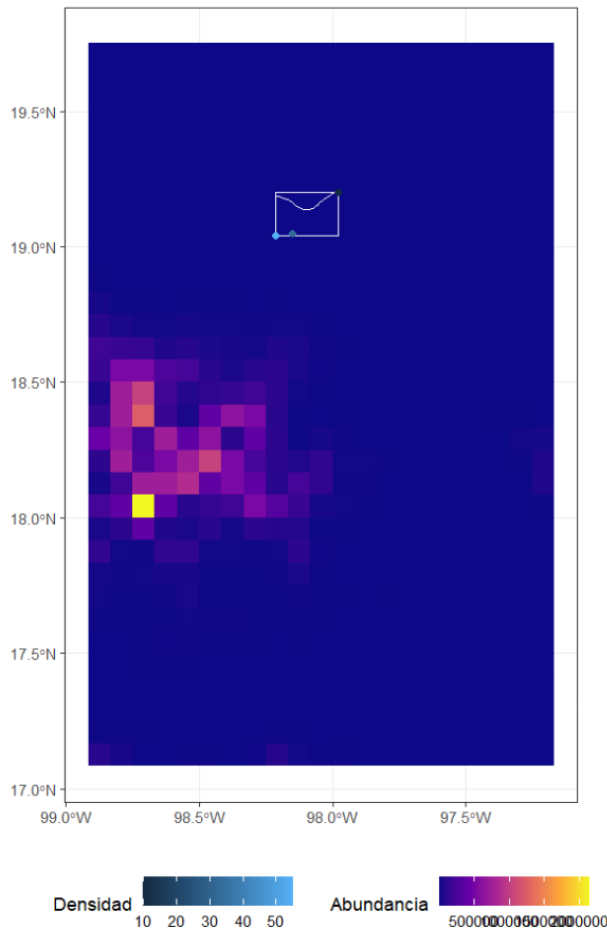


Figura 53. Mapa simulado de una isoterma de calor y la cantidad de microorganismos presentes en el aire. Donde se observa en amarillo el volcán Popocatepetl, en naranja son colores que denotan la temperatura y la densidad la cantidad de bacterias en una gama de colores en azul.

### 9.9 Uso de una representación gráfica y modelo dispersión de bacterias en la ciudad de Puebla

El uso de representaciones graficas en la microbiología ambiental es algo poco común debido a la dificultad que representa, generalmente los modelos epidemiológicos nos permiten observar los focos de infección y hacia donde se propagan debido a los reportes de ciudadanos enfermos, por lo cual la realización de este modelo es importante e innovador debido a que nos centramos en el movimiento del microorganismo en el ambiente por medio de las condiciones ambientales, algo que hasta ahora no se ha

realizado. Se realizó un mapa que pusiera en evidencia la concentración de cada punto de muestreo, el cual se muestra en la figura 54.

## Concentración de bacterias por zona

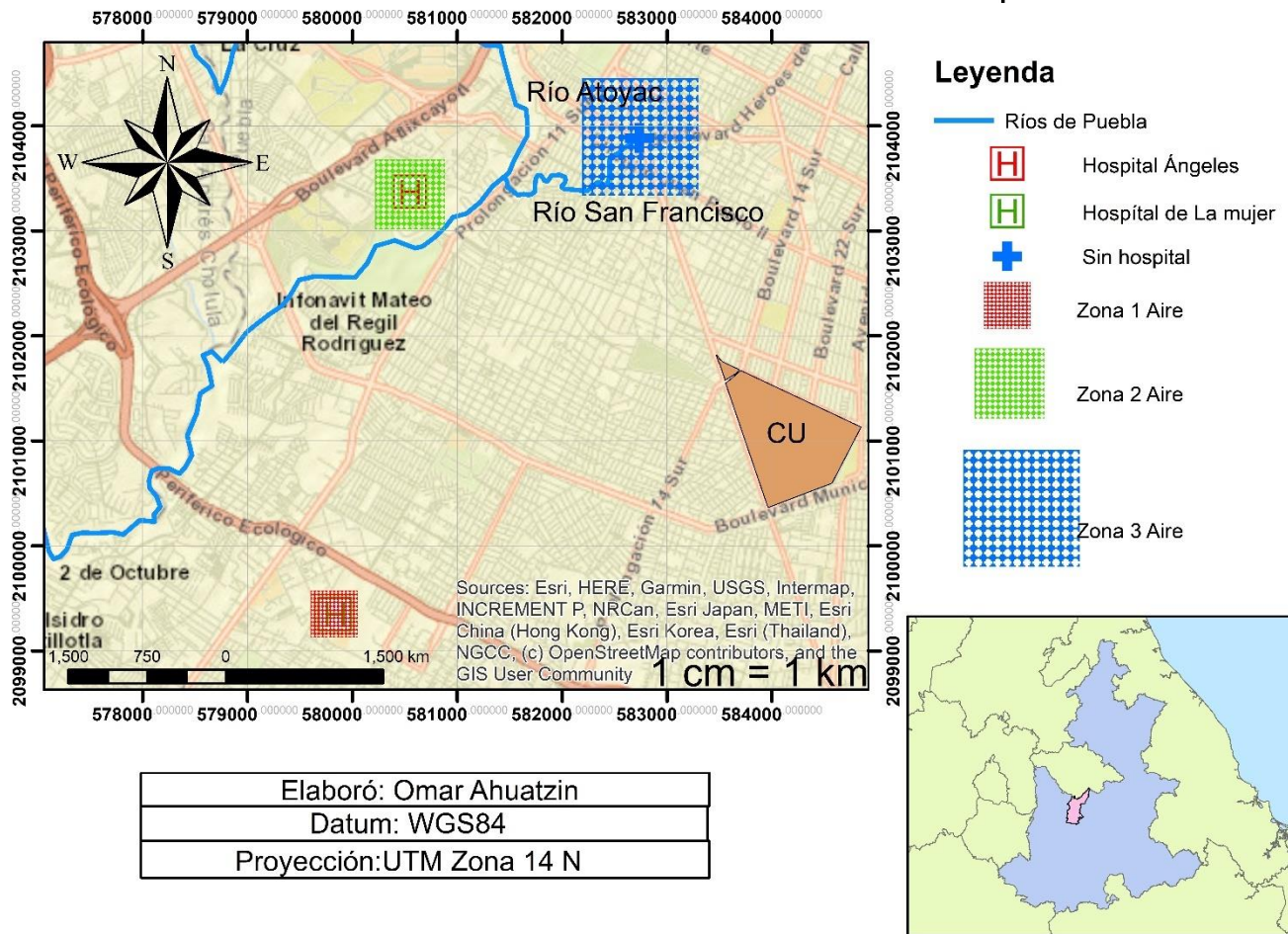


Figura 54. Representación de la concentración de bacterias presente en los diferentes puntos de muestreo

