



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA Y A METALES PESADOS  
EN *Escherichia coli* AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES DEL  
CENTRO POBLADO ALTO PUNO DE LA CIUDAD DE PUNO**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. EVELYN HUANCA GOZME**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGIA Y  
LABORATORIO CLINICO**

**PUNO - PERÚ**

**2024**



NOMBRE DEL TRABAJO

**SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA Y A METALES PESADOS EN Escherichia coli AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES DEL CENTRO POBLADO ALTO PUNO DE LA CIUDAD DE PUNO**

AUTOR

**EVELYN HUANCA GOZME**

RECuento DE PALABRAS

**17728 Words**

RECuento DE CARACTERES

**103065 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**95 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**9.9MB**

FECHA DE ENTREGA

**Jul 1, 2024 11:22 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Jul 1, 2024 11:24 AM GMT-5**

● **11% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 10% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)



## DEDICATORIA

*Mi tesis la dedico con todo mi afecto a mis padres Carmen Alicia Gozme Mamani y José Huanca Parari, a mi hermano Silver, muchos de mis logros se los debo a ellos porque siempre me motivaron, aconsejaron para poder alcanzar mis anhelos.*

*A mi abuelo Silverio Gozme Solis que en vida con sus sabios consejos me motivó a culminar mis estudios.*

***Evelyn Huanca Gozme***



## AGRADECIMIENTOS

*Mis agradecimientos a la Facultad de Ciencias Biológicas, a los docentes que fueron una parte fundamental en mi formación académica, a los licenciados del hospital Manuel Núñez Butrón y del centro de salud Vallecito por aconsejarme con sus experiencias académicas y laborales.*

*Los principales agradecimientos son para mis padres por su apoyo y comprensión incondicional en todo mi proceso de formación profesional a pesar de la distancia.*

***Evelyn Huanca Gozme***



# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	
<b>ACRÓNIMOS</b>	
<b>RESUMEN .....</b>	<b>13</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1 OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>16</b>
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>2.1 ANTECEDENTES.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2 MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>21</b>
2.2.1 Susceptibilidad antibiótica .....	<b>21</b>
2.2.1.1 Sensibilidad antibiótica.....	22
2.2.1.2 Respuesta intermedia .....	22
2.2.1.3 Resistencia antibiótica.....	22
2.2.2 Metales pesados .....	<b>23</b>
2.2.2.1 Plomo .....	24
2.2.2.2 Mercurio.....	25



2.2.3	<i>Escherichia coli</i> .....	26
2.2.3.1	Estructura física y química.....	26
2.2.3.2	Clasificación taxonómica de <i>Escherichia coli</i> (Hold y Hendricks, 1994).....	27
2.2.3.3	Características de cultivo .....	27
2.2.3.4	Biología.....	28
2.2.3.5	Genética de resistencia antibiótica.....	28
2.2.4	Aguas residuales.....	29
2.2.4.1	Concepto .....	29
2.2.4.2	Clasificación.....	30
2.2.4.3	Carga bacteriana en las aguas residuales .....	32
2.2.5	Metales pesados en las aguas residuales .....	33
2.2.6	Residuos de antibióticos en aguas residuales.....	35

### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	ZONA DE ESTUDIO.....	38
3.2	DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	39
3.3	POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA.....	39
3.4	DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN <i>Escherichia coli</i> .....	40
3.5	DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A PLOMO Y MERCURIO EN <i>Escherichia coli</i> .....	43

### CAPÍTULO IV

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS EN <i>Escherichia coli</i> .....	47
-----	---	----



<b>4.2</b>	<b>RESISTENCIA A PLOMO Y MERCURIO EN <i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>57</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>69</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>84</b>

**ÁREA:** Ciencias Biomédicas.

**SUB LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:** Diagnóstico y Epidemiología

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 02 de julio del 2024



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1</b> Ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) del centro poblado Alto Puno. ....	38
<b>Figura 2</b> Frecuencia de observación de la respuesta antibiótica de <i>Escherichia coli</i> frente a los antibióticos. CLOR=cloranfenicol; TRIM-SULF= trimetoprim – sulfametoxazol; AMP=ampicilina; CEFT=ceftriaxona; GENT=gentamicina; SENS=sensible; INTER=intermedio; RESIST=resistente. ....	51
<b>Figura 3</b> CMI y la CMB de las concentraciones de plomo sobre <i>Escherichia coli</i> . ..	58
<b>Figura 4</b> CMI y la CMB de las concentraciones de mercurio sobre <i>Escherichia coli</i> . ....	61
<b>Figura 5</b> Recolección de muestras de la planta de tratamientos de aguas residuales del centro poblado Alto Puno. ....	84
<b>Figura 6</b> Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> in vitro en agar Eosin Metil Blue (EMB).84	
<b>Figura 7</b> Tinción Gram de <i>Escherichia coli</i> . ....	85
<b>Figura 8</b> Observación de <i>Escherichia coli</i> al microscopio óptico compuesto (100X). ....	85
<b>Figura 9</b> Pruebas bioquímicas de TSI, LIA, CS, Urea e indol para la identificación de <i>Escherichia coli</i> . ....	85
<b>Figura 10</b> Estandarización y comparación de <i>Escherichia coli</i> en el estándar 0.5 McFarland. ....	86
<b>Figura 11</b> Inoculación de <i>Escherichia coli</i> en placas de Petri con agar Muller Hinton. ....	86



<b>Figura 12</b> Distribución de antibióticos: cloranfenicol, trimetoprim – sulfametoxazol, ampicilina, ceftriaxona y gentamicina. ....	86
<b>Figura 13</b> Halos de inhibición generados por los antibióticos cloranfenicol, trimetropim – sulfametoxazol, ampicilina, ceftriaxona y gentamicina sobre <i>Escherichia coli</i> .....	87
<b>Figura 14</b> Preparación de la solución concentrada de plomo a partir de $Pb(NO_3)_2$ . ....	87
<b>Figura 15</b> Soluciones de plomo en concentraciones de 6000, 6300, 6500, 6900, 7000, 7300, 7500 y 7700 mg/l. ....	88
<b>Figura 16</b> Preparación de la solución concentrada de mercurio a partir de $HgCl_2$ .....	88
<b>Figura 17</b> Soluciones de mercurio en concentraciones de 50, 75, 100, 150, 300, 500 y 700 mg/l. ....	88
<b>Figura 18</b> Trasferencia de soluciones con metales pesados en diferentes concentraciones, distribuidas en tubos con caldo infusión cerebro corazón y <i>Escherichia coli</i> en concentración 0.5 McFarland.....	89
<b>Figura 19</b> Determinación de la CMI del plomo en concentraciones crecientes sobre <i>Escherichia coli</i> , mediante la observación de turbidez en caldo infusión cerebro corazón (6000 mg/l a 7300 mg/l).....	89
<b>Figura 20</b> Determinación de la CMI del mercurio en concentraciones crecientes sobre <i>Escherichia coli</i> , mediante la observación de turbidez en caldo infusión cerebro corazón (50 mg/l a 150 mg/l).....	90
<b>Figura 21</b> Determinación de la CMB del plomo en concentraciones de 7000 a 7700 mg/l, mediante crecimientos de colonias de <i>Escherichia coli</i> en agar Mueller Hinton. ....	90



**Figura 22** Determinación de la CMB del mercurio en concentraciones de 100 a 700 mg/l, mediante crecimientos de colonias de *Escherichia coli* en agar Mueller Hinton. .... 91



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1</b> Características biológicas de las aguas residuales. ....	33
<b>Tabla 2</b> Elementos y compuestos tóxicos principales de las aguas residuales. ....	34
<b>Tabla 3</b> Diámetros de halos de inhibición y susceptibilidad antibiótica de <i>Escherichia coli</i> frente a 5 antibióticos. ....	47
<b>Tabla 4</b> Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) del plomo sobre <i>Escherichia coli</i> . ....	57
<b>Tabla 5</b> Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) del mercurio sobre <i>Escherichia coli</i> . ....	60
<b>Tabla 6</b> Prueba de chi cuadrado de la susceptibilidad antibiótica de <i>Escherichia coli</i> frente a 5 antibióticos. ....	91
<b>Tabla 7</b> Prueba de análisis de varianza de la comparación de la CMI y la CMB de plomo sobre aislamientos de <i>Escherichia coli</i> . ....	92



## ACRÓNIMOS

<b>°C</b>	: Grados centígrados
<b>et al.</b>	: Y colaboradores
<b>g</b>	: Gramo
<b>mm</b>	: Milímetros
<b>p</b>	: Probabilidad
<b>Prom</b>	: Promedio
<b>CMI</b>	: Concentración mínima inhibitoria
<b>CMB</b>	: Concentración mínima bactericida
<b>X<sup>2</sup></b>	: Chi cuadrado
<b>gl</b>	: Grados de libertad
<b>INS</b>	: Instituto Nacional de Salud
<b>Pb</b>	: Plomo
<b>UFC/ml</b>	: Unidades formadoras de colonia por mililitro
<b>cm</b>	: Centímetro
<b>mg/l</b>	: Miligramos por litro
<b>Hg</b>	: Mercurio
<b>CICC</b>	: Caldo infusión cerebro corazón



## RESUMEN

La presencia de *Escherichia coli* en aguas residuales del centro poblado Alto Puno, representa contaminación fecal, y poseerían resistencia a antibióticos y metales pesados, siendo potencialmente patógenos al ser humano. El objetivo general fue determinar la susceptibilidad antibiótica y la resistencia a plomo y mercurio en *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno. Se recolectaron 30 muestras de aguas residuales, desde donde se aislaron e identificaron a *Escherichia coli* en placas Petri con agar EMB y pruebas bioquímicas diferenciales. La susceptibilidad antibiótica se determinó mediante el método de Kirby Bauer, los diámetros de los halos de inhibición se contrastaron con el Manual de Procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana (INS, 2002). La resistencia a plomo y mercurio se determinó mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB). Se realizaron pruebas de chi cuadrado y análisis de varianza, con un nivel de confiabilidad del 95 % para determinar la significancia estadística. Los aislamientos de *Escherichia coli* fueron resistentes en el 33.33 % a cloranfenicol, 40.00 % a trimetoprim – sulfametoxazol, 60.00 % a ampicilina y 6.67 % a ceftriaxona ( $X^2=67.42$ ;  $gl=8$ ;  $p<0.0001$ ). Ante el plomo, *Escherichia coli* presentó promedios de CMI de 6975 mg/l y CMB de 7225 mg/l, y frente al mercurio la CMI y la CMB fueron de 316.67 mg/l. Se concluye que los aislamientos de *Escherichia coli* de aguas residuales del centro poblado Alto Puno fueron resistentes a cloranfenicol, trimetoprim – sulfametoxazol, ceftriaxona y ampicilina y a mayores concentraciones de plomo que de mercurio.

**Palabras clave:** Aguas residuales, Antibióticos, *Escherichia coli*, Metales pesados, Resistencia.



## ABSTRACT

The presence of *Escherichia coli* in wastewater from the Alto Puno population center represents fecal contamination, and would have resistance to antibiotics and heavy metals, being potentially pathogenic to humans. The general objective was to determine the antibiotic susceptibility and resistance to lead and mercury in *Escherichia coli* isolated from wastewater from the Alto Puno population center. 30 wastewater samples were collected, from where *Escherichia coli* were isolated and identified in Petri dishes with EMB agar and differential biochemical tests. Antibiotic susceptibility was determined using the Kirby Bauer method, the diameters of the inhibition zones were contrasted with the Manual of Procedures for Antimicrobial Susceptibility Testing (INS, 2002). Resistance to lead and mercury was determined by the minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal concentration (MBC). Chi square tests and analysis of variance were performed, with a reliability level of 95 % to determine statistical significance. The *Escherichia coli* isolates were resistant in 33.33 % to chloramphenicol, 40.00 % to trimethoprim – sulfamethoxazole, 60.00 % to ampicillin and 6.67 % to ceftriaxone ( $\chi^2=67.42$ ;  $df=8$ ;  $p<0.0001$ ). When faced with lead, *Escherichia coli* presented averages of MIC of 6975 mg/l and MBC of 7225 mg/l, and against mercury the MIC and MBC were 316.67 mg/l. It is concluded that *Escherichia coli* isolates from wastewater from the Alto Puno town center were resistant to chloramphenicol, trimethoprim-sulfamethoxazole, ceftriaxone and ampicillin and to higher concentrations of lead than mercury.

**Keywords:** Antibiotics, Domestic wastewater, *Escherichia coli*, Heavy metals, Resistance.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

El centro poblado Alto Puno ubicado en el distrito, provincia y región de Puno, produce aguas residuales derivadas a una miniplanta de tratamiento, ubicada a un costado de la carretera Puno – Juliaca. La bacteria más abundante en las aguas residuales es *Escherichia coli*, procedente de la materia fecal humana, al entrar en contacto con contaminantes antibióticos y metales pesados, generan respuestas genéticas, fisiológicas y estructurales de resistencia, que podría traspasarse a otras bacterias. Estos microorganismos presentes en las aguas residuales al poseer la resistencia a metales pesados y antibióticos, se constituirían en una fuente de bacterias potencialmente patógenas para el ser humano.

La investigación se constituye en un aporte fundamental, para dilucidar si los aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de las aguas residuales del centro poblado Alto Puno, son resistentes a los antibióticos, al plomo y al mercurio, por lo que, fueron sometidos a varios antibióticos y diferentes concentraciones de metales pesados, con el propósito de realizar un sondeo de la presencia de microorganismos con resistencia antibiótica y a los metales.

Entre los resultados obtenidos en la presente investigación, se menciona, que los aislamientos bacterianos poseen resistencia antibiótica a ampicilina, trimetoprin – sulfametoxazol, cloranfenicol y ceftriaxona; por otro lado, frente a los metales pesados, las bacterias fueron más resistentes a altas concentraciones de plomo; en contraste, frente a concentraciones de mercurio, las bacterias aisladas presentaron resistencia a bajas concentraciones. Siendo de necesidad primordial realizar ulteriores investigaciones sobre



los mecanismos de resistencia que presentarían las bacterias como los genes de resistencia a los antibióticos y a metales pesados, asimismo de realizar estudios en alternativas de mitigación de la contaminación minera mediante la aplicación de bacterias, ya que es una preocupación en la salud pública.