En el área de los hospitales se encuentra la mayor cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) de la zona 3 de muestreo, esto puede ser causado por diferentes variantes ambientales propias de la zona, las cuales son el flujo vehicular, las ráfagas de viento y la caída de agua del río San Francisco, todas estas variantes pueden afectar enormemente la cantidad de bacterias que se pueden encontrar suspendidas en el aire

que en comparación con el punto 1 y 2, la cantidad de edificios presentes y el poco flujo vehicular pueden frenar estas ráfagas de viento generando así que las bacterias procedentes en el suelo o provenientes de bioaerosoles provenientes de agua no puedan desplazarse del punto fuente (Blocken et al., 2012). La presencia de bacterias ESKAPE fue mayor en el punto de muestro 3, siendo este punto el lugar donde mayor cantidad y especies de este grupo se logró recuperar, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas* fueron bacterias que se encontraron en mayor cantidad en este punto comparada con las otras zonas en muestras de aire, recordemos, que este punto de muestreo es importante porque es la zona sin hospitales y además recoge una gran cantidad de agua residuales provenientes de la mancha urbana. En la mayoría de los casos cuando se presentó viento en los diferentes muestreos, se presentaba de noreste a suroeste, las ráfagas de viento fueron casi siempre intermitentes y nunca superaron los 15 km/hora, esto es un factor importante para dispersión de bacterias, ya que, depende enteramente de la presencia, dirección y velocidad del viento, generando una dispersión de microorganismos de la zona norte de la ciudad hacia la zona sur en todos los muestreos como se muestra en la figura 55.

# Concentración de bacterias por zona

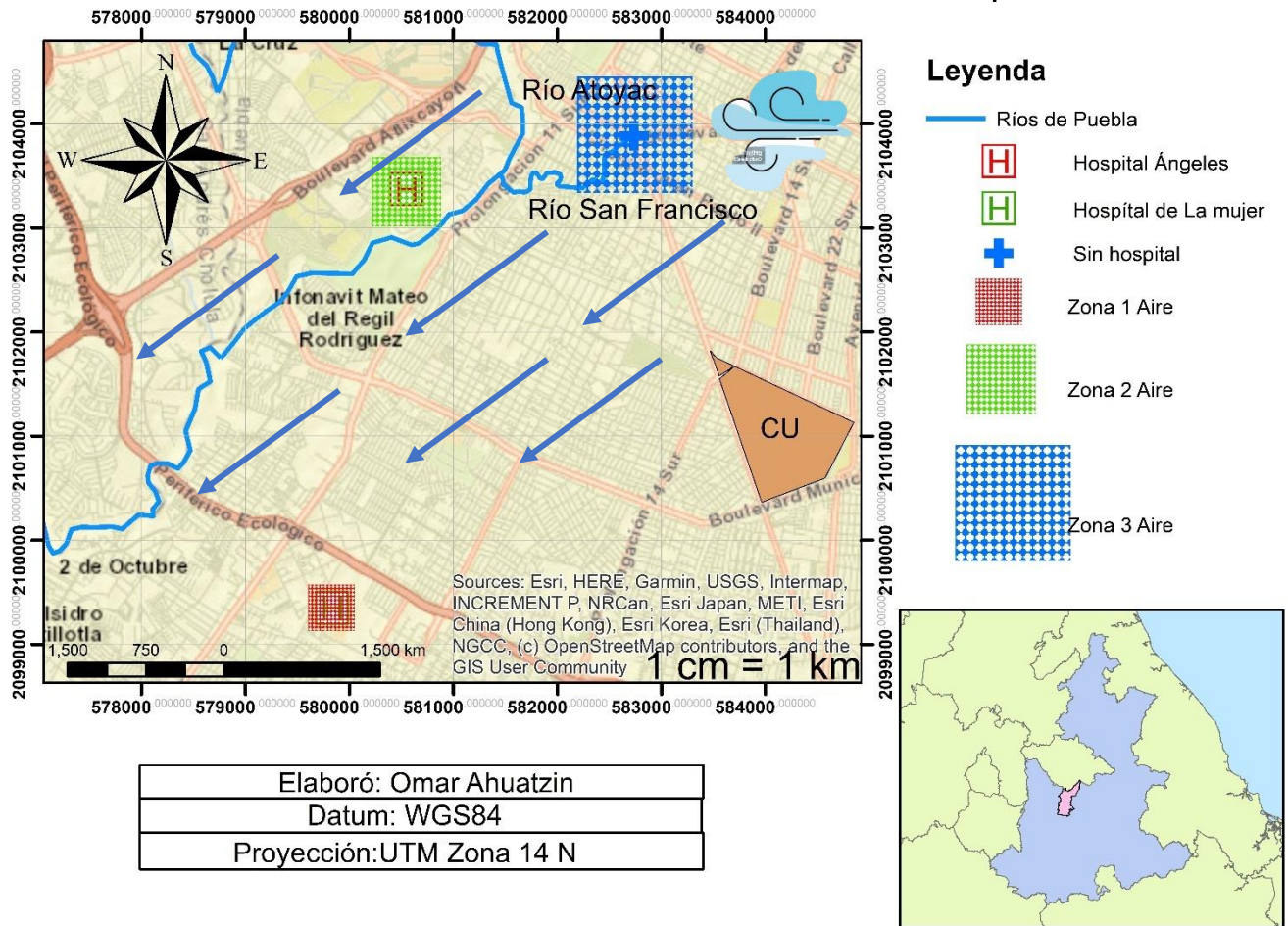


Figura 55. Representación de la movilización de bacterias en el aire por efecto del viento

El análisis de los microorganismos en el aire es un proceso de investigación complejo debido a la gran cantidad de variables que se presentan, en el presente estudio se tomaron en cuenta factores como la temperatura, la humedad, presencia de viento, velocidad de viento, etc.

Los datos que obtuvimos sugieren la posibilidad de que la temperatura si es un factor importante para el desarrollo de microorganismos en el ambiente, ya que como lo menciona (Madigan et al., (2015) dependiendo la temperatura pueden desarrollarse diferentes tipos de microorganismos o también puede afectar su desarrollo de diferentes maneras, lo cual afectaría su supervivencia, en el presente proyecto eso se vio evidenciado en la cantidad de bacterias que se lograban obtener de las diferentes

muestras, donde existían placas las cuales no tuvieron crecimiento bacteriano, esto se evidencio específicamente en los medios de cultivo los cuales fueron obtenidos en días con condiciones climáticas muy elevadas pertenecientes a primavera e invierno. Como menciona Tiedje et al., (1999)) las condiciones ambientales estacionales, son un factor para LA SUPERVIVENCIA del microorganismo en el ambiente, lo que puede aumentar o disminuir su presencia y actividad en el ambiente.

Un factor climatológico que es de suma importancia en la dispersión es la forma en la que el microorganismo es liberado al ambiente, (Burrows et al., 2009) existen diferentes formas que tienen las bacterias para llegar al ambiente de las cuales, las más importantes son la formación de bioaerosoles y liberación mecánica, que consiste en ráfagas de viento que movilizan las partículas del suelo, esta última se vi evidenciada debido a que cada muestreo se realizó por triplicado, y el tiempo entre toma y toma de muestra no superó el minuto, sin embargo, si se notó las ráfagas de viento que al ponerse de manifiesto elevaron considerablemente las cantidades de microorganismos en las diferentes placas donde se realizaron las tomas de muestra. Además, esto último explicaría porque una zona de muestreo 3 con una alta dinámica vehicular tiene una mayor presencia de microorganismos comparadas con las que tienen una baja o mediana dinámica vehicular.

Otro factor que contribuye enormemente y trabaja en conjunto con la forma de liberación es la presencia del viento y su dirección ya que dependiendo de factores propios del microorganismo como son el tamaño, peso o si está anclada a otra sustancia favorecerá su transporte por el aire.

Con relación al modelo, se logró realizar un programa funcional apoyados con Matlab, el cual se puede emplear para observar y mediar la dispersión de bacterias en una área determinada con relación a las características ambientales que presenta la zona.

Como se puede observar la imagen 56, se observa una gráfica que nos ayuda a comprender como se da la dispersión de bacterias, en la gráfica se modelaron datos del punto de muestreo número 1 con todas las mediciones de variables como, dirección del

viento, velocidad del viento, cantidad de bacterias su pendidas, altura de la toma de muestra, etc., además de factores como la estabilidad del sistema y la zona. Se observa de color rojo la zona crítica donde se encuentran la mayor concentración de bacterias, esta zona tuvo una dispersión aproximada de 200 metros del punto fuente en forma helicoidal, por lo cual a 200 metros hay un alto riesgo de entrar en contacto con estos microorganismo, la zona naranja y amarilla representan una disminución gradual de la concentración bacterias en el aire, siendo alrededor de los 400 metros zonas que ya no representan un alto riesgo de encontrar estas bacterias.

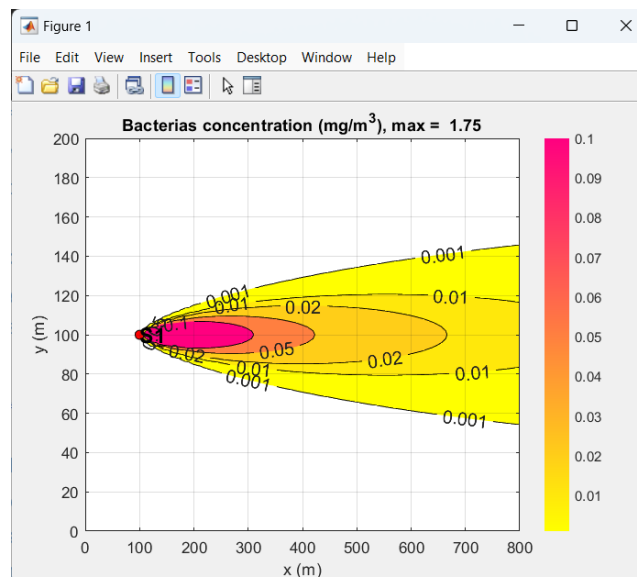


Figura 56. Modelo de dispersión de bacterias en el aire

Cabe destacar que este modelo a pesar de que es operativo, aun es necesario nutrirlo con una mayor cantidad de datos para poder hacerlo más preciso y pueda ser mejorado, ya sea para dar datos más cercanos a la realidad o poder emplearlo como un modelo predictivo.

## VI. CONCLUSIONES

- Existe un gran interés en la comunidad científica por estudiar los patógenos del grupo ESKAPE debido a su resistencia antimicrobiana y porque son los principales agentes causales de las infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS). El estado de Puebla ocupa el 5to. lugar a nivel nacional en la incidencia de casos relacionados con las IAAS.
- La revisión de documentos científicos reveló que la mayoría de los estudios del grupo ESKAPE ha sido enfocado a nivel hospitalario y un menor porcentaje se ha dedicado a identificar al menos un patógeno de este grupo en el ambiente, ya sea en agua y/o en aire, lo que da evidencia que las bacterias del grupo ESKAPE también pueden encontrarse en forma libre y ser un riesgo para la salud.
- Las áreas del conocimiento que más información aportan sobre la presencia del grupo ESKAPE en los diferentes compartimentos ambientales son: salud, medicina, inmunología y la microbiología. El área ambiental cada vez incrementa los documentos relacionados a las interacciones de patógenos ESKAPE con el ambiente, como son la adaptación y proliferación de los patógenos en las diferentes condiciones climatológicas.
- En el análisis de documentos se hallan diferentes perfiles de resistencia antimicrobiana en cada patógeno del grupo ESKAPE, pero todos ellos concuerdan en la resistencia de betalactámicos seguido de vancomicina.
- En el monitoreo ambiental de las zonas de estudio se encontró una carga bacteriana mayor en el agua a comparación con la del aire, esto podría deberse a las características propias del compartimento ambiental como al tiempo de vida de cada microorganismo en el aire.
- La identificación microbiológica realizada en las muestras de agua y aire revelan la existencia de géneros bacterianos de ESKAPE, aún no se descarta la existencia de especies bacterianas del grupo de estudio hasta alcanzar su identificación molecular.
- Los resultados del monitoreo ambiental en los diferentes puntos de muestreo evidenciaron que existe una mayor carga bacteriana en los efluentes que en el aire aledaño a hospitales, el hallazgo de algunos géneros bacterianos fue

similar en ambos compartimentos, lo que indica una relación estrecha entre agua y aire, además de considerar las interacciones de los factores abióticos en la migración de los microorganismos.