Luego de realizar el análisis e interpretación de los resultados, se acepta la hipótesis alterna, en razón de que el agua residual del centro poblado Alto Puno contiene aislamientos de *Escherichia coli* resistentes a metales pesados y antibióticos. En ese sentido, se puede afirmar que dichos efluentes residuales domésticos podrían poseer residuos de antibióticos y concentraciones de metales pesados, que vendrían generando la resistencia bacteriana, por lo que se apertura una promisoriosa línea de investigación.

Por tales motivos el estudio tuvo los siguientes objetivos:

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la susceptibilidad antibiótica y a metales pesados en *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno de la ciudad de Puno.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la susceptibilidad a los antibióticos cloranfenicol, trimetoprim – sulfametoxazol, ampicilina, ceftriaxona y gentamicina en *Escherichia coli*, aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno de la Ciudad de Puno.
- Determinar la resistencia a los metales pesados plomo y mercurio en *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno de la ciudad de Puno.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 ANTECEDENTES

Moraga et al. (2003), estudiaron la resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de la bahía de Iquique (Chile), seleccionando 43 cepas, cultivadas en agar PCA adicionado con 800 µg/ml de sulfato de cobre, plomo, arsénico, níquel, cobre, mercurio, zinc, cromo y cadmio, obteniendo que las bacterias Gram negativas no fermentadoras, géneros *Pseudomonas* y *Alcaligenes* presentaron niveles variables de resistencia, poseendo relación con la resistencia a los antibióticos. Asimismo, Tzoc et al. (2004), afirman que la mayor resistencia antibiótica en *Escherichia coli* se obtuvo frente a ampicilina y amoxicilina, con 57 % y 45 % respectivamente, siendo similar a los aislamientos de *Aeromonas* sp ante los mismos antibióticos y probablemente presenten resistencia intrínseca hacia los β – lactámicos.

Núñez y Moretton (2006), estudiaron la flora microbiana de un efluente hospitalario, muchos de ellos causantes de infecciones intrahospitalarias y el perfil de resistencia a distintos desinfectantes como glutaraldehído, iodo povidona y clorhexidina, registrando que la población bacteriana (géneros *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* y *Staphylococcus*) entre un 2.0 % y 4.3 % resultaron ser resistentes a la clorhexidina y a los demás desinfectantes en el 0.02 %. Otro estudio reportado por Martínez y Villalobos (2008), determinaron la susceptibilidad antibiótica de importancia clínica en 30 cepas de *Escherichia coli* aisladas de alimentos y aguas servidas frente a los antibióticos cloranfenicol, ampicilina, cefotaxime, ceftazidime, piperacilina, gentamicina, tobramicina, ácido nalidixico, levofloxacina, ciprofloxacina, trimetoprim –



sulfametoxazol y tetraciclina, reportando que entre el 80 % y 100 % de las cepas de *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales y alimentos respectivamente, mostraron resistencia a los antibióticos, siendo mayormente resistentes a la ampicilina.

Rueda et al. (2009), aisló 10 cepas del actinomiceto *Streptomyces lividans* 1326 en el humedal La Conejera a partir de sedimento y agua, al evaluar la presencia de genes de resistencia al mercurio en el microorganismo, luego de la amplificación por PCR, comprobaron la presencia de plásmidos de tamaños próximos a 50, 90 y 300 Kb, no integrados al cromosoma y asociados a la resistencia que presentaban al metal. A su vez, Martínez et al. (2010), investigaron la presencia de bacterias resistentes a antibióticos e iones metálicos (plomo, cromo y cadmio), aisladas de agua y sedimento del río Almenares, donde el 96 % de los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Neisseria* y *Bacillus*, resultaron ser multirresistentes a cuatro o más antibióticos y a los tres metales, confirmando la posibilidad de propagación de cepas con multirresistencia en el río Almenares, siendo fuentes de transferencia y diseminación de determinantes de resistencia.

Sueiro (2012), realizó aislamientos de *Delftia* sp, que manifestaron resistencia cruzada a cromo y plomo, con capacidad de resistir concentraciones de 0.3 mM de plomo, la cepa *Delftia* sp JD2 hasta 2 mM de cromo, ellas presentaron integrones clase 1 en todos los aislamientos y una proteína de ensamblaje de fimbria tipo 4, como mecanismos de resistencia a los metales. Adicionalmente, Núñez et al. (2012), evaluaron el perfil de resistencia a antibióticos en bacterias aisladas de aguas residuales de la provincia de Buenos Aires (Argentina), como resultados obtuvieron resistencia de bacterias heterotróficas a cefalotina (19 %) y ampicilina (8 %), mientras que, las coliformes a ampicilina (34 %) y cefalotina (17 %), la multirresistencia se presentó en las especies



*Escherichia coli*, *Alcaligenes faecalis* y *Stenotrophomonas maltophilia*, concluyendo que las aguas residuales son consideradas como reservorios de bacterias resistentes a los antibióticos, aumentando así su riesgo sanitario.

Acevedo y Severiche (2013), evaluaron bacterias aisladas de sedimentos en las playas de Cartagena (Colombia), las cuales presentaron resistencia a 10 mg/l y 180 mg/l de di – bromo – mercurio, donde *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp, *Serratia* sp, *Klebsiella* sp, *Vibrio* sp, *Salmonella* sp, *Acinetobacter* sp, *Enterobacter* sp y *Staphylococcus* sp formaron biopelículas. Por otro lado, Fonseca y Galeano (2013), determinaron la susceptibilidad a agentes antibióticos en especies de *Enterococcus* aisladas de aguas residuales de la poza de sedimentación de una planta de tratamiento y del río Chiquito (Nicaragua), donde la especie *Enterococcus faecalis* fue dominante pero no mostró resistencia a los antibióticos, siendo importante mantener su vigilancia, ya que ciertas cepas mostraron respuesta intermedia a vancomicina y ciprofloxacina.

Quispe et al. (2017), en aguas del río Ramis de Puno, identificaron a los géneros bacterianos *Serratia*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Streptococcus* y *Enterobacter*, los cuales mostraron resistencia a plomo y mercurio hasta concentraciones de 200, 500, 1000 y 2000 mg/l, con recuentos bacterianos variables entre los tratamientos. También se cuenta con el estudio de Coila (2017), quien registró que en las bacterias aisladas de la laguna Espinar de Puno (*Escherichia coli*, *Enterobacter* sp y *Klebsiella* sp) *Klebsiella* sp fue la única que presentó resistencia intermedia, las restantes fueron sensibles a los antibióticos; referente a los metales pesados, *Escherichia coli* y *Enterobacter* sp presentaron mejor crecimiento en presencia de plomo con 1564 y 2016 colonias y frente a mercurio entre 1616 y 1932 colonias, respectivamente.



Sulca y Alvarado (2018), aislaron 55 cepas de *Escherichia coli* en aguas superficiales del litoral de Lima, 41 (74.5 %) cepas fueron resistentes al mercurio, presentando concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 8.25 mg/l y 82.5 mg/l, de las cuales 33 cepas presentaron plásmidos y 14 de ellos fueron resistentes a antibióticos. De similar manera, Araoz (2018), reporta resistencia de *Escherichia coli* aisladas de la bahía interior de Puno, con recuentos de 359 y 402 UFC/ml a 1 mg/l de cloruro de mercurio, de 310 y 341 UFC/ml a 5 mg/l, de 57 a 60 UFC/ml a 10 mg/l y de 17 a 19 UFC/ml a 50 mg/l, confirmando que las bacterias disminuyen su crecimiento al incrementar la concentración de cloruro de mercurio en el medio de cultivo.

Calisto et al. (2018), estudiaron la presencia y distribución de *Escherichia coli* en aguas de mar próximas a la Antártida, de 70 cepas aisladas 34 fueron resistentes al menos a un antibiótico y 20 mostraron resistencia a la ampicilina, en dos cepas se detectó la presencia de betalactamasas de espectro extendido. Sin embargo, Molina y Orozco (2019), determinaron la resistencia antibiótica de bacterias de interés clínico aisladas del río Chambo (Ecuador), aislando 11 bacterias Gram negativas, entre ellas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* y *Pseudomonas* sp, donde la mayoría fueron resistentes a las quinolonas y en menor proporción a las cefalosporinas, llegando a concluir que el río Chambo está contaminado con bacterias de interés clínico resistentes a antibióticos de uso común.

Pérez (2019), logró determinar que en aislamientos de *Escherichia coli* antibiótico resistentes provenientes de aguas residuales y superficiales del municipio de León (Nicaragua), el 8 % mostraron multiresistencia a cefalosporinas, fenicoles, aminoglucósidos y carbapenémicos, de las cuales produjeron enzimas tipo BLEE en el 92 %, carbapenemasas en el 7 % y enzimas tipo Amp-C en el 1 %. Por otro lado, Romero



(2020), reporta que el río Chimbo (Ecuador) es contaminado por las actividades humanas, mediante sus aguas residuales, la agricultura, industrias, producción de alimentos para animales, desechos hospitalarios y uso doméstico del agua, donde las cepas de *Escherichia coli*, presentaron resistencia a los antimicrobianos  $\beta$  – lactámicos y a cefotaxima y por tanto posee una contaminación bacteriana de alto riesgo. Finalmente, Malavet (2020), caracterizó en Colombia a *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes, donde el 73 % (30) presentaron genes de resistencia a mercurio y el 85 % (35) a cobre; en Ecuador evaluó 29 aislamientos, la presencia de genes de resistencia a mercurio fue en el 75 % (22) y a cobre en 65 % (19), donde las cepas de ambos países tuvieron CMI más altas para este metal.

## 2.2 MARCO TEÓRICO

### 2.2.1 Susceptibilidad antibiótica

La resistencia a los antimicrobianos es la capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un antibiótico (Paciel et al., 2011). Muchos microorganismos aislados no parecen tener ningún papel en la patogenia de la enfermedad, pero su presencia sugiere que colaboran en el proceso infeccioso, otorgando nutrientes, factores de crecimiento, pH favorable o ejerce efectos antagónicos con otros microorganismos (Tanner y Stillman, 1993). Para sobrevivir por millones de años los microorganismos desarrollaron mecanismos de protección contra otras especies produciendo antibióticos y moléculas contra los mecanismos de defensa, llamado también resistencia a los antibióticos, frente a otras especies o su hospedante (Jacoby y Archere, 1991).



### **2.2.1.1 Sensibilidad antibiótica**

La sensibilidad a los antimicrobianos es equivalente al nivel de susceptibilidad que posee la bacteria en referencia al antibiótico expuesto, visualizado como halos de inhibición alrededor de los discos de antibióticos, indicando que la bacteria no se multiplicará. Por tanto, es un problema que se presenta en la actualidad relacionado con el control y el tratamiento de infecciones bacterianas; esta resistencia es transferida entre los microorganismos mediante el uso de los mecanismos y elementos genéticos (Sánchez et al., 2012).

### **2.2.1.2 Respuesta intermedia**

Las cepas con resistencia intermedia equivalen a la respuesta entre sensible y resistente; sin embargo, se consideran como resistentes al ser sometidos a los antibióticos. Una cepa de colonia sometido a cualquier antibiótico puede catalogarse de acuerdo a su concentración mínima inhibitoria (CMI), el cual puede estar por debajo del pico máximo de absorción de una droga (PMAD), la cepa resistente se expresa de acuerdo a que tiene un CMI superior al pico máximo de absorción de una droga (PMAD) y una cepa intermedia tendría una CMI similar al PMAD (Herrera y Marco, 2004).

### **2.2.1.3 Resistencia antibiótica**

Un resultado resistente indica que el tratamiento de un proceso infeccioso con un antibiótico en especial fallará y que la bacteria no será eliminada por dicha terapia antibiótica (Jorgensen et al., 1999). Asimismo,



estas bacterias han sido modificadas genéticamente por mutación o por adquisición de genes de resistencia como son los plásmidos, transposones e integrones (Van Hoek et al., 2011).

Las especies bacterianas con capacidad de resistir a los antibióticos se caracterizan por tener mecanismos de detoxificación y de destrucción de moléculas enzimáticas; sin embargo, las tolerantes son indiferentes a la ausencia o presencia del antibiótico en el ambiente que los rodea (Beltrán y Gómez, 2016). Las instrucciones de la resistencia a los antibióticos se confieren según los elementos de ácidos nucleicos cromosómicos, de acuerdo a la estructura del plásmido, conllevando a las siguientes estrategias: salida rápida del antibiótico, reducción de la permeabilidad de la membrana a los antibióticos, mutación celular e inactivación del fármaco, entre otros. En general, las características estructurales y funcionales de la resistencia a los antibióticos, comparten características comunes con los de la resistencia a los metales (Baker et al., 2006).

### **2.2.2 Metales pesados**

Son elementos de alto peso atómico, tóxicos, son empleados en los procesos industriales, se citan a cadmio, el plomo, el cobre, el níquel y el mercurio, a bajas concentraciones son muy tóxicos, son nocivos en plantas y animales, según su densidad son mayores que  $4.5 \text{ g/cm}^3$ . Proceden un alto nivel de contaminación o ecotoxicidad en el medio ambiente y el hombre, poseen las características de persistencia, bioacumulación, biotransformación y elevada toxicidad, encontrándose en los ecosistemas por tiempo prolongados, en razón de que su degradación es difícil (Rodríguez, 2017).



Los metales pesados no pueden ser degradados, solo se cambia el estado de oxidación, como ocurre con los compuestos orgánicos tóxicos, existen sólo tres mecanismos a través de los cuales un sistema puede conferir resistencia a los metales pesados, estos son: la disminución de la acumulación de un determinado ión mediante su transporte activo fuera de la célula, la segregación de los cationes por moléculas que contienen grupos tioles y la reducción de algunos iones metálicos pesados a un estado de oxidación menos tóxico (Mendoza y Moreno, 2005), no siendo los únicos mecanismos de detoxificación intracelulares (Marrero et al., 2010).

La elevada toxicidad, la alta exposición prolongada y la bioacumulación causan inmensos problemas al ser humano y muchos seres vivos, dependiendo del metal expuesto, pueden producir afecciones o enfermedades, muchas veces llegando a desarrollar cáncer (Reyes et al., 2016).

#### **2.2.2.1 Plomo**

Es un metal grisáceo, maleable y blando, difundido en la corteza terrestre; abunda como sulfuro de plomo (PbS), llamado la galena, forma compuestos cuando poseen las valencias  $2^+$  y  $3^+$ , entre los orgánicos se mencionan a los acetatos, tetraetilos y tetrametilos y entre los inorgánicos los nitratos, arsenatos, carbonatos, cloruros, óxidos y silicatos; el agua potable se constituyen en una fuente importante para la ingesta de plomo, ya que probablemente se desprenden de las uniones de las cañerías o de tanques de almacenamiento, siendo aceptable en agua potable de 15 ug/l (Ramírez, 2001).



La mayoría de los metales pesados como el cobre, el níquel y el zinc se encuentran naturalmente en bajas concentraciones en suelos, rocas, agua y en la biota; siendo suficientes para proveer a los sistemas vivos con los nutrientes esenciales, pero en contenidos elevados puede causar toxicidad (Meng et al., 2013). Las altas concentraciones de metales pesados en el suelo pueden provocar cambios evolutivos, debido a sus efectos dañinos, son potencialmente devastadores, ya que contaminan el aire, el agua y el suelo y son utilizados por las plantas y demás eslabones de la cadena trófica (Sinha et al., 2010).

#### **2.2.2.2 Mercurio**

El mercurio es muy usado para la extracción de oro, en la producción de vacunas, antimicrobianos, amalgamas y dispositivos electrónicos. El cloruro de mercurio ( $\text{HgCl}_2$ ) es el reactivo químico más empleado en estudios experimentales ya que posee una alta solubilidad (Schelert et al., 2004). En el ambiente, puede existir como mercurio iónico ( $\text{Hg}^{2+}$ ), mercurio elemental ( $\text{Hg}^0$ ) y el metilmercurio ( $\text{CH}_3\text{Hg}$ ), este último causa problemas de toxicidad severos (Schaefer et al., 2002). Los procesos bióticos y abióticos suministran el ciclo del mercurio, desde suelos y aguas a la atmósfera y de regreso a la superficie. En el ciclo biogeoquímico, la transformación del mercurio ( $\text{Hg}^{2+}$ ) es mediada por bacterias sulfito reductores, donde las *merB* y *merA* son genes que codifican el órgano mercurial liasa y el mercurio reductasa respectivamente, formando  $\text{Hg}^0$  (Barkay et al., 2003).



El mercurio es el único metal pesado que no posee alguna función beneficiosa a favor del ser humano y los seres vivos. En la naturaleza se encuentran las formas inorgánicas que son muy tóxicas; sin embargo, existen muchas bacterias facultativas que crecen en presencia de mercurio en su medio, algunas empiezan a formar biopelículas, cumpliendo con la función de proteger de la toxicidad en el medio ambiente, y ciertas bacterias presentan la capacidad de beneficiarse con los compuestos de estos metales denominados organomercuriales (UNEP, 2013).

### 2.2.3 *Escherichia coli*

#### 2.2.3.1 Estructura física y química

Los miembros de la familia Enterobacteriaceae poseen estructuras similares, son bacilos Gram negativos, no forman esporas, miden de 0.1 a 2.0  $\mu\text{m}$  x 0.5  $\mu\text{m}$  y presentan flagelos peritricos. Las proteínas de los flagelos (H), serológicamente varían entre las cepas, inclusive dentro de la misma especie. Un antígeno polisacárido también denominado proteína capsular de cubierta (K), muchas veces enmascara al antígeno lipopolisacárido estructural somático (O), que es parte de la composición integral de la pared celular. Los serotipos de *Escherichia coli* varían según las combinaciones de los antígenos O, K y H. Los antígenos K poseen la clasificación en tres tipos L, A y B. En tal sentido la cepa denominada O119:B4:H6, tendrá el antígeno somático 119, antígeno capsular B4 y un antígeno flagelar tipo 6. *Escherichia coli* sintetiza dos tipos de fimbrias que lideran su capacidad patógena, las sensibles a la manosa y la resistente a la manosa considerada el antígeno de factor colonizante (CFA). Los



CFAs divididos en I y II, fijan *Escherichia coli* enteropatógeno al epitelio intestinal humano, también existen cilios sensibles y resistentes a la manosa en bacterias aisladas desde vías urinarias necesarias para la fijación bacteriana a células uroepiteliales. Los CFAs purificados son inmunógenos y al ser aplican como vacunas experimentales, resultan eficientes en inducir la síntesis de anticuerpos que bloquearían la adherencia y la colonización (Myrvik y Weiser, 1991; Forbes et al., 2009).

### 2.2.3.2 Clasificación taxonómica de *Escherichia coli* (Hold y Hendricks, 1994)

Dominio	: Bacteria
Filo	: Proteobacteria
Clase	: Gammaproteobacteria
Orden	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Género	: <i>Escherichia</i>
Especie	: <i>Escherichia coli</i>

### 2.2.3.3 Características de cultivo

La presencia de *Escherichia coli* en el agua es un indicador de una reciente contaminación de aguas residuales o por residuos de animales, son tan pequeños que no se pueden verse sin un microscopio, sin embargo, su crecimiento es notorio como colonias en medios de cultivo conteniendo agares específicos para *Escherichia coli* o enterobacterias, en condiciones especiales (Ingerson y Reid, 2011).



#### 2.2.3.4 Biología

*Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa parte de las coliformes fecales, establecidas comúnmente en los intestinos de los animales y los seres humanos. La pared celular posee tres elementos: la membrana citoplasmática, el espacio periplásmico conteniendo el peptidoglucano y una membrana externa (Canet, 2016). Las bacteriemias originadas por *Escherichia coli* betalactamasas de espectro extendido (BLEE), son parte de entidades clínicas graves, siendo difícil a la hora de instaurar un tratamiento antibiótico correcto (García et al., 2011).

*Escherichia coli* presenta varios tipos dañinos clasificados por grupos, entre ellos se mencionan a las Enterotoxigénicas (ETEC), las Enterohemorrágicas (EHEC), las Enteropatógenas (EPEC) y la Enteroinvasiva (EIEC). Las bacterias ETEC, EPEC y EIEC se transmite a través de los alimentos y el agua contaminada (Gerba et al., 2009). El antígeno O es el responsable de los serogrupos; la determinación del antígeno somático y flagelar (O:H) indica un serotipo, el cual está asociado a un cuadro clínico en particular (Eslava et al., 1994).

#### 2.2.3.5 Genética de resistencia antibiótica

El modo de transmisión y evolución de las enfermedades a causa del agente *E. coli*, y el tipo mejor conocido es O157: H7 que se encuentra bajo el grupo EHEC y es comúnmente la causa de alimentos contaminados tales como espinacas y carne, pero también se ha implicado en epidemias donde el agua era la fuente de la contaminación (Rock y Rivera, 2014).



Un estudio reporta la detección de genes de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* obtenidos en cerdos que presentaron cuadros diarreicos y que procedieron desde granjas tecnificadas de Lima (Perú), de 119 aislamientos bacterianos reactivados para la extracción del ADN y posterior detección de los genes de resistencia a los antibióticos, mediante la reacción en cadena de la polimerasa, se registraron aquellos contra tetraciclinas como los *tetA*, *tetB* y *tetC*, frente a sulfonamidas como los *sul1*, *sul2* y *sul3*, ante la estreptomicina-espectinomicina como los *strA* / *strB* y la *aadA* y contra la apramicina los *aac* (3) IV. El 98.3 % de los aislados de *Escherichia coli* resultaron positivos al menos a un gen de resistencia antibiótica, mayormente frente a las tetraciclinas (88.2 %). De 10 genes de resistencia antibiótica establecidos, el gen *tetA* presentó la mayor frecuencia (68 %), a continuación, le sigue el gen *sul3* (64.7 %). Todo ello indica la gran problemática actual de resistencia bacteriana contra los antimicrobianos en la región estudiada, por lo que se recomienda mantener la vigilancia y el uso correcto de la administración de los antibióticos (Escalante et al., 2022).

#### **2.2.4 Aguas residuales**

##### **2.2.4.1 Concepto**

Las aguas residuales producto de las actividades antropogénicas afectan de manera negativa, en razón que las heces humanas y de animales ingresan al agua con altas cargas coliformes y distintas bacterias patógenas. Las plantas de tratamiento de aguas residuales son consideradas como las principales fuentes de contaminación por este tipo de



contaminantes (Novo et al., 2013). La presencia de *Escherichia coli* en el agua residual, es peligrosa debido a que puede intercambiar genes de alta resistencia a los antibióticos a partir de mecanismos de transferencia horizontal. Los ambientes contaminados con aguas residuales se constituyen en fuente de contaminación y origen de bacterias resistentes, debido fundamentalmente a la conjugación bacteriana, al intercambiar genes de resistencia a los antimicrobianos y los metales pesados, asimismo los microorganismos son capaces de desarrollar mecanismos de defensa ante los elementos tóxicos (Coila, 2017).

#### 2.2.4.2 Clasificación

Las aguas residuales se dividen en 4 tipos:

- **Aguas residuales domésticas o urbanas.** El agua proviene de las viviendas y del centro de la ciudad, es comúnmente el agua de las viviendas urbanas o desechos de las familias y centros comerciales, mercados, lugares de comercio, entre otros. En concreto se trata de un agua contaminado con organismos y sólidos sedimentables (Herrero et al., 1999).
- **Aguas residuales industriales.** Estas aguas provienen de las fábricas, industrias y lugares con procedencia de fábrica, producción energética o de cualquier otra actividad. Este tipo de agua residual, presenta un alto índice de contaminación por presenciar los metales pesados más letales, los cuales se compondrían de mercurio, plomo, cadmio níquel, cobre, cadmio y



muchos otros más. Para reafirmar también contiene cantidades exorbitantes de elementos químicos naturales y artificiales (Herrero et al., 1999).

- **Aguas residuales de la agricultura y ganadería.** Poseen un menor porcentaje de agentes patógenos, estas aguas provienen de la agricultura y riego. En un porcentaje alto proviene de la ganadería intensiva, entre ellos los pesticidas y productos químicos manipulados, usados para el mejoramiento de la agricultura causando alimentos inorgánicos, muchos patógenos también derivan de los purines de los animales, en concreto de los desechos fecales y orines de los mamíferos (Herrero et al., 1999).
- **Aguas residuales derivadas de la lluvia ácida.** Es un tipo de agua residual que se forma en la atmósfera ante la fusión de las moléculas de agua con gases como óxidos de nitrógeno y dióxido de azufre que son producidas por la gran cantidad de fábricas, calderas de calefacción, centrales eléctricas y vehículos que utilizan el carbón como también los derivados del petróleo que posean azufre. A pesar de ello, se denomina como un tipo de agua que trae consecuencias generando acciones de riesgo contra las especies y al hombre. La mayor parte de esta agua termina en los alcantarillados públicos y desembocaduras de los ríos y lagos, alterando los parámetros fisicoquímicos de los suelos y otros cuerpos receptores (Herrero et al., 1999).



### 2.2.4.3 Carga bacteriana en las aguas residuales

Las aguas residuales contienen microorganismos vivos patógenos como bacterias, virus, protozoarios y helmintos, son trasladados por el ambiente mediante los portadores hacia las personas y otras especies (Vásquez y Valdez, 2003). La calidad biológica de las aguas define la riqueza biológica y posee un valor ambiental de los seres vivos existentes de un ecosistema entre ríos y lagos (Martínez et al., 2009). Un riesgo elevado de contaminación lo representa aquella muestra de agua que posea material fecal (Mushi et al., 2012).

Un problema sanitario críticos en países de América Latina y el Caribe es ingreso incontrolado de aguas residuales domésticas sin ningún tratamiento, hacia los recursos hídricos de las zonas costeras, superficiales y subterráneos. Una inadecuada eliminación de excretas, debido a la carencia o deficiente sistema de alcantarillado y de tratamiento, están relacionados con la contaminación del agua, originando numerosas enfermedades, como el cólera, la hepatitis, la fiebre tifoidea y paratifoidea, la amebiasis, entre otras (Chigor et al., 2012).

**Tabla 1**

*Características biológicas de las aguas residuales.*

<b>Prueba</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Uso o significados del resultado</b>
Organismos coliformes	NMP (número más probable)	Estimar la presencia de bacterias patógenas y la eficiencia del proceso de desinfección.
Microorganismos específicos	Bacterias, protozoos, helmintos, virus	Estimar la presencia de organismos específicos, en conexión con la operación de la planta de tratamiento y la reutilización del agua.
Toxicidad	UT <sub>A</sub> y UT <sub>c</sub>	Unidad tóxica aguda, unidad tóxica crónica.

**Fuente:** Crites y Tchobanoglous (2000).

### 2.2.5 Metales pesados en las aguas residuales

En la actualidad, existe un incremento de los índices de contaminación por efluentes industriales conteniendo metales pesados como el cromo, níquel, cadmio, plomo y mercurio (Akar et al., 2009). Estos elementos tóxicos persisten indefinidamente en el ambiente, comprometiendo el equilibrio y el bienestar no solo en la flora y fauna de un ecosistema sino también la salud pública de las comunidades aledañas, debido al ingreso y acumulación de los metales en la cadena trófica (García et al., 2011b).

Los efectos que producen los metales pesados en los vegetales son: la necrosis en los ápices de las hojas, la inhibición del crecimiento de raíces y la muerte de la planta; mientras tanto en los seres humanos llegan a ser muy tóxicos al ingresar al organismo y en elevadas concentración puede llegar a ocasionar: malestar gástrico (úlceras), erupciones cutáneas, daños a riñones e hígado, problemas respiratorios, decaimiento del sistema inmune, generar hipertensión,

alterar el material genético, cáncer, alteraciones neurológicas e incluso la muerte (Gómez et al., 2013).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció como máxima concentración de metales pesados en agua, un rango entre 0.01 – 1 mg/l (WHO, 2003); sin embargo, las concentraciones de metales pesados que se reportan llegan hasta 450 mg/l en los efluentes (Pinzón y Cardona, 2010). Los principales sectores industriales, que se constituyen como fuentes de contaminación de metales pesados se citan a la minería, los colorantes, la industria del cemento, galvanoplastia, curtiduría, material fotográfico, producción de acero, pinturas corrosivas, fabricación de textiles, producción de energía, conservación de la madera, entre otras (Correa et al., 2012).