- La existencia o permanencia de los géneros bacterianos en cada compartimento ambiental tanto en primavera como verano, depende tanto de las características propias del compartimento como de la capacidad que tiene cada microorganismo para sobrevivir en dichos lugares.
- La detección molecular de genes específicos corrobora la existencia tanto en efluentes como en aire de la Ciudad de Puebla de géneros bacterianos pertenecientes al grupo a ESKAPE, como en el caso de *Pseudomona*, por lo que se requiere una atención inmediata a corto o mediano plazo para evitar enfermedades infecciosas en la población, así como el saneamiento del agua residual para evitar la propagación de patógenos.
- Los resultados evidenciaron la presencia de bacterias de tipo ESKAPE en las diferentes muestras de agua y de aire en las diferentes épocas del año, con perfiles de multirresistencia, los cuales representan un problema de salud pública por la cantidad de resistencia a diferentes antibióticos, así como su virulencia.
- La selección de un modelo adecuado, así como la adquisición de un software no es viable, la creación de un modelo propio que se adapte a nuestras necesidades ha demostrado ser eficaz, aun el modelo le falta mucho por desarrollar, sin embargo, la creación y mejoramiento del mismo abre nuevas posibilidades para la detección de bacterias ESKAPE además de una posible patente.

## X. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Adegoke, A. A., Fatunla, O. K., & Okoh, A. I. (2020). Critical threat associated with carbapenem-resistant gram-negative bacteria: prioritizing water matrices in addressing total antibiotic resistance. In *Annals of Microbiology* (Vol. 70, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01579-4>
- Aguilera, Á., de Diego-Castilla, G., Osuna, S., Bardera, R., Sor Mendi, S., Blanco, Y., & González-Toril, E. (2021). Microbial Ecology in the Atmosphere: The Last Extreme Environment. In *Extremophilic Microbes and Metabolites - Diversity, Bioprospecting and Biotechnological Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81650>
- Aguirre-Avalos, G., Mijangos-Méndez, J. C., & Amaya-Tapia, G. (2010). Bacteriemia por *Acinetobacter baumannii*. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 48(6), 625–634. <https://www.redalyc.org/pdf/4577/457745511008.pdf>
- Alfaro-Martínez, V. (2019). *Monitoreo de genes de virulencia de E. coli en el río Alseseca (Tesis de pregrado)*. [Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/6a2ecc33-29fb-4ecf-bc1d-e8f186c71f84>
- Alvarado Chávez, P. A., & Ivonne Roza Mora, L. N. (2019). *Determinación de la presencia de bioaerosoles y su riesgo asociado a la salud en el área de urgencias de un hospital de ii nivel en la localidad de Engativá, Bogotá (Tesis de pregrado)* [Universidad de La Salle]. [https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=2115&context=ing\\_ambiental\\_sanitaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=2115&context=ing_ambiental_sanitaria)
- Andrade, V., & Silva, J. (2004). Caracterización de *Klebsiella pneumoniae* productora de la beta-lactamasa SHV-5, en una unidad de cuidados intensivos. *Salud Pública de México*, 46(6), 524–528. <https://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v46n6/22565.pdf>

- Arredondo García, J. L., Flores, E. , M. A., Arzate Barbosa, P., & Medina Cortina, J. H. (2018). Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium* en un hospital de tercer nivel. *Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica*, 31(2), 56–61. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=82714>
- Baghal Asghari, F., Dehghani, M. H., Dehghanzadeh, R., Farajzadeh, D., Yaghmaeian, K., Mahvi, A. H., & Rajabi, A. (2021). Antibiotic resistance and antibiotic-resistance genes of *Pseudomonas* spp. and *Escherichia coli* isolated from untreated hospital wastewater. *Water Science and Technology*, 84(1), 172–181. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.207>
- Barletta Farías, R. C., Pérez Ponce, L. J., Castro Vega, G., Pujol Pérez, M., Barletta del Castillo, J. E., & Dueñas Pérez, Y. (2018). *Acinetobacter baumannii* multirresistente: un reto para la terapéutica actual. *Medisur*, 16(2), 322–333. <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v16n2/ms15216.pdf>
- BioMérieux SA. (2017). *Hoja de seguridad API 20e*. Hoja de Seguridad API 20e. <https://quios.com.co/wp-content/uploads/2017/05/API-20E-FT.pdf>
- Blocken, B., Janssen, W. D., & van Hooff, T. (2012). CFD simulation for pedestrian wind comfort and wind safety in urban areas: General decision framework and case study for the Eindhoven University campus. *Environmental Modelling & Software*, 30, 15–34. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2011.11.009>
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Brooks, L. E., Ul-Hasan, S., Chan, B. K., & Siström, M. J. (2018). Quantifying the Evolutionary Conservation of Genes Encoding Multidrug Efflux Pumps in the ESKAPE Pathogens To Identify Antimicrobial Drug Targets. *MSystems*, 3(3). <https://doi.org/10.1128/mSystems.00024-18>