**Tabla 2**

*Elementos y compuestos tóxicos principales de las aguas residuales.*

<b>Sustancia</b>	<b>Efecto</b>
Arsénico	Tóxico agudo o crónico para los seres vivos. Subproducto de algunas industrias.
Cadmio	Tóxico para los seres vivos, acumulativo. Protector metálico contra la oxidación, usado industrialmente.
Cromo	El cromo hexavalente es tóxico para los seres humanos. El cromo trivalente es oxidado lentamente en agua a cromo hexavalente. Tóxico para las plantas.
Mercurio	Tóxico para los seres vivos. El metil mercurio es 50 veces más tóxico que el mercurio inorgánico.
Plomo	Acumulativo en los seres humanos y ganado. La absorción humana de plomo ingerido es pequeña; dosis grandes únicas no son un problema.

**Fuente:** Romero (2000).



### 2.2.6 Residuos de antibióticos en aguas residuales

Los contaminantes emergentes son compuestos químicos que se encuentran en el ambiente y alteran funciones en los seres vivos, una de esas fuentes son las aguas residuales no tratadas y dispuestas sin un reglamento en la mayoría de países. Los antibióticos son parte de los contaminantes emergentes siendo liberados hacia los ecosistemas acuáticos, constituyéndose en un potencial riesgo en el ambiente y la salud pública, como los aminoglucósidos que originan problemas de ototoxicidad y nefrotoxicidad. Estos antibióticos tienen nula o escasa degradación en las plantas de tratamiento de agua, por lo tanto, se pueden generar cepas bacterianas resistentes a los antibióticos (Chávez et al., 2022). Las aguas residuales poseen restos de productos farmacológicamente activos, también reportes mencionan su presencia en aguas superficiales y subterráneas, pudiendo originar bioacumulación y toxicidad en los peces y a mediano o largo plazo llegaría a producir efectos adversos a la fauna acuática y en la salud humana (Cortacans et al., 2014).

Los antibióticos son utilizados en la terapia en humanos y animales, también se utilizan como plaguicidas o en la promoción del crecimiento en cerdos, pollos, cabras, peces, bovinos y ovejas, tal como sucede con la estreptomicina, usada para prevenir o controlar plantas o animales indeseables, en las diferentes etapas de producción de alimentos para el hombre o los animales (Chávez et al., 2022). Este fármaco al ser liberado, origina un riesgo potencial en el ambiente y en la salud pública, en razón de que si las bacterias entran en contacto con los medicamentos, se adaptan a ellos y generarían resistencia (García, 2012), posteriormente estos antibióticos, no serán capaces de tener actividad antibiótica



y las dosis deben incrementarse, desencadenando procesos de probable intoxicación (Rosenfeld y Feng, 2011).

La presencia de antibióticos en el ambiente se origina a partir de los medicamentos ingeridos por el paciente y luego son excretados vía urinaria o por las heces, al no ser metabolizado conjuntamente con los excipientes son liberados, adicionalmente muchos de estos fármacos poseen metabolitos bioactivos, otras fuentes de antibióticos lo constituyen los botadores de residuos sólidos, rellenos sanitarios, hospitales, centros de salud, laboratorios, entre otros (Chávez et al., 2022). Los compuestos farmacéuticos ingresan al agua, mediante las plantas de tratamiento, donde son retenidos y luego son descargados al ecosistema de forma directa, originando efectos adversos en la vida acuática y la salud humana (Cortacans et al., 2014).

Los antibióticos se presentan en bajas concentraciones (partes por millón o por trillón), pero existe una acumulación continua en el ambiente, sorprendiendo a la comunidad científica su persistencia en el ambiente (García, 2012). En muchos casos, a pesar de ser administrados en pequeñas dosis, sus residuos pueden originar procesos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, inhibir o inducir la actividad enzimática e inclusive interactuar con diversas sustancias presentes en el ambiente (Elizalde et al., 2016). Luego de pasar por las estaciones depuradoras, las aguas residuales portadoras de residuos de antibióticos, llegarán a los ríos y otras aguas superficiales, inclusive a sus sedimentos, también pueden estar contenidos en sus sedimentos, que pueden llegar al compartimento terrestre al reutilizar lodos en prácticas agrarias (Chávez et al., 2022).



En tal sentido, es importante implementar tratamientos para remover o eliminar antibióticos desde las aguas residuales, para ello se debe contar con procedimientos y técnicas analíticas sensibles y selectivas para lograr su detección y cuantificación, como son las pruebas de inmunoensayos (Chávez et al., 2022). En la actualidad los antibióticos se determinan mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y HPLC acoplado a masas (HPLCMS), sus desventajas son que necesitan de mucho trabajo, un equipo complejo, y los reactivos que son muy costosos (Roberts y Thomas, 2006).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 ZONA DE ESTUDIO

La investigación se desarrolló en agua procedente de la planta de tratamiento de aguas residuales del centro poblado Alto Puno, ubicada a un costado de la carretera Puno – Juliaca, en el distrito, provincia y región Puno, en las coordenadas  $15^{\circ} 48' 42.1''$  de Latitud Sur y  $70^{\circ} 1' 54.2''$  de Longitud Oeste, sobre los 3995 msnm. Los puntos de muestreo del agua residual estuvieron ubicados a la salida de la planta de tratamiento, en las coordenadas  $15^{\circ}48'31.4''$  de Latitud Sur y  $70^{\circ}02'13.3''$  de Longitud Oeste.

#### Figura 1

*Ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) del centro poblado Alto Puno.*



Fuente: Google maps.



### **3.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El diseño de investigación fue observacional para el primer objetivo específico, en razón de que los aislamientos de *Escherichia coli* fueron sometidos a antibióticos predeterminados; mientras tanto que para el segundo objetivo específico el diseño fue experimental debido a que las bacterias mencionadas fueron expuestas a diversas concentraciones crecientes de plomo y mercurio (Hernández et al., 2014).

Por otro lado, el tipo de investigación fue descriptivo para el primer objetivo específico, en razón que se registraron los diámetros de halos de inhibición originados por los discos de antibióticos, posteriormente fueron contrastados con el Manual de Procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana (INS, 2002); mientras tanto, fue un tipo de estudio explicativo para el segundo objetivo específico, debido a que las concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas de plomo y mercurio, fueron interpretadas según las características bacteriológicas de los microorganismos aislados (Hernández et al., 2014).

La temporalidad de la ejecución de la investigación fue entre los meses de febrero, marzo y abril del año 2022.

### **3.3 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA**

Las aguas residuales de la planta de tratamiento se constituyeron en la población y en razón de que el volumen es variable según las horas y los días, el tamaño de muestra se determinó mediante el método no probabilístico por conveniencia. En tal sentido, se analizaron 30 muestras, distribuidas en 10 muestras por mes de ejecución (febrero, marzo y abril), de las cuales 5 fueron realizadas a las 8 am y las restantes 5 al medio día, debido



a la variabilidad de volumen, siendo el caudal menor a las 8 am y mayor a las 12 m (Figura 5).

### 3.4 DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN *Escherichia coli*

#### 3.4.1 Aislamiento de *Escherichia coli*

**Método.** Cultivo *in vitro* en agar Eosin Metil Blue (EMB).

**Fundamento.** El agar EMB, es un medio utilizado para obtener un aislamiento selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre bacterias capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa y aquellos que carecen de hacerlo, se logra mediante los indicadores eosina y azul de metileno, ejerciendo un efecto inhibitorio sobre las Gram positivas, donde *Escherichia coli* presenta un característico brillo metálico. Los aislamientos bacterianos que utilizan la lactosa, presentan un centro oscuro con bordes azulados o rosados, y las demás son incoloras (Camacho, 2014).

#### **Procedimientos:**

- Las muestras de agua residual del centro poblado Alto Puno, fueron cultivadas en medios de cultivos sólidos de agar EMB, mediante estrías con un asa de siembra previamente esterilizada.
- A continuación, se realizó la incubación por 24 horas a 37 °C.
- Las colonias reconocidas como típicas de *Escherichia coli*, fueron aquellas que presentaron una coloración verde con brillo metálico en el agar EMB (Figura 6).



- La identificación bacteriana se realizó primeramente mediante la tinción Gram (Figuras 7 - 8), seguidamente se realizaron las pruebas bioquímicas siguientes: TSI A/A, LIA K/K, Citrato Simmons negativo, urea negativa, producción de gas positivo, producción de sulfuro de hidrógeno negativo, motilidad positiva e indol positivo (Campuzano et al., 2015), como se observa en la Figura 9, hasta llegar a un total de 30 aislamientos bacterianos.

### 3.4.2 Evaluación de la resistencia de *Escherichia coli* a los antibióticos

**Método.** Kirby Bauer.

**Fundamento.** El método es recomendado para determinar la susceptibilidad bacteriana a los antibióticos, se basa en poner en contacto a la bacteria aislada con discos de papel filtro conteniendo antibióticos, según la especie o grupo bacteriano, en placas Petri inoculadas con el microorganismo. El disco impregnado de antibiótico entra en contacto con la superficie húmeda del agar, absorbe agua y se difunde en el agar. Si el antibiótico posee actividad inhibitoria se formarán halos, cuyos diámetros son medidos y determinar la respuesta de la bacteria al antibiótico (Picazo, 2000).

#### **Procedimientos:**

- Los aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos en agar EMB fueron subcultivados mediante estrías en placas Petri conteniendo agar Mueller Hinton.
- En un tubo de ensayo limpio y seco se transfirió 5 ml de agua destilada estéril, donde se inoculó con asa de siembra una porción de colonia bacteriana procedente del agar EMB, luego se homogenizó en un vortex. Este tubo

preparado fue contrastado con el tubo patrón del Standard McFarland 0.5 (Figura 10), al poseer la misma turbidez, la solución del tubo de ensayo presentó  $1.5 \times 10^8$  células/ml aproximadamente, a continuación, se realizó el cultivo con hisopos estériles a la placa Petri de agar Mueller Hinton (Figura 11).

- A continuación, se colocaron con pinzas esterilizadas y de forma aséptica los discos de sensibilidad de cloranfenicol, trimetoprim – sulfametoxazol, ampicilina, ceftriaxona y gentamicina (Figura 12).
- Los cultivos se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 37 °C.
- La susceptibilidad antibiótica de *Escherichia coli* fue determinada con la medida del diámetro (mm) de inhibición del halo, producido alrededor de cada disco de antibiótico (Figura 13), con un vernier calibrado (Ochoa et al., 2012) y contrastando los valores de los halos con los diámetros establecidos en el Manual de Procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana (INS, 2002).

### 3.4.3 Variables de investigación

- **Variable independiente:** discos de antibióticos para enterobacterias.
- **Variable dependiente:** respuesta antibiótica de *Escherichia coli*.

### 3.4.4 Análisis estadístico de resultados

Para determinar si la respuesta de susceptibilidad antibiótica de *Escherichia coli* fue similar o diferente frente a los antibióticos, se realizó una prueba de chi cuadrado, con un nivel de significancia del 95 % y un margen de



error del 5 %. El análisis inferencial fue realizado en el software libre Infostat versión estudiantil.

### **3.5 DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A PLOMO Y MERCURIO EN *Escherichia coli***

Para determinar la resistencia de los aislamientos de *Escherichia coli* a plomo y mercurio en concentraciones crecientes, se desarrolló la metodología recomendada por Martínez et al. (2010), para ello se cumplió las siguientes etapas:

#### **3.5.1 Proceso de evaluación de la resistencia de *Escherichia coli* a plomo y mercurio**

**Métodos:** Dilución en caldo para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y microdilución en placa para la concentración mínima bactericida (CMB).

**Fundamento:** Ambas concentraciones (CMI y CMB) determinan la más baja concentración de una sustancia química o antibiótica, capaz de lograr la inhibición o destrucción total de una cepa bacteriana, se determinan en un medio de cultivo líquido y sólido, respectivamente, observándose el crecimiento bacteriano mediante la turbidez del caldo de cultivo o el crecimiento de colonias, ambos parámetros (CMI y CMB) pueden estar próximas, variar en muy poco o muchas veces ser similares (Picazo, 2000).

**Procedimientos:** Se desarrollaron los procedimientos recomendados por Centurión et al. (2013), que fueron los siguientes:

- La determinación de la CMI se realizó en caldo infusión cerebro corazón (CICC).



- Inicialmente se prepararon soluciones concentradas de plomo a partir del reactivo nitrato de plomo ( $\text{Pb}[\text{NO}_3]_2$ ) como se observa en la Figura 14, de dicha solución se obtuvieron las concentraciones de 20, 50, 80, 100, 200 hasta 500 mg/l, pero las bacterias continuaron presentando crecimiento en todas las concentraciones anteriores, razón por la cual se elevaron las concentraciones desde 6000 hasta 7700 mg/l de plomo (Figura 15).
- De igual forma, se preparó una solución concentrada de mercurio (Figura 16) a base del reactivo  $\text{HgCl}_2$ , del cual se prepararon soluciones de mercurio de menor concentración desde 50 a 700 mg/l (Figura 17).
- Las soluciones de concentraciones más bajas de metales pesados fueron obtenidas desde las soluciones concentradas, aplicando la técnica de dilución de las soluciones mediante la ecuación  $C_1V_1=C_2V_2$ , donde C es la concentración y V es el volumen, en el caso de la solución concentrada de plomo tuvo una concentración de 2000 mg/l y la de mercurio de 1500 mg/l.
- Para determinar la CMI de plomo y mercurio se prepararon 7 tubos debidamente rotulados con 1 ml de CICC, quienes fueron esterilizados en una autoclave.
- A continuación, a cada tubo se agregó 1 ml de la concentración de *Escherichia coli* equivalente al estándar McFarland 0.5 (Figura 18).
- Seguidamente, se añadió 1 ml de la concentración de cada metal, a los controles solo se les agregó agua destilada esterilizada, homogenizándolos uniformemente en un vortex.
- Luego los tubos experimentales y los tubos controles fueron incubados a 37



°C por 24 horas.