- Brown, A. D. (1953). The Survival of Airborne Microorganisms. II. Experiments With Escherichia Coll Near 0 °C. *Australian Journal of Biological Sciences*, 6(3), 470–480. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/BI9530470>
- Brown, G. S., & Mohr, A. J. (2015). Fate and Transport of Microorganisms in Air. In *Manual of Environmental Microbiology* (pp. 3.2.4-1-3.2.4-12). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555818821.ch3.2.4>
- Brown, P. C., Borowska, E., Schwartz, T., & Horn, H. (2019). Impact of the particulate matter from wastewater discharge on the abundance of antibiotic resistance genes and facultative pathogenic bacteria in downstream river sediments. *Science of The Total Environment*, 649, 1171–1178. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.394>
- Burrows, S. M., Butler, T., Jöckel, P., Tost, H., Kerkweg, A., Pöschl, U., & Lawrence, M. G. (2009). Bacteria in the global atmosphere – Part 2: Modeling of emissions and transport between different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9(23), 9281–9297. <https://doi.org/10.5194/acp-9-9281-2009>
- Camarena, J., & Sánchez, R. (1998). Infección por Staphylococcus aureus resistente a meticilina. *Rev. SEIMC–Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. [https://www.researchgate.net/profile/Jj-Camarena/publication/242174791\\_INFECION\\_POR\\_Staphylococcus\\_aureus\\_RESISTENTE\\_A\\_METICILINA/links/54141400cf2788c4b35a19d/INFECION-POR-Staphylococcus-aureus-RESISTENTE-A-METICILINA.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jj-Camarena/publication/242174791_INFECION_POR_Staphylococcus_aureus_RESISTENTE_A_METICILINA/links/54141400cf2788c4b35a19d/INFECION-POR-Staphylococcus-aureus-RESISTENTE-A-METICILINA.pdf)
- Carrazana, E., Ruiz-Gil, T., Fujiyoshi, S., Tanaka, D., Noda, J., Maruyama, F., & Jorquera, M. A. (2023). Potential airborne human pathogens: A relevant inhabitant in built environments but not considered in indoor air quality standards. In *Science of the Total Environment* (Vol. 901). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165879>
- Cervantes-García, E., García-González, R., & Salazar-Schettino, P. M. (2014). Importancia de Staphylococcus aureus meticilina resistente intrahospitalario y

adquirido en la comunidad. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(4), 196–204. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=52573#:~:text=Staphylococcus%20aureus%20es%20una%20de,hasta%20una%20fatal%20neumon%C3%ADa%20necrotizante>.

Chang-Hua, C., Li-Chen, L., Yu-Jun, C., & Chih-Yen, C. (2016). Análisis de mortalidad debida a una infección del torrente sanguíneo por *Enterococcus faecium* en Taiwán central. *Revista Chilena de Infectología*, 33(4), 395–402. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000400004>

Chavda, K. D., Chen, L., Fouts, D. E., Sutton, G., Brinkac, L., Jenkins, S. G., Bonomo, R. A., Adams, M. D., & Kreiswirth, B. N. (2016). Comprehensive Genome Analysis of Carbapenemase-Producing *Enterobacter* spp.: New Insights into Phylogeny, Population Structure, and Resistance Mechanisms. *MBio*, 7(6). <https://doi.org/10.1128/mBio.02093-16>

Corrales-Reyes, I. E., Fornaris-Cedeno, Y., & Reyes-Pérez, J. J. (2018). Análisis bibliométrico de la revista investigación en educación médica. Período 2012-2026. *Investigación En Educación Médica*, 7(25), 18–26. <https://www.medigraphic.com/pdfs/invedumed/iem-2018/iem1825d.pdf>

Decker, B. K., & Palmore, T. N. (2014). Hospital Water and Opportunities for Infection Prevention. *Current Infectious Disease Reports*, 16(10), 432. <https://doi.org/10.1007/s11908-014-0432-y>

Del Arco, J. (2014). Antibióticos: situación actual. *Farmacia Profesional*, 28(5), 29–33. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-X0213932414516605>

DeLeon, S., Clinton, A., Fowler, H., Everett, J., Horswill, A. R., & Rumbaugh, K. P. (2014). Synergistic interactions of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in an In vitro wound model. *Infection and Immunity*, 82(11), 4718–4728. <https://doi.org/10.1128/IAI.02198-14>

- Deodatus, J. A. A., Paas, S. F. E., Wagenvoort, G. H. J., & de Kubber, M. M. (2021). Case report: appendicitis induced *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in a young healthy male. *International Journal of Emergency Medicine*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12245-021-00358-5>
- DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA. (2017). *Informes Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) 2015*. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/212974/infoanual\\_rhove\\_2015.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/212974/infoanual_rhove_2015.pdf)
- Echeverri Toro, L. M., & Castaño Correa, J. C. . (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Iatreia*, 23(3), 240–249. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180518994006>
- Espino, D., Sosa Díaz, J., & Sosa Díaz, R. Y. (2018). *Klebsiella pneumoniae*, un patógeno de alta prioridad para la fabricación de nuevos antibióticos. *Revista Médica Electrónica*, 40(4), 1271–1273. <http://scielo.sld.cu/pdf/rme/v40n4/rme330418.pdf>
- Falodun, O. I., & Ikusika, E. O. (2020). Extended Spectrum Beta-Lactamase and Metallo Beta-Lactamase Producing *Pseudomonas* Species Isolated From Fish Pond Water in Ibadan, Nigeria. *International Journal of Environmental Studies*, 77(5), 865–875. <https://doi.org/10.1080/00207233.2019.1705044>
- Fariña, Norma. (2016). Bacterial resistance. A global public health problem with difficult solution. *Memorias Del Instituto de Investigaciones En Ciencias de La Salud*, 14(1), 6–7. <http://archivo.bc.una.py/index.php/RIIC/article/view/697/533>
- Furlan, J. P. R., Savazzi, E. A., & Stehling, E. G. (2020). Genomic insights into multidrug-resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* co-harboring metal resistance genes in aquatic environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110782. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110782>
- Garza-Velasco, R., Zúñiga-Rangel, O., & Manuel Perea-Mejía, L. (2013). La importancia clínica actual de *Staphylococcus aureus* en el ambiente

- intrahospitalario. *Educación Química*, 24(1), 8–13.  
[https://doi.org/10.1016/S0187-893X\(13\)73188-4](https://doi.org/10.1016/S0187-893X(13)73188-4)
- Ghosh, B., Lal, H., & Srivastava, A. (2015). Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environment International*, 85, 254–272.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.09.018>
- Giraldo Aristizábal, A., Aguilera Becerra, A. M., Urbano Cáceres, E. X., Pedraza Bernal, A. M., & Jaimes Bernal, C. P. (2021). Comparación teórica entre técnicas fenotípicas y genotípicas utilizadas en la identificación de *Listeria monocytogenes*. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 16(2), 7–19.  
<https://doi.org/10.18359/rfcb.5012>
- Gómez-Álvarez, C. A., Leal-Castro, A. L., Pérez- de González, M. D. J., & Navarrete-Jiménez, M. L. (2005). Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. *Revista de La Facultad de Medicina*, 53(1), 27–34. <https://www.redalyc.org/pdf/5763/576363928005.pdf>
- González Mendoza, J., Maguiña Vargas, C., & González Ponce, F. D. M. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana*, 16(2), 322–334. <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v36n2/a11v36n2.pdf>
- Grisales Penagos, D. K., Ortega López, L. J., & Rodríguez Chaparro, T. (2012). Remoción de la materia orgánica y toxicidad en aguas residuales hospitalarias aplicando ozono. *Dyna*, 79(173), 109–115.  
<https://www.redalyc.org/pdf/496/49623206014.pdf>
- Gu, J., Xie, X.-J., Liu, J.-X., Shui, J.-R., Zhang, H.-Y., Feng, G.-Y., Liu, X.-Y., Li, L.-C., Lan, Q.-W., Jin, Q.-H., Li, R., Peng, L., Lei, C.-W., & Zhang, A.-Y. (2020). Prevalence and transmission of antimicrobial-resistant *Staphylococci* and *Enterococci* from shared bicycles in Chengdu, China. *Science of The Total Environment*, 738, 139735. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139735>

- Guzmán-Terán, C., Rodríguez-Rodríguez, V., & Calderón-Rangel, A. (2018). Análisis de usos y resistencia a antibióticos en una UCI de Montería, Colombia. *Revista Médica de Risaralda*, 24(2), 75–80. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6708347.pdf>
- Hamarova, L., Kopcakova, A., Kocianova-Adamcova, M., Piknova, M., Javorsky, P., & Pristas, P. (2021). Antimicrobial Resistance of Enterococci from Wild Animals in Slovakia. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30(3), 2085–2091. <https://doi.org/10.15244/pjoes/126371>
- Harada, K., Shimizu, T., Mukai, Y., Kuwajima, K., Sato, T., Usui, M., Tamura, Y., Kimura, Y., Miyamoto, T., Tsuyuki, Y., Ohki, A., & Kataoka, Y. (2016). Phenotypic and Molecular Characterization of Antimicrobial Resistance in *Klebsiella* spp. Isolates from Companion Animals in Japan: Clonal Dissemination of Multidrug-Resistant Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01021>
- Herazo, Y. C. R., Caballero, A. J. D., Salgado, B. A., & Vizcaino, V. V. (2010). Métodos de identificación bacteriana y sus aplicaciones en la investigación odontológica. *Duazary*, 7(2), 247–256. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=512156323009>
- Hernández, A., Yagüe, G., García Vázquez, E., Simón, M., Moreno Parrado, L., Canteras, M., & Gómez, J. (2018). Infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa* múltiresistente incluido carbapenémicos: factores predictivos y pronósticos. Estudio prospectivo 2016-2017. *Revista Espanola de Quimioterapia : Publicacion Oficial de La Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 31(2), 123–130. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6159385/pdf/revespquimioter-31-123.pdf>

- Hernandez S., & Leiva J. (2005). Bacterias multirresistentes. *Gastroenterología y Hepatología Continuada*, 4(4), 191–195. [https://doi.org/10.1016/S1578-1550\(05\)75141-X](https://doi.org/10.1016/S1578-1550(05)75141-X)
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, I. (2019). *Informe Nacional de Calidad del Aire 2018, México*. Informe Nacional de Calidad Del Aire 2018, México. <http://cambioclimatico.gob.mx:8080/xmlui/handle/publicaciones/346>
- Instituto Nacional de Estadística, G. e I. (INEGI). (2020). *Población con afiliación a servicios de salud por entidad federativa según institución, 2020*. Población Con Afiliación a Servicios de Salud Por Entidad Federativa Según Institución, 2020. [https://www.inegi.org.mx/app/tabulados/interactivos/?px=Derechohabiencia\\_02&bd=Derechohabiencia#variables](https://www.inegi.org.mx/app/tabulados/interactivos/?px=Derechohabiencia_02&bd=Derechohabiencia#variables)
- Kizny Gordon, A. E., Mathers, A. J., Cheong, E. Y. L., Gottlieb, T., Kotay, S., Walker, A. S., Peto, T. E. A., Crook, D. W., & Stoesser, N. (2017). The Hospital Water Environment as a Reservoir for Carbapenem-Resistant Organisms Causing Hospital-Acquired Infections—A Systematic Review of the Literature. *Clinical Infectious Diseases*, 64(10), 1435–1444. <https://doi.org/10.1093/cid/cix132>
- Kozajda, A., Ježak, K., & Kapsa, A. (2019). Airborne Staphylococcus aureus in different environments—a review. In *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 26, Issue 34, pp. 34741–34753). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06557-1>
- Lepuschitz, S., Schill, S., Stoeger, A., Pekard-Amenitsch, S., Huhulescu, S., Inreiter, N., Hartl, R., Kerschner, H., Sorschag, S., Springer, B., Brisse, S., Allerberger, F., Mach, R. L., & Ruppitsch, W. (2019). Whole genome sequencing reveals resemblance between ESBL-producing and carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae isolates from Austrian rivers and clinical isolates from hospitals. *Science of The Total Environment*, 662, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.179>

- López Velandia, D. P., Torres Caycedo, M. I., & Prada Quiroga, C. F. (2016). Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. *Universidad y Salud*, 18(1), 190–202. <https://doi.org/10.22267/rus.161801.30>
- Lykov, I. N., & Volodkin, V. S. (2021a). Presence of antibiotic-resistant bacteria in the environment. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 677(5), 052044. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/5/052044>
- Lykov, I. N., & Volodkin, V. S. (2021b). Presence of antibiotic-resistant bacteria in the environment. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 677(5), 052044. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/5/052044>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *BROCK. BIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS 14ED* (S. A. Prentice Hall Hispanoamericana, Ed.; 14th ed.). Pearson.
- Mairi, A., Touati, A., Pantel, A., Zenati, K., Martinez, A. Y., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. (2019). Distribution of Toxinogenic Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* from Different Ecological Niches in Algeria. *Toxins*, 11(9), 500. <https://doi.org/10.3390/toxins11090500>
- Maldonado-Vega, M. , , , , , . . . & G. de P. D. L., Peña-Cabriales, J. J., De los Santos Villalobos, S., Castellanos-Arévalo, A. P., Camarena-Pozos, D., Arévalo-Rivas, B., Valdes-Santiago, L., Hernández -Valadez L.J., & Guzmán de Peña, D. L. (2014). Bioaerosoles y evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios ubicados en León, Guanajuato, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(4), 351–363. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992014000400004](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000400004)
- Męcik, M., Stefaniak, K., Harnisz, M., & Korzeniewska, E. (2024). Hospital and municipal wastewater as a source of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in the environment: a review. In

*Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 31, Issue 36, pp. 48813–48838). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-34436-x>

Méndez Puentes, C. A., Camacho Suarez, J. G., & Echeverry Hernandez, S. (2016). Identificación de bacterias y hongos en el aire de Neiva, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 17(5), 728–737. <https://doi.org/10.15446/rsap.v17n5.38468>

Mosso, M. A., Ullán, C., & de la Rosa, M. C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*, 5(1139–1987), 375–402. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2147812>

Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>

National Human Genome Research Institute (NHI). (2023, November 20). *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*. Reacción En Cadena de La Polimerasa (PCR). <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa>

NOM-045-SSA2-2005 , Pub. L. No. 45, NORMA Oficial Mexicana NOM-045-SSA2-2005, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales. (2008). Dirección General de Salud Ambiental

Norma Mexicana NMX-AA-003-SCFI-1980. AGUAS RESIDUALES.- MUESTREO, Pub. L. No. 003, Norma Mexicana NMX-AA-003-SCFI-1980.AGUAS RESIDUALES.- MUESTREO (1992). <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166762/NMX-AA-003-1980.pdf>

NORMA Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Salud Ambiental. Valores Límite Permisibles Para La Concentración de Partículas Suspendidas PM10 y PM2.5 En El Aire Ambiente y Criterios Para Su Evaluación., Pub. L. No. 025, NOM-025-SSA1-1993 (2014).

[https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5357042&fecha=20/08/2014#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5357042&fecha=20/08/2014#gsc.tab=0)

Norma Oficial Mexicana NOM-156-SEMARNAT-2012, Pub. L. No. 156 SEMARNAT, Norma Oficial Mexicana NOM-156-SEMARNAT-2012 (2012). [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5259464&fecha=16/07/2012&print=true](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259464&fecha=16/07/2012&print=true)

Notificación Semanal de Casos Nuevos (SUIVE) Secretaria de Salud. (2018). *Veinte principales causas de enfermedad Nacional, por mes de notificación Estados Unidos Mexicanos 2018*. . Veinte Principales Causas de Enfermedad Nacional, Por Mes de Notificación Estados Unidos Mexicanos 2018. . [http://187.191.75.115/anuario/2018/morbilidad/nacional/veinte\\_principales\\_causas\\_enfermedad\\_nacional\\_mes.pdf](http://187.191.75.115/anuario/2018/morbilidad/nacional/veinte_principales_causas_enfermedad_nacional_mes.pdf)

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017, February 27). *La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos*. La OMS Publica La Lista de Las Bacterias Para Las Que Se Necesitan Urgentemente Nuevos Antibióticos. <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

Organización Panamericana de la Salud. (2015, August 4). *Resistencia a los antimicrobianos*. Resistencia a Los Antimicrobianos. <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20acelera%20la%20aparici%C3%B3n%20y,antimicrobianos%20est%C3%A1%20acelerando%20este%20proceso>.

Organización Panamericana de la Salud. (2023). *Epidemiología*. Epidemiología. <https://www.paho.org/es/temas/epidemiologia>

Organización Panamericana de la Salud (OPS). (n.d.). *Red Latinoamericana y del Caribe de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos - ReLAVRA*. Red

Latinoamericana y Del Caribe de Vigilancia de La Resistencia a Los Antimicrobianos - ReLAVRA+. Retrieved November 26, 2023, from <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos/red-latinoamericana-caribe-vigilancia-resistencia-antimicrobianos#:~:text=Con%20ReLAVRA%2B%20la%20red%20se,mejor%20uso%20de%20los%20recursos.>

Organización Panamericana de la Salud, & Organización Mundial de la Salud. (2021, March 4). *Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS*. Patógenos Multirresistentes Que Son Prioritarios Para La OMS. <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>

Ortega González, L. M. (2010). Enterococos: actualización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(4), 507–515. <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v9n4/rhcm10410.pdf>

Paz-Zarza, V. M., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S. G., & Vázquez-López, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa: patogenidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria*. *Revista Chilena de Infectología*, 36(2), 180–189. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182019000200180>

Pérez, H., & Sánchez, V. L. (2010). Propuesta de diseño de monitoreo ambiental microbiológico para diagnóstico de niveles de contaminación en áreas de procesamiento aséptico. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 44(3), 7–14. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120684002>

Ponce de León-Rosales, S., Arredondo-Hernández, R., & López-Vidal, Y. (2015). [Resistance to antibiotic: A serious global problem]. *Gaceta Médica de Mexico*, 151(5), 681–689. [https://www.anmm.org.mx/GMM/2015/n5/GMM\\_151\\_2015\\_5\\_666-698.pdf](https://www.anmm.org.mx/GMM/2015/n5/GMM_151_2015_5_666-698.pdf)

- Powers, N. C., Wallgren, H. R., Marbach, S., & Turner, J. W. (2020). Relationship between Rainfall, Fecal Pollution, Antimicrobial Resistance, and Microbial Diversity in an Urbanized Subtropical Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(19). <https://doi.org/10.1128/AEM.01229-20>
- Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud, & Dirección General de Epidemiología. (2024). *BOLETÍN DE INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN DE LA SALUD CIERRE 2023 RED HOSPITALARIA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA*. [www.gob.mx/salud](http://www.gob.mx/salud)
- Rice, L. B. (2008). Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(8), 1079–1081. <https://doi.org/10.1086/533452>
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236–247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>
- Rivas, C., & Mota, M. (2008). Etiopatogenia microbiológica. In *Temas de Bacteriología y Virología Médica* (3ra ed., pp. 255–354). Oficina del Libro FEFMUR. [https://www.enfermeriaaps.com/portal/?wpfb\\_dl=4348](https://www.enfermeriaaps.com/portal/?wpfb_dl=4348)
- Rojas, G. C., & Ulate, L. A. (2017). Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Revista Médica de Costa Rica Y Centroamérica*, 73(621), 757–763. <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>
- Ruiz-Gil, T., Acuña, J. J., Fujiyoshi, S., Tanaka, D., Noda, J., Maruyama, F., & Jorquera, M. A. (2020). Airborne bacterial communities of outdoor environments and their associated influencing factors. In *Environment International* (Vol. 145). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106156>
- Sánchez Rodríguez, J. A., Serrano Jiménez, S., Marfil Navarro, R., & Jodral Villarejo, M. L. (2009). *Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de*

porcino. DÍAZ DE SANTOS.