- Posterior a la incubación los tubos con turbidez del CICC, representaron crecimiento bacteriano y los tubos transparentes similares al tubo control, fueron considerados negativos y por lo tanto fue la CMI (Hassan et al., 2006), como se presenta en la Figura 19 para plomo y la Figura 20 para mercurio. Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.
- Para determinar la CMB, se extrajo con una pipeta automática 100 µl de cada tubo que no presentó turbidez, fue inoculado en placas Petri conteniendo agar Mueller Hinton y extendido mediante la técnica de estrías.
- Las placas fueron incubadas por 24 horas a una temperatura de 37 °C (Horna et al., 2005).
- Las placas Petri con inóculo predeterminado anteriormente cultivado que no presentó el crecimiento de colonias, fue determinada como la CMB (Toribio et al., 2004), como se visualiza en la Figura 21 para plomo y en la Figura 22 para mercurio.

### 3.5.2 Variables de investigación

- **Variable independiente:** concentraciones de plomo y mercurio.
- **Variable dependiente:** CMI y CMB de los metales sobre *Escherichia coli*.

### 3.5.3 Análisis estadístico de resultados

Para determinar si existió o no diferencia estadística entre las CMI y CMB, se realizó una prueba de análisis de varianza, con un nivel de significancia del 95



% y un margen de error del 5 %. El análisis inferencial fue realizado en el software libre Infostat versión estudiantil.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS EN *Escherichia coli*

**Tabla 3**

*Diámetros de halos de inhibición y susceptibilidad antibiótica de Escherichia coli frente a 5 antibióticos.*

Antibióticos	Respuesta antibiótica						Total	
	Sensible		Intermedio		Resistente		N°	%
	N°	%	N°	%	N°	%		
Cloranfenicol	6	20.00	14	46.67	10	33.33	30	100.00
Trimetoprim - Sulfametoxazol	10	33.33	8	26.67	12	40.00	30	100.00
Ampicilina	4	13.33	8	26.67	18	60.00	30	100.00
Ceftriaxona	22	73.33	6	20.00	2	6.67	30	100.00
Gentamicina	28	93.33	2	6.67	0	0.00	30	100.00

$X^2=67.42$ ;  $gl=8$ ;  $p<0.0001$

**Fuente:** Elaboración propia.

En la Tabla 3 se visualiza la respuesta antibiótica de 30 aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de la planta de tratamiento de aguas residuales del centro poblado Alto Puno (Figura 2).

Frente al cloranfenicol la mayor respuesta fue intermedia con 46.67 % (14/30), seguido de la respuesta resistente con 33.33 % (10/30) y el 20 % (6/30) resultaron ser sensibles. Las respuestas intermedia y resistente que presentaron las bacterias aisladas, se deberían a que poseen mecanismos de resistencia al antibiótico, modificando su estructura evitando su unión a la subunidad 50S del ribosoma, lo cual sucede gracias al cloranfenicol



– acetil transferasa, expresada a partir de los plásmidos que poseen, de tal manera que el antibiótico no pueda inhibir la síntesis de proteínas bacterianas (INSP, 1994).

Por otro lado, Morales et al. (2007) adicionalmente mencionan tres mecanismos de resistencia bacteriana al cloranfenicol, entre ellos se citan al proceso de expulsión inespecífica y específica del antibiótico al medio exterior de la célula, gracias a la presencia de proteínas transportadoras multidroga (Poole, 2005), expresadas a partir de genes involucrados como *cmrA* (Nagy et al., 1997) *cmlR* (Desomer et al., 1992) *cmlG* (Dittrich et al., 1991) y *cmlF* (He et al., 2001) ubicadas en diversas bacterias y que originan un flujo activo del antibiótico. La resistencia al cloranfenicol mediado por la enzima cloranfenicol acetil transferasa mencionada en el párrafo anterior y la resistencia mediante la fosforilación mediante el cloranfenicol 3'-O-fosfotransferasa (Izard, 2001), dichas moléculas se encuentran en las membranas citoplasmáticas y son capaces de promover el flujo del antibiótico de forma activa y específica (Levy, 1992).

Los altos porcentajes de respuestas intermedia y de resistencia registradas en las bacterias, se debe probablemente a que las aguas residuales del centro poblado Alto Puno, posean residuos de cloranfenicol los cuales, con complicadas para ser eliminadas mediante tratamientos convencionales, lo que constituye un riesgo alto para los organismos que habitarían las aguas residuales, considerando que se debe de evitar en vertimiento de estos efluentes al ambiente sin tratamiento (Navarro, 2021).

Frente a trimetoprim – sulfametoxazol la respuesta antibiótica de *Escherichia coli* fue mayoritariamente resistente al antibiótico en un 40 % (12/30), seguido del 33.33 % (10/30) que fueron sensibles y el 26.67 % (8/30) fueron intermedios. La bacteria aislada mayoritariamente fue resistente al antibiótico, pudiendo deber a la presencia de mecanismos de resistencia de naturaleza cromosómica o plasmídica, en especial en éstos



últimos quienes poseen genes que expresan diversas dihidrofolato – reductasas, a partir de integrones que poseen genes *dfrA1*, *dfrA2*, *dfrA14* y *dfrA17* (Huovinen, 2001) que disminuyen la capacidad de inhibir al fármaco o alterando la permeabilidad celular (Cabrera, 2008). Por otro lado, otro mecanismo de resistencia sería la presencia de genes que expresan proteínas mutantes de la enzima blanco, como los genes *sul1* y *sul2* contra la molécula de sulfametoxazol (Mosquito et al., 2011).

*Escherichia coli* también presentó resistencia a trimetoprim – sulfametoxazol en el 40.0 % de los aislamientos, la bibliografía no menciona con precisión los mecanismos de resistencia; pero, Zykov et al. (2016) indican que las  $\beta$  – lactamasas de espectro extendido (BLEE) estarían asociadas con la resistencia a trimetoprim – sulfametoxazol, aminoglucósidos, quinolonas y cloranfenicol, consecuentemente reducen las opciones terapéuticas al médico, en el tratamiento de las infecciones urinarias que tienen como etiología a enterobacterias productoras de BLEE, constituyéndose en una alerta grande en el campo de la salud y sus autoridades, debido al notable incremento (Cabrera et al., 2018).

Respecto a la ampicilina, *Escherichia coli* presentó el 60 % (18/30) de los aislamientos resistentes, a continuación, el 26.67 % (8/30) con respuesta intermedia y el 13.33 % (4/30) fueron sensibles, la resistencia bacteriana estaría mediada por los mecanismos de resistencia como los genes que codifican las  $\beta$  – lactamasas entre ellos *oxa-1*, *tem-like* y *carb-2* (Navarro, 2021), que hidrolizan el enlace amida del núcleo beta – lactámico, inactivando al antibiótico.

Ante la ceftriaxona el 73.33 % (22/30) de las bacterias aisladas resultaron ser sensibles, el 20 % (6/30) tuvieron respuesta intermedia y el 6.67 % (2/30) fueron resistentes. Los dos aislamientos que presentaron resistencia a la cefalosporina se



deberían a los mecanismos de resistencia representado por la alteración de la molécula blanco y de la permeabilidad a causa de los cambios en las proteínas de la membrana externa, expresadas por los genes *PBP2* modificada y la *OmpF* sustituida por la *OmpC*, ambas estructuras genéticas se ubican en el cromosoma bacteriano (INSP, 1994). De manera similar, los genes *blaTEM* y *blaSHV* que codifican penicilinasas también pueden tener acción sobre las cefalosporinas de tercera generación o los genes *CTX-M* codificada por los plásmidos, que generan  $\beta$  – lactamasas de espectro extendido, afectando sus funciones (Mosquito et al., 2011), las cuales poseen características hidrolíticas que actúan contra las cefalosporinas en especial la ceftriaxona y la cefotaxima (Patrick et al., 2009).

Mientras que, frente a la gentamicina, el 93.33 % (28/30) fueron sensibles, el 6.67 % (2/30) tuvieron respuesta intermedia y ningún aislamiento de *Escherichia coli* fue resistente. La presencia de dos cepas con respuesta intermedia al aminoglucósido, se debería a que poseen proteínas modificadoras del antibiótico, expresadas mediante el gen *ACC(3)-III*, el cual fue aislado en *Pseudomonas aeruginosa*, el cual se ubica en el cromosoma bacteriano, no obstante, la mayoría de las proteínas modificadores se localizan en los transposones, facilitando la expansión epidémica de la resistencia, ya que son genes móviles que pueden desplazarse de un lugar a otro en el genoma o a plásmidos (INSP, 1994).

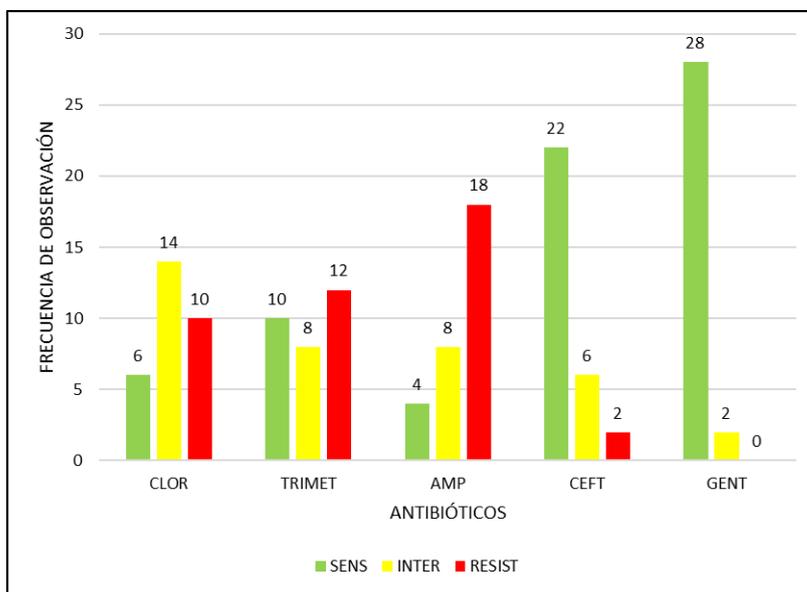
Según la prueba del chi cuadrado, la respuesta antibiótica de los aislamientos de *Escherichia coli* fueron diferentes a los antibióticos evaluados ( $X^2=67.42$ ;  $gl=8$ ;  $p<0.0001$ ), siendo mayor la resistencia bacteriana frente a los antibióticos ampicilina, cloranfenicol y trimetoprim – sulfametoxazol y menor ante la ceftriaxona y gentamicina.

A pesar de corresponder a la misma especie bacteriana, las respuestas antibióticas son variables, esto se debería a que los mecanismos de resistencia que posee cada

aislamiento son adaptaciones de sus propios mecanismos que inicialmente tenían otras funciones, razón por la cual pueden originarse en el mismo microorganismo, producto de los errores en la replicación del ADN, representado por las mutaciones que pueden ser transferidas de manera vertical de célula madre a célula hija, o debido a que adquieren material genético que posteriormente codificaría genes de resistencia, capaces de ser difundida de manera horizontal de una célula a otra sea de la misma especie o no (Cabrera, 2008).

## Figura 2

*Frecuencia de observación de la respuesta antibiótica de Escherichia coli frente a los antibióticos. CLOR=cloranfenicol; TRIM-SULF= trimetoprim – sulfametoxazol; AMP=ampicilina; CEFT=ceftriaxona; GENT=gentamicina; SENS=sensible; INTER=intermedio; RESIST=resistente.*



**Fuente:** Elaboración propia.

En la presente investigación, los aislamientos de *Escherichia coli*, presentaron resistencia a los antibióticos, excepto a la gentamicina, resultados similares fueron obtenidos por Moraga et al. (2003), al aislar bacterias en la bahía de Iquique (Chile) con



resistencia a los antibióticos amikacina, cefomax, cefotaxima, nitrofurantoína y ampicilina, este último llegando a 90.9 % de bacterias resistentes, siendo superiores a los reportados en la actual investigación con 60.0 %; pero similares a los registrados por Tzoc et al. (2004), quienes determinaron que aislamientos de *Escherichia coli* fueron resistentes a la ampicilina en un 57.0 %, siendo próximos a los obtenidos en la investigación, donde la resistencia se atribuiría a los mecanismos intrínsecos que generarían las bacterias ante los antibióticos.

Por otro lado, Martínez y Villalobos (2008), reportan que *Escherichia coli* aisladas de aguas servidas y alimentos, fueron resistentes a la ampicilina entre el 80 % y 100 %, respectivamente, estas cifras de resistencia al antibiótico fueron superiores a los reflejados en la presente investigación, ya que llegó solo al 60 %. En la investigación se determinó que los aislamientos de *Escherichia coli* presentaron resistencia a cloranfenicol, trimetoprim – sulfametoxazol, ampicilina y ceftriaxona, estos resultados fueron parecidos a los obtenidos por Martínez et al. (2010), quienes aislaron bacterias del agua y del sedimento del río Almenares en Cuba, donde el 96 % de los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Neisseria*, fueron multirresistentes a cefalexina, kanamicina, cloranfenicol, amikacina, norfloxacin, ceftriaxona y cefotaxima, donde la resistencia bacteriana se consideraría en un peligro para la salud pública, ya que la resistencia a los antibióticos es diseminada hacia bacterias sensibles.

Núñez et al. (2012), en agua residual de canales de la zona de Ingeniero Budge – Buenos Aires (Argentina), determinaron que las coliformes presentaron resistencia a la ampicilina en un 34 %, siendo inferiores a los resultados del presente estudio, pero si coincidió en determinar multirresistencia en *Escherichia coli*, lo que se puede considerar



de riesgo sanitario; en ese sentido, Fonseca y Galeano (2013), al reafirmar que las bacterias de las aguas residuales poseen mecanismos de resistencia a los antibióticos, recomiendan que se debe realizar evaluaciones constantes y mantener su vigilancia.

Coila (2017), determinó que los aislamientos de *Escherichia coli* de la laguna de estabilización de aguas residuales Espinar (Puno), fueron sensibles a ceftriaxona, cefalexina, cefotaxima y cloranfenicol, estos resultados fueron diferentes a los obtenidos en la presente investigación, en razón que la misma bacteria presentó resistencia a ceftriaxona (6.7 %) y cloranfenicol (33.3 %). Pero la difusión de la resistencia bacteriana a los antibióticos no solo se presentaría en lugares habitados por la humanidad, sino también en ambientes alejados y poco habitados, tal como lo afirma Calisto et al. (2018), quienes evaluaron 70 aislamientos de *Escherichia coli* en bases antárticas, de los cuales 20 mostraron resistencia a ampicilina y 12 fueron resistentes a múltiples agentes microbianos, inclusive reportando bacterias con producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

La resistencia antibiótica de *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno frente a la ampicilina y trimetoprim – sulfametoxazol, es un indicador que la población se automedica, asistiendo a una botica o bien no cumple con el tiempo de tratamiento recomendado por el médico, en razón de que son antibióticos utilizados para tratar infecciones del tracto urinario, siendo muy comunes en la población especialmente femenina (Huang y Stafford, 2022). Otra posible causa sería la presencia de contaminantes químicos y residuos de antibióticos procedentes de los desechos o efluentes hospitalarios, la agricultura, las industrias, la producción de alimentos para los animales, entre otros, siendo los establecimientos de salud los que liberarían antibióticos que al ponerse en contacto con las bacterias generarían mecanismos de resistencia



antibiótica como las enzimas tipo BLEE, las carbapenemasas y la *Amp-C* (Romero, 2020).

La presencia de bacterias con mecanismos de resistencia a los antibióticos en los cuerpos de agua es perjudicial para la salud pública, originando dificultades en el tratamiento médico, en especial en la población de pacientes inmunosuprimidos, niños y adultos mayores, tal como lo afirman Molina y Orozco (2019). Pérez (2019), reportó que el 8 % de los aislamientos de *Escherichia coli* en aguas residuales de León (Nicaragua), presentaron multirresistencia a cefalosporinas, fenicoles, aminoglucósidos y carbapenémicos, siendo probable que las bacterias aisladas no posean genes de resistencia a los antibióticos o las aguas residuales sean domésticas y no posean una alta carga elevada de contaminantes entre ellos residuos de antibióticos.

La resistencia bacteriana a los antibióticos es una preocupación grande para la salud pública, siendo cada vez más compleja y considerada como una amenaza en el mundo, tiene su origen como parte de la adaptación evolutiva frente a las presencia de contaminantes químicos y antibióticos en el ambiente, por otro lado, el uso desmedido y poco regulado de antibióticos en la medicina humana y en veterinaria, asimismo el ambiente se constituyen en un reservorio de genes de resistencia a los antibióticos y bacterias resistentes a antibióticos (Barrantes et al., 2022).

La presencia de bacterias resistentes a los antibióticos origina impacto biológico, ya que forman un nicho único y puede llegar a disminuir la diversidad biológica (Millanao et al., 2018), donde las cepas resistentes a un grupo de antibióticos también son resistentes a otros compuestos no relacionados por sus mecanismos de acción o de resistencia, suponiendo un coste biológico para los microorganismos (Martínez, 2010). Asimismo, estos microorganismos tienen impacto para el diagnóstico microbiológico, en razón de



que se debe contar con personal con suficiente formación, así como infraestructura mínima que garantice la realización de estudios pertinentes y análisis fiables para la obtención de resultados confiables (Cantón y Gómez, 2017).

El impacto clínico – terapéutico que originan las bacterias resistentes, reduce la eficacia de un tratamiento antibiótico, lo curioso es que las infecciones originadas por cepas resistentes aparecen en pacientes con gravedad, disminuyendo las opciones de un tratamiento correcto, para ello se recurre a antibióticos de mayor espectro, que pudieron ser reservados para una menor proporción de casos (Fernández et al., 2021). En los sistemas de salud origina un impacto económico, ya que las bacterias multirresistentes literalmente son muy difíciles de tratar y muchas veces originan procesos patológicos largos y graves, con mayores períodos de contagio, aparecen efectos secundarios y las hospitalizaciones son más prolongadas, incrementándose los costos hospitalarios y la mortalidad (Peñalva, 2020).

El impacto epidemiológico que originan las bacterias resistentes a los antibióticos, no solo trae consecuencias en pacientes con infección, sino también que lograría colonizar e infectar a individuos sanos o pacientes no infectados, inclusive se puede observar la diseminación entre servicios de un hospital, o en hospitales cercanos, ya que muchas veces los pacientes son trasladados, y son portadores de microorganismos resistentes suponiendo graves problemas (Martínez, 2010). Mientras que el impacto en la industria farmacéutica, ante el imparable aumento y diseminación de bacterias resistentes involucran desarrollar a corto y mediano plazo el descubrimiento de nuevos antibióticos que puedan ser utilizados frente a la multirresistencia creciente, generando gasto de innovación y desarrollo de la industria antibiótica (Peñalva, 2020).



Los resultados reportados en la presente investigación, manifiestan que la resistencia antibiótica en aislamientos de *Escherichia coli* a los antibióticos varió entre 6.6 % y 60.0 %, frente a ceftriaxona y ampicilina, respectivamente, razón por la cual se acepta la hipótesis planteada en el proyecto de investigación, donde se afirmaba que la resistencia antibiótica se presentaría en más del 50 % de los aislamientos de *Escherichia coli* en muestras de aguas residuales del centro poblado Alto Puno de la ciudad de Puno.

Luego de realizar el análisis e interpretación de la susceptibilidad a los antibióticos en *Escherichia coli* aisladas de las aguas residuales de la localidad de Alto Puno, se afirma que poseen bacterias resistentes a los antibióticos especialmente frente a la ampicilina, seguido de trimetoprim – sulfametoxazol, cloranfenicol y ceftriaxona, donde la gran mayoría son destinados a tratar infecciones urinarias y al parecer existe un consumo no indicado por los médicos o automedicación, muchas veces no cumpliendo con los tiempos de tratamiento establecidos en la práctica médica, generando la resistencia bacteriana a los antibióticos, que se constituiría en una amenaza para la salud pública.

## 4.2 RESISTENCIA A PLOMO Y MERCURIO EN *Escherichia coli*

### 4.2.1 CMI y CMB de concentraciones de plomo en el crecimiento de *Escherichia coli*

**Tabla 4**

*Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) del plomo sobre Escherichia coli.*

N° de aislamientos de <i>E. coli</i>	%	Concentraciones de plomo (mg/l)						CMI	CMB
		6300	6500	6900	7000	7300	7500		
7/30	23.33	+	+	+	+	+	-	-	7500
		+	+	+	+	+	+	-	7700
2/30	6.67	+	+	-	-	-	-	-	6900
		+	+	+	-	-	-	-	7000
13/30	43.33	+	+	+	-	-	-	-	7000
		+	+	+	+	-	-	-	7300
8/30	26.67	+	-	-	-	-	-	-	6500
		+	+	-	-	-	-	-	6900
Promedios (mg/l)								6975	7225

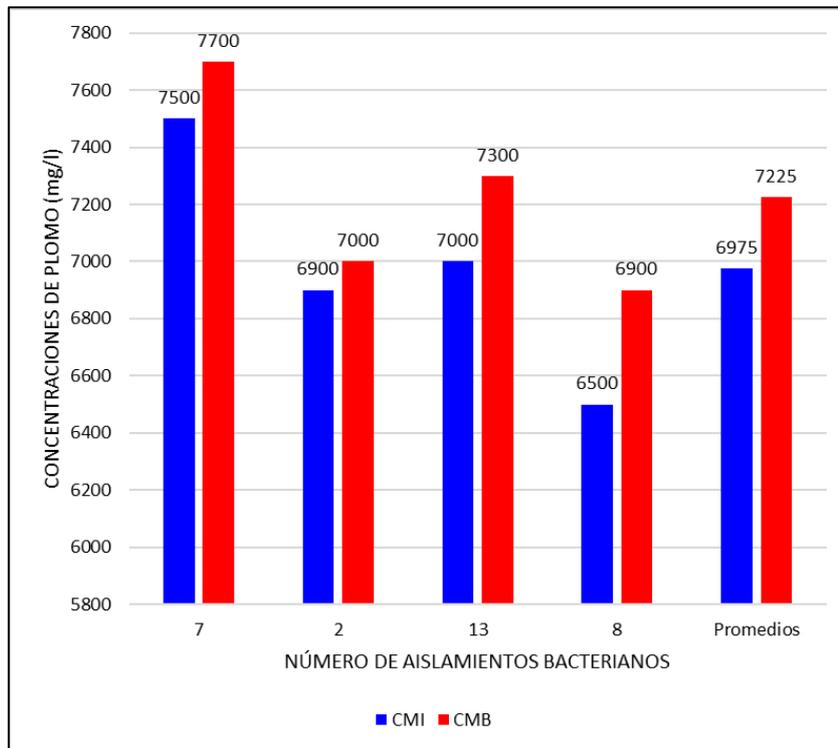
**Donde:** Signo + = crecimiento bacteriano y Signo -: ausencia de crecimiento bacteriano.

**Fuente:** Elaboración propia.

En la Tabla 4, se observan los valores de las concentraciones mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB) del plomo sobre el crecimiento de *Escherichia coli* a partir de aguas residuales del centro poblado Alto Puno, donde 7 aislamientos bacterianos (23.33 %) resultaron con las mayores CMI y CMB con 7500 mg/l y 7700 mg/l, respectivamente; seguido de 13 aislamientos (43.33 %) que presentaron valores de CMI de 7000 mg/l y CMB de 7300 mg/l; por otro lado, 2 aislamientos (6.67 %) resultaron con la CMI de 6900 mg/l y CMB de 7000 mg/l y finalmente, 8 aislamientos resultaron con una CMI de 6500 mg/l y CMB de 6900 mg/l (Figura 3).

**Figura 3**

*CMI y la CMB de las concentraciones de plomo sobre Escherichia coli.*



**Fuente:** Elaboración propia.

El análisis de varianza realizado a los resultados de la CMI y CMB de plomo sobre los aislamientos de *Escherichia coli*, no presentaron diferencia estadística significativa ( $F=0.84$ ;  $gl=1$ ;  $P\text{-valor}=0.3953$ ), por lo tanto, se afirma que los valores de la CMI y la CMB del plomo, fueron similares en la inhibición bacteriana.

Según los resultados obtenidos, los aislamientos de *Escherichia coli* presentaron elevados valores de CMI (6500 mg/l a 7500 mg/l) y CMB (6900 mg/l a 7700 mg/l) frente al plomo, a pesar de que los metales pesados pueden originar la destrucción de las membranas bacterianas, disminuir la actividad enzimática, reducir las funciones celulares, así como reducir el número de genes que dependerá de la cantidad de metales pesados (Avelar, 2023), los microorganismos



al exponerse a un ambiente contaminado, generan diversos mecanismos que permiten la absorción de los metales, con la finalidad de neutralizar su efectos en los procesos celulares (Verma y Kuila, 2019).

Los microorganismos entre ellas las bacterias según Sueiro (2012), pueden poseer hasta seis mecanismos celulares para originar resistencia a los metales pesados, para contrarrestar los efectos del plomo, se menciona el eflujo de metales por transporte activo mediante el sistema pbr estudiado en células de *Cupriavidus metallidurans*, conformado por los genes *pbrUTR* y *pbrABCD* en distintos operones, quienes codifican la síntesis de proteínas encargadas de la captación, el eflujo y el depósito de plomo. La PbrA es una ATPasa de membrana interna del tipo P, que tiene la función de transportar iones de plomo en contra de su gradiente de concentración, hacia el periplasma, que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP. Por otro lado, la PbrB es una lipoproteína de membrana externa, encargada de remover plomo desde el periplasma, por lo tanto, la PbrA y PbrB son sus mecanismos de resistencia a plomo (Aguilar et al., 2010).

Otro mecanismo de resistencia que podrían poseer los aislamientos de *Escherichia coli* es el secuestro extracelular, que fue reportado en una cepa de *Citrobacter freundii*, quien acumula plomo en la superficie formando una sal de fosfato, debido a la actividad de la fosfatasa ácida que libera fosfatos orgánicos (Levinson y Mahler, 1998). Un similar mecanismo de resistencia a plomo se estudió en *Pseudomonas marginalis*, que consiste en excluir al plomo por medio de la síntesis de polímeros extracelulares, siendo todavía inespecífica su composición (Roane, 1999). En resumen, la resistencia a plomo en bacterias, se continúa investigando, pero hasta la fecha se encuentra documentado la unión



intra y extra celular de plomo, la presencia de bombas de eflujo y la precipitación de plomo como sales de fosfato (Hynninen et al., 2009) entre los más importantes mecanismos de resistencia.

Altas concentraciones de plomo fueron toleradas por *Escherichia coli* aisladas de las aguas residuales de centro poblado Alto Puno, Paniagua et al., (2003) atribuye esta propiedad a su configuración genética, al poseer gen *cadCA* en el plásmido pI258, como también la presencia de proteínas transportadoras en la membrana que expulsarían hacia el exterior los iones metálicos mediante el cambio del estado oxidado – reducción del metal (Cervantes et al., 2006) y aquellos que incorporan metales al interior de las células (Marrero et al., 2007) las cuales son queladas por proteínas citoplasmáticas o a nivel de la pared celular. Muchos de estos mecanismos de resistencia bacteriana son el producto de la fuerte presión que ejerce el ambiente contaminado, donde aquellos que reaccionen genéticamente y modifiquen su fisiología para su sobrevivencia (Martínez et al., 2010).