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=UlzNBX-DEg0C&oi=fnd&pg=PR13&dq=Pat%C3%B3genos+emergentes+en+la+l%C3%ADnea+de+sacrificio+de+porcino.&ots=z11dLrIYd&sig=yWDh0mtyPXzhLEJSKdjTJDaywaE#v=onepage&q=Pat%C3%B3genos%20emergentes%20en%20la%20l%C3%ADnea%20de%20sacrificio%20de%20porcino.&f=false>

Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>

Savin, M., Bierbaum, G., Hammerl, J. A., Heinemann, C., Parcina, M., Sib, E., Voigt, A., & Kreyenschmidt, J. (2020). Antibiotic-resistant bacteria and antimicrobial residues in wastewater and process water from German pig slaughterhouses and their receiving municipal wastewater treatment plants. *Science of The Total Environment*, 727, 138788. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138788>

SCOPUS. (2020, October 28). *Análisis de datos “ESKAPE.”* Análisis de Datos “ESKAPE.” <https://www-scopus-com.proxydgb.buap.mx/term/analyzer.uri?sid=5f864dac16d5e001ddec11bd34c5fe6&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-KEY%28ESKAPE%29&sort=plf-f&sdt=b&sot=b&sl=21&count=459&analyzeResults=Analyze+results&txGid=45b2be281e6f71b7969be961cf4e15aa>

Secretaria de Salud, & Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE). (2022). *Boletín Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE)*. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/770528/BOLET\\_NRHOVEA\\_GOSTO2022\\_Final\\_21102022\\_1.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/770528/BOLET_NRHOVEA_GOSTO2022_Final_21102022_1.pdf)

Servicio Nacional de Sanidad, I. y C. A. (2023, October 8). *Estrategia Nacional contra la Resistencia a los Antimicrobianos (RAM)*. Estrategia Nacional Contra

La Resistencia a Los Antimicrobianos (RAM).  
<https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/resistencia-a-los-antimicrobianos-ram>

- Silva, F., & Martínez O., TM. P. (2018). Complejo *Enterobacter cloacae*. *Revista Chilena de Infectología*, 35(3), 297–298. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000300297>
- Smets, W., Moretti, S., Denys, S., & Lebeer, S. (2016). Airborne bacteria in the atmosphere: Presence, purpose, and potential. *Atmospheric Environment*, 139, 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.05.038>
- Smith, D. J., Griffin, D. W., & Jaffe, D. A. (2011). The high life: Transport of microbes in the atmosphere. *Transactions American Geophysical Union*, 92(30), 249–256. <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1029/2011EO300001>
- Suzuki, Y., Nazareno, P. J., Nakano, R., Mondoy, M., Nakano, A., Bugayong, M. P., Bilar, J., Perez, M., Medina, E. J., Saito-Obata, M., Saito, M., Nakashima, K., Oshitani, H., & Yano, H. (2020). Environmental Presence and Genetic Characteristics of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* from Hospital Sewage and River Water in the Philippines. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(2). <https://doi.org/10.1128/AEM.01906-19>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., ... Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Terra, M. R., Tosoni, N. F., Furlaneto, M. C., & Furlaneto-Maia, L. (2019). Assessment of vancomycin resistance transfer among enterococci of clinical

importance in milk matrix. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 54(12), 925–929. <https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1647753>

Thamlikitkul, V., Tiengrim, S., Thamthaweechok, N., Buranapakdee, P., & Chiemchaisri, W. (2019a). Contamination by Antibiotic-Resistant Bacteria in Selected Environments in Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(19), 3753. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193753>

Thamlikitkul, V., Tiengrim, S., Thamthaweechok, N., Buranapakdee, P., & Chiemchaisri, W. (2019b). Contamination by Antibiotic-Resistant Bacteria in Selected Environments in Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(19), 3753. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193753>

Tiedje, J. M., Asuming-Brempong, S., Nüsslein, K., Marsh, T. L., & Flynn, S. J. (1999). Opening the black box of soil microbial diversity. *Applied Soil Ecology*, 13(2), 109–122. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00026-8](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00026-8)

Vanegas-Múnera, J., Roncancio-Villamil, G., & Jiménez-Quiceno, J. N. (2014). *Acinetobacter baumannii*: Clinical importance, resistance mechanisms and diagnosis. *CES Medicina*, 28(2), 233–246. <https://www.redalyc.org/pdf/2611/261132654008.pdf>

Villasana, A. M. S., Pulido-Flores, G., Monks, S., M. A. J. G., & Villarreal, E. C. V. (2009). Evaluación fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de la degradación ambiental del Río Atoyac, México. *Interciencia*, 34(12), 880–887. [https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI\\_Helminetos/Griselda\\_Pulido/sandoval2009a.pdf](https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI_Helminetos/Griselda_Pulido/sandoval2009a.pdf)

Voigt, A. M., Zacharias, N., Timm, C., Wasser, F., Sib, E., Skutlarek, D., Parcina, M., Schmithausen, R. M., Schwartz, T., Hembach, N., Tiehm, A., Stange, C., Engelhart, S., Bierbaum, G., Kistemann, T., Exner, M., Faerber, H. A., & Schreiber, C. (2020). Association between antibiotic residues, antibiotic

resistant bacteria and antibiotic resistance genes in anthropogenic wastewater – An evaluation of clinical influences. *Chemosphere*, 241, 125032. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125032>

Zatsarinnaya, E. A., Efremova, E. S., Gas'kova, A. S., Kolupaeva, L. V, & Trunyakova, A. S. (2019). Evaluation of antibiotic resistance of Enterobacteriaceae bacteria isolated from water objects of the north-west of the Murmansk region. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 263, 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/263/1/012035>