#### **4.2.2 CMI Y CMB DE CONCENTRACIONES DE MERCURIO EN EL CRECIMIENTO DE *Escherichia coli***

En la Tabla 5, se visualizan los valores de las concentraciones mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB) del mercurio sobre el crecimiento de *Escherichia coli* aislados de aguas residuales del centro poblado Alto Puno. De 30 aislamientos bacterianos, 9 (30 %) resultaron con valores de CMI y CMB con 500 mg/l para ambas concentraciones; seguidamente 15 aislamientos presentaron una CMI y CMB de 300 mg/l, respectivamente; mientras que los menores valores de CMI y CMB se presentaron en 6 (20 %) aislamientos bacterianos con

concentraciones de 150 mg/l de mercurio. No se realizó la prueba estadística entre la CMI y la CMB, en razón de que ambas pruebas de susceptibilidad resultaron ser iguales.

**Tabla 5**

*Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) del mercurio sobre Escherichia coli.*

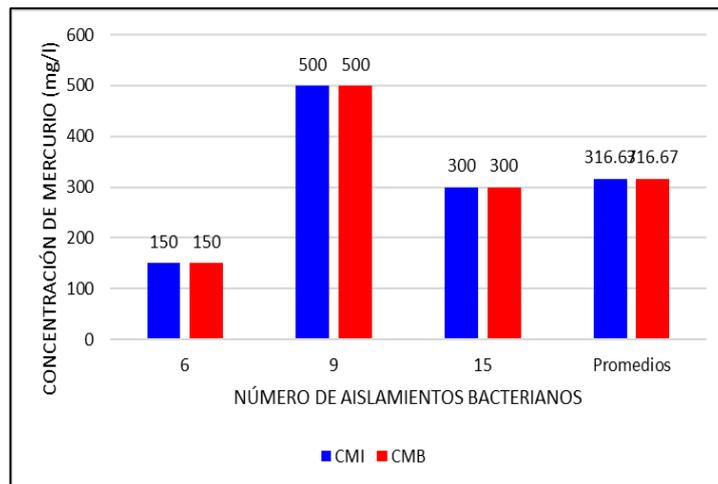
N° de aislamientos de <i>E. coli</i>	%	Concentraciones de mercurio (mg/l)						CMI	CMB	
		50	75	100	150	300	500			700
6/30	20	+	+	+	-	-	-	-	150	150
		+	+	+	-	-	-	-		
9/30	30	+	+	+	+	+	-	-	500	500
		+	+	+	+	+	-	-		
15/30	50	+	+	+	+	-	-	-	300	300
		+	+	+	+	-	-	-		
Promedios (mg/l)								316.67	316.67	

**Donde:** Signo + = crecimiento bacteriano y Signo -: ausencia de crecimiento bacteriano.

**Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 4**

*CMI y la CMB de las concentraciones de mercurio sobre Escherichia coli.*



**Fuente:** Elaboración propia.



Las bacterias aisladas en la presente investigación, procedieron de aguas residuales presuntamente domésticas y la resistencia a mercurio se debería a que en ambientes acuáticos impactados por actividades humanas, los microorganismos son expuestos a diversas presiones selectivas de naturaleza ambiental (salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto y otros) y a los compuestos tóxicos, originando diversos tipos de resistencias, lo negativo de todo ello es que esos mecanismos de resistencia pueden ser transmisibles a cepas sensibles (Sulca y Alvarado, 2018).

Las bacterias aisladas de *Escherichia coli* resistentes al mercurio, serían portadoras de diversos mecanismos de resistencia, es así que Madigan et al. (1997), afirma que los microorganismos pueden generar métodos para eliminar al mercurio desde las moléculas que las poseen, como la enzima reductasa mercúrica, quien al transferir dos electrones al mercurio con valencia +2, lo reduce a mercurio +0, esta última molécula es volátil y carece de toxicidad para los humanos y los microorganismos, estos procesos fisiológicos fueron observados en *Pseudomonas aeruginosa*, al poseer plásmidos con genes (*mer*) para la resistencia al metal.

Las bacterias para sobrevivir en ambientes con vertimientos de mercurio, deben de eliminar al metal pesado desde su citoplasma y lo realiza mediante eflujo, utilizando el operón *mer*, que es un sistema genético conformado por genes estructurales que expresan la síntesis de proteínas reguladoras, del transporte, así como de transformación del mercurio (Silver y Hobman, 2007).

La resistencia al mercurio en las *Escherichia coli* aisladas fue variable, estos resultados fueron similares a los reportados por Sulca y Alvarado (2018),



quienes encontraron microorganismos resistentes al mercurio en aislamientos de la bahía del Callao, probablemente a causa de la cercanía a la desembocadura del río Rímac y Chillón que son portadoras de aguas residuales domésticas e industriales, especialmente mineras. Por otro lado, Cardonha et al. (2005) reportaron en cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de agua de alcantarilla y del mar, poseer resistencia al mercurio; de manera similar Ferreira et al. (2007) aislaron cepas de *Escherichia* spp desde aguas residuales no tratadas y tratadas, con prevalencia de resistencia al mercurio y los antibióticos, ante ello Poiată et al. (2000), concluye que la resistencia al mercurio está relacionada con la resistencia a los antibióticos usados en clínica.

Al respecto, Sulca y Alvarado (2018) aislaron *Escherichia coli* de aguas superficiales del litoral de Lima (Perú), y resultaron con valores de CMI de 30 mg/l hasta 300 mg/l, siendo inferiores a los reportados en la presente investigación donde se obtuvo 500 mg/l de CMI, la resistencia al metal se atribuiría a la presencia de genes en sus plásmidos. De forma similar, Coila (2017), aisló *Escherichia coli* desde la laguna de estabilización Espinar en la ciudad de Puno, logrando determina sensibilidad al mercurio en concentraciones de 50 mg/l, la razón de la baja resistencia sería debido a que el ambiente acuático de la laguna Espinar no poseería altas concentraciones de mercurio y los microorganismos dejarían de adaptarse sintetizando mecanismos de resistencia.

Moraga et al. (2003), al evaluar bacterias de la bahía de Iquique (Chile) encontraron que *Pseudomonas* sp y *Alcaligenes* sp fueron resistentes a 10000 mg/l de mercurio, siendo superior a lo obtenido en el presente estudio, a pesar de ser otros géneros bacterianos se observa que las bacterias de un cuerpo acuático



pueden llegar a resistir concentraciones de metales pesados presentes en su hábitat acuático. La resistencia al mercurio se atribuye a la presencia de los genes *merA*, que codifica la biosíntesis de la enzima mercurio reductasa, quien logra reducir al mercurio (+2) a su forma estable mercurio (+0) volviéndolo volátil y carecer de reaccionar con los compuestos orgánicos biológicos (Rueda et al., 2009).

En la investigación se determinó que las bacterias aisladas, fueron resistentes a plomo y mercurio, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Martínez et al. (2010) quienes en Cuba aislaron bacterias del agua y los sedimentos del río Almenares entre los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Neisseria* y también presentaron multirresistencia a plomo, cromo y cadmio. Este fenómeno de resistencia a varios metales, es como consecuencia de la capacidad de adaptación que poseen los microorganismos a diferentes condiciones ambientales adversas, como parte de su evolución, activando su material genético para producir proteínas capaces de evitar daños y alteraciones a sus procesos metabólicos, y así sobrevivir a las condiciones adversas (Araoz, 2018).

Otra razón por la cual existen bacterias resistentes a los metales pesados en un ecosistema acuático, es la presencia de los mismos en el hábitat, tal como lo reporta Martínez et al. (2010), quienes encontraron bacterias del género *Neisseria* resistentes a los metales pesados presentes en el mismo sedimento y el agua del río Almenares de donde fueron aisladas, esta exposición microbiana a los metales pesados, hace que se adapten a dichos ambientes adversos generando mecanismos de detoxificación para que las bacterias sobrevivan, lo cual es corroborado por aislamientos de *Staphylococcus* de origen clínico y de aguas



residuales, poseer resistencia al mercurio (Filali et al., 2000) y al plomo (Ramírez, 2001).

Las bacterias aisladas en la presente investigación fueron poco resistentes al mercurio, según Huddleston et al. (2006), esta propiedad se debe a la presencia de plásmidos conjugativos, siendo útiles para la transferencia horizontal de resistencia al mercurio entre especies bacterianas (Paul et al., 1991) de la misma especie y entre otras especies, que conllevaría al incremento de la resistencia en microorganismos potencialmente patógenos a los seres humanos (Ramaiah y De, 2003).

La realización de estudios sobre resistencia bacteriana a los metales pesados, tiene el objetivo de que los microorganismos puedan ser aplicados en la remoción o reducción de los metales pesados tóxicos de forma fiable ya que poseen una supervivencia versátil en hábitats extremófilos gracias a las mutaciones y las adaptaciones evolutivas (Yin et al., 2019). Los biotratamientos bacterianos pueden ser aplicados ya que poseen una alta tasa de crecimiento específico, el tiempo de duplicación y la relación del área de superficie a volumen pueden llegar a lograr la biorremediación de muchos contaminantes (Mathivanan et al., 2018). La potencialidad bacteriana radica en que su metabolismo se adapta a cambiar los mecanismos fisiológicos para hacer frente a la toxicidad de los metales pesados (Yin et al., 2019) y su supervivencia en ambientes con metales induce a las células que inicialmente sufren estrés a formas no tóxicas que puedan ser asimilados con facilidad (Mathivanan et al., 2018). Por lo tanto, las bacterias ingresan a un mecanismo de resistencia / adaptación y sus parámetros intrínsecos subyacen para lograr la gestión del impacto (Mathivanan et al., 2021).



Se acepta la hipótesis alterna planteada en el proyecto de investigación, que afirma: “La resistencia de *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno, fue mayor a 1000 mg/l de plomo y mayor a 100 mg/l de mercurio” y en los resultados obtenidos las bacterias aisladas llegaron CMI de 7500 mg/l y CMB de 7700 mg/l de plomo, mientras tanto que frente al mercurio se obtuvo una CMI y CMB de 500 mg/l.

Posterior al análisis y la interpretación de los resultados obtenidos en la presente investigación, se afirma que los microorganismos como *Escherichia coli* aislados de aguas residuales, poseen resistencia a altas concentraciones de plomo y bajas concentraciones de mercurio, lo que indica que dichas bacterias podrían estar en contacto con los contaminantes metálicos antes mencionados, y que, al estar sometidos, los microorganismos generaron mecanismos genéticos, estructurales y fisiológicos intracelulares, capaces de neutralizar los efectos tóxicos.



## V. CONCLUSIONES

- *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno, presentaron con mayor frecuencia respuesta intermedia (46.67 %) y resistente (33.33 %) a cloranfenicol, resistente (40.00 %) y sensible (33.33 %) a trimetoprim – sulfametoxazol, resistente (60.00 %) e intermedia (26.67 %) a ampicilina, sensible (73.33 %) e intermedia (20.00 %) a ceftriaxona y sensible (93.33 %) e intermedia (6.67 %) a gentamicina, presentando diferencia estadística de la sensibilidad frente a los antibióticos evaluados ( $X^2=67.42$ ;  $gl=8$ ;  $p<0.0001$ ).
- *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales del centro poblado Alto Puno, presentaron mayor resistencia a plomo con valores promedios de una CMI de 6975 mg/l y una CMB de 7225 mg/l, y una resistencia menor frente al mercurio con promedios de CMI y CMB ambos con 316.67 mg/l.



## VI. RECOMENDACIONES

- A los egresados e investigadores universitarios, realizar estudios de cuantificación de residuos de antibióticos en aguas residuales del centro poblado Alto Puno para correlacionarlos con la resistencia a los antibióticos en *Escherichia coli*.
- A las autoridades del ámbito en Salud Pública, realizar estudios de resistencia a metales pesado en *Escherichia coli* aisladas de aguas residuales de un establecimiento de salud (hospital) y de efluentes mineros.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, R. y Severiche, C. (2013). Identificación de bacterias resistentes a di – bromo – mercurio aisladas de sedimentos en playas de Cartagena de Indias, caribe colombiano. Rev. AVANCES Investigación en Ingeniería. Vol. 10(2): 73-79.  
<file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/portalderevistas,+07-Identificacion+de+bacterias+resistentes+a+dibromomercurio.pdf>.
- Aguilar, E., Ramírez, M., Riveros, H. y Cervantes C. (2010). Heavy metal resistance in *Pseudomonas*. *Pseudomonas*. Vol. 6: 255-282.
- Akar, T., Tosum, I., Kaynak, Z., Kavas, E., Incirkus, G. y Akar, S. (2009). Assessment of the biosorption characteristics of a macro-fungus for the decolorization of Acid Red 44 (AR44) dye, J. Hazard. Mater. Vol. 171(1-3): 865-871.
- Araoz, A. (2018). Evaluación de la resistencia de *Escherichia coli* al cloruro de mercurio en la bahía interior de Puno. Tesis de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 70 p.  
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/7958>.
- Avelar, F. (2023). Estudio de la resistencia y capacidad de remoción de metales y metaloides en bacterias aisladas de suelos contaminados por la actividad minera en el municipio de Concepción del Oro en el estado de Zacatecas. Tesis de Maestría en Biotecnología Vegetal o Toxicología, Universidad Autónoma de Aguas Calientes. México. 75 p.  
<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/2838/467487.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Baker, C., Wright, M., Stepanauskas, R., arthur, J. (2006). Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends Microbiol.* 1, 176-182.
- Barkay, T., Miller, S. y Summers A. (2003). Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiol Reviews.* Vol. 27: 355-384.  
[https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00046-9](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00046-9)



- Barrantes, K., Chacón, L. y Arias, M. (2022). El impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. *Rev. Población y Salud en Mesoamérica*. Vol. 19 (2). Doi: [10.15517/psm.v0i19.47590](https://doi.org/10.15517/psm.v0i19.47590).
- Beltrán, M. y Gómez, A. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Facultad de Ciencias Básicas*. Vol. 12 (2).
- Cabrera, L., Díaz L., Fernández T. y Bravo L. (2007). Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos bacterianos causantes de infecciones comunitarias. *Rev Cubana Med Gen Integr.* Vol. 23(1). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252007000100003&Ing=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252007000100003&Ing=es)
- Cabrera, R. (2008). Epidemiología y caracterización molecular de los mecanismos de resistencia a diversos agentes antimicrobianos en aislamientos clínicos de *Salmonella* spp. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universitat de Barcelona. España. 130 p. [https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/2422/RCO\\_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/2422/RCO_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- Calisto, N., Gómez C. y Muñoz P. (2018). Resistencia a antibióticos en bacterias colectadas en agua de mar en las proximidades de bases antárticas. *Anales Instituto Patagonia (Chile)*. Vol. 46 (3): 29-39. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ainpat/v46n3/0718-686X-ainpat-46-03-00029.pdf>
- Camacho, S. (2014). *Ensayos microbiológicos*. Editorial Síntesis S. A. Madrid – España.
- Campuzano S., Mejía D., Madero C. y Pabón P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D. C. *Revista NOVA*. Vol. 13 (23): 81 – 92.
- Canet, J. (2016). *Escherichia coli*: características, patogenicidad y prevención. España: Betelgeux Christeyns Food Hygiene.
- Cantón, R. y Gómez, E. (2017). Impacto económico de los métodos de diagnóstico rápido en Microbiología Clínica: precio de la prueba o impacto clínico global. *Enferm*



- Infec Microbiol Clin. Vol. 35(10): 8 p. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedadesinfecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-impacto-economico-metodos-diagnostico-rapido-S0213005X17302379>.
- Cardonha, M., Vieira, R., Peirano, G. et al. (2005). Resistance to antibiotics and heavy metals from *Escherichia coli* isolated from sea water and pluvial galleries. Acta Cir Bras. Vol. 20 (Suppl. 1): 253-256.
- Centurión, D., Espinosa, J., Mayo, A., Frías, A. y Velásquez, R. (2013). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos hexánicos de las inflorescencias de palmas comestibles de la sierra de Tabasco, México.
- Cervantes, C., Espino, E., Aguilar, A., León, L. y Rivera, E. (2006). Interacciones microbianas con metales pesados. Revista Latinoamericana de Microbiología. Vol. 48 (2): 203-210.
- Coila, G. (2017). Resistencia a antibióticos y a metales pesados en bacterias coliformes aislados de la laguna de oxidación espinar de la ciudad de Puno. Tesis de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 71 p. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3999>
- Correa, M., Velásquez, J. y Quintana, G. (2012). Uncommon Crop Residues as Ni (II) and Cd (II) Biosorbents. Ind. Eng. Chem. Res. Vol. 51.
- Cortacans, J. et al. (2014). Presencia de fármacos en aguas residuales y eficacia de los procesos convencionales en su eliminación. Catedra de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Universidad Politécnica de Madrid.
- Crites, R. y Tchobanoglous, G. (2000). Tratamiento de Aguas Residuales en Pequeñas Poblaciones. McGraw-Hill Interamericana. 776 p.
- Chávez, N., Jáuregui, J., Araiza, J. y Montañez, A. (2022). Detección de antibióticos aminoglucósidos en plantas de tratamiento de aguas residuales mediante Dot blot. Edgar Serna (Ed.) Ciencia Transdisciplinar en la Nueva Era. Editorial Instituto Antioqueño de Investigación. Colombia 757 p. [https://www.researchgate.net/profile/Felipe-Romero-Perdomo/publication/366158161\\_Contribucion\\_de\\_la\\_Economia\\_Circular\\_a\\_los](https://www.researchgate.net/profile/Felipe-Romero-Perdomo/publication/366158161_Contribucion_de_la_Economia_Circular_a_los)



[Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Agenda 2030/links/6393aafae42faa7e75ad25d9/Contribucion-de-la-Economia-Circular-a-los-Objetivos-de-Desarrollo-Sostenible-de-la-Agenda-2030.pdf#page=220](https://repositorio.unap.edu.pe/objetivos-de-desarrollo-sostenible-de-la-agenda-2030/links/6393aafae42faa7e75ad25d9/Contribucion-de-la-Economia-Circular-a-los-Objetivos-de-Desarrollo-Sostenible-de-la-Agenda-2030.pdf#page=220).

- Chávez, N. et al. (2012). A highly sensitive sandwich ELISA for the determination of glycomacropeptide to detect liquid whey in raw milk, Dairy Science and Technology. Vol. 92: 121–132
- Chigor, V., Umoh, V., Okuofu, C., Ameh, J., Igbinsosa, E. y Okoh, A. (2012). Water quality assessment: surface water sources used for drinking and irrigation in Zaria, Nigeria are a public health hazard. Environ Monit Assess. Vol. 184(5):3389-3400.
- Desomer, J., Vereecke, D., Crespi, M. y Van Montagu, M. (1992). The plasmid-encoded chloramphenicol-resistance protein of *Rhodococcus fascians* is homologous to the transmembrane tetracycline efflux proteins. Molecular Microbiology. Vol. 6 (16): 2377-2385.
- Dittrich, W., Betzler, M. y Schrempf, H. (1991). An amplifiable and deletable chloramphenicol – resistance determinant of *Streptomyces lividans* 1326 encodes a putative transmembrane protein. Molecular Microbiology. Vol. 5 (11): 2789-2797.
- Elizalde, A. et al. (2016). Amoxicillin in the Aquatic Environment, Its Fate and Environmental Risk. InTech.
- Escalante, D., Montalvo, K., Álvarez, L., Surco, R., Palomino, J., Calle, S. y Siuce, J. (2022). Detección de genes de resistencia antimicrobiana en aislados de *Escherichia coli* de cerdos de producción con cuadros diarreicos. Rev. Inv. Vet. Perú. Vol. 33(5): 1- 9. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i5.23795>.
- Eslava, C., Mateo, J. y Cravioto, A. (1994). Cepas de *Escherichia coli* relacionadas con la diarrea. En: diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales.
- Fernández, D., Quiróz, M. y Cuevas, O. (2021). Los antibióticos y su impacto en la sociedad. Rev. Medisur. Vol. 19(3). <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/4898>.



- Ferreira da Silva, M., Vaz, I., González, M., et al. (2007). Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant. *FEMS Microbiology Ecology*. Vol. 60(1): 166-176. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00268.x>.
- Filali, B., Taoufik, J., Zeroual, Y., Dzairi, F., Talbi, M. y Blaghen, M. (2000). Waste water bacterial isolates resistant to heavy metals and antibiotics. *Cur Microbiol*. Vol. 41: 151-156.
- Fonseca, M. y Galeano G. (2013). Fenotipificación bioquímica y susceptibilidad antibacteriana en *Enterococcus* spp aislados de aguas residuales de León Junio – Septiembre 2012. Tesis de Licenciatura en Bioanálisis Clínico. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León – Nicaragua. 47 p.  
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6095/1/223325.pdf>
- Forbes, B., Sahm, D. y Weissfeld, A. (2009). Bailey & Scott; diagnóstico microbiológico. 12ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires – Argentina. 1026 p.
- García, I. (2012). La contaminación de las aguas residuales con antibióticos puede aumentar la resistencia de las bacterias al mismo. <http://www.dicyt.com/noticias/investigadores-leoneses-analizan-la-presenciade-antibioticos-en-las-aguas-residuales>.
- García, A., García, E., Hernández, A., Ruiz, J., Yagüe, G., Herrero, J. y Gómez, J. (2011). Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev Esp Quimioter*. 24 (2), p 57 – 66.
- García, V., Yipmantin, A., Guzmán, E., Pumachagua R. y Maldonado, H. (2011b). Estudio de la cinética de biosorción de iones plomo en pectina reticulada proveniente de cáscaras de cítricos. *Rev. la Soc. Química del Perú*. Vol. 77(3): 173-181.
- Gerba, C. (2009). Indicator Microorganisms. *Environmental Microbiology*. 2nd Ed. Academic Press, San Diego, CA. 485-499.



- Gómez, V., Velásquez, J. y Quintana G. (2013). Lignina como adsorbente de metales pesados: Revisión del estado del arte. *Rev. Investig. Apl.* Vol. 7(2):74-85.
- Hassan, W., Umar, R., Lawal, M., Bilbis, S., Muhammad, B. y Dabai Y. (2006). Evaluation of antibacterial activity and phytochemical analysis of root extracts of *Boscia angustifolia*. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 5 (18): 1602-1607.
- He, J., Magarvey, N., Pirae, M. y Vining, C. (2001). The gene cluster for chloramphenicol biosynthesis in *Streptomyces venezuelae* ISP5230 includes novel shikimate pathway homologues and a monomodular nonribosomal peptide synthetase gene. *Microbiology*. Vol. 147 (10): 2817–2829.
- Hernández, R., Fernández C. y Baptista M. (2014). Metodología de la investigación. Sexta edición. Editorial Mc Graw Hill. México. 600 p.
- Herrera, H. y Marco, L. (2004). Interpretación de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. *Rev. Méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica)*. 2004, vol.39.
- Herrero U., Palacios F., Laya H. y Vega A. (1999). Ausencia de detección de enterovirus en bivalvos *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Arcidae) por contaminación química en el Pacífico de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* Vol. 47 (3): 419-27.
- Horna, G., Silva, D., Taboada, W. y Tamariz, O. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Médica Herediana*. Vol. 16 (1): 39- 44.
- Huang, S. y Stafford R. (2002). National patterns in the treatment of urinary tract infections in women by ambulatory care physicians. *Arch Intern Med*. 2002. Vol. 162(1):41-47. [Doi: 10.1001/archinte.162.1.41](https://doi.org/10.1001/archinte.162.1.41).
- Huddleston, J., Zak, J. y Jeter, R. (2006). Antimicrobial susceptibilities of *Aeromonas* spp. isolated from environmental sources. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 72 (11): 7036-7042. <https://doi.org/10.1128/AEM.00774-06>
- Huovinen, P. (2001). Resistance to trimethoprim – sulphamethoxazole. *Clin. Infect. Dis.* Vol. 32: 1608 – 1614.



- Hynninen, A., Touzé, T., Pitkanen, L., Mengin; D. y Virta, M. (2009). An efflux transporter PbrA and a phosphatase PbrB cooperate in a lead – resistance mechanism in bacteria. *Molecular Microbiology*. Vol. 74: 384-394.
- Ingerson, M. y Reid, A. (2011). *E. coli: Good, Bad, & Deadly*. American Academy of Microbiology. 1-14.
- INS, Instituto Nacional de Salud. (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana pro el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas No. 30. Lima – Perú. 67 p.
- INSP, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca - México. (1994). Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana. *Rev. Salud Pública de México*. Vol. 36 (4): 428 – 438. <https://www.redalyc.org/pdf/106/10636410.pdf>.
- Izard, T. (2001). Structural basis for chloramphenicol tolerance in *Streptomyces venezuelae* by chloramphenicol phosphotransferase activity. *Protein Science*. Vol. 10 (8): 1508-1513.
- Jacoby, A. y Archere, L. (1991). New mechanism of bacterial resistance to antimicrobial agents. *NEJM*, 324, 601-612
- Jorgensen, J., Turnidge, H. y Washington, J. (1999). Antibacterial Susceptibility Test: Dilution and disk diffusion methods. In: *Manual of Clinical Microbiology* Editor in chief: Patrick Murray editors: Ellen J. Baron et al. 7th ed. American Society for Microbiology Washington D.C.
- Levinson, H. y Mahler, I. (1998). Phosphatase activity and lead resistance in *Citrobacter freundii* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*. Vol. 161: 135-138.
- Levy, B. (1992). Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol. 36 (4): 695-703.
- Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. (1997). *Brock Biología de los Microorganismos*. Printice Hall Iberia. Madrid – España. 1064 p.



- Malavet, Th. (2020). Caracterización de resistencia a metales pesados (mercurio y cobre) en aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) provenientes de hospitales en Colombia y Ecuador. Tesis de Médico Cirujano. Facultad de Medicina, Universidad El Bosque. Bogotá – Colombia. 60 p. [https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/6401/Malavet\\_Luna\\_Thomas\\_Alejandro\\_2021.pdf?sequence=1](https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/6401/Malavet_Luna_Thomas_Alejandro_2021.pdf?sequence=1).
- Marrero, J., Auling, G., Coto, O. y Nies, H. (2007). High-level resistance to cobalt and nickel but probably no transenvelope efflux: metal resistance in the Cuban *Serratia marcescens* strain C-1. *Microb Ecol.* Vol. 53: 123-133.
- Marrero, J., Díaz, A. y Coto, O. (2010). Mecanismos moleculares de resistencia a metales 67 pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la birremediación. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas.* Vol. 41 (1). 68-78.
- Martínez, A., Cruz M., Veranes O., Carballo M., Salgado I., Olivares S. et al. (2010). Resistencia a antibióticos y a metales pesados en bacterias aisladas del río Almendares. *Rev. CENIC, Ciencias Biológicas.* Vol. 41: 1-10. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220509038.pdf>
- Martínez, A., Fonseca, K., Ortega, J. y García, C. (2009). Monitoreo de la calidad microbiológica del agua en la cuenca hidrológica del río Nazas, México. *Rev. Química Viva.* Vol. 8(1):35-47.
- Martínez, L. (2010). Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Vol. 28 Supl 4: 6 p. <http://www.elsevier.es/sites/default/files/elsevier/pdf/28/28v28nSupl.4a13187226pdf001.pdf>.
- Martínez, R. y Villalobos L. (2008). Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* aisladas de alimentos y aguas residuales en Cumaná, Venezuela. *Saber, Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente.* Vol. 20 (2): 172-176. <https://www.redalyc.org/pdf/4277/427739434007.pdf>



- Mathivanan, K., Rajaram, R. y Annadurai, G. (2018). Biosorption potential of *Lysinibacillus fusiformis* KMNTT-10 biomass in removing lead (II) from aqueous solutions. *Sep. Sci. Technol.* Vol. 53: 1991-2003.
- Mathivanan, K., Uthaya, J., Vinothkanna, A., Yin, H., Liu, X. y Meng D. (2021). Bacterial adaptive strategies to cope with metal toxicity in the contaminated environment – A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 226: 1 – 12. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112863>.
- Mendoza, D. y Moreno, R. (2005). Cd<sup>2+</sup> transport and storage in the chloroplast of *Euglena gracilis*. *BBA Bioenergetics*. 88-97
- Meng, L., Xiaohui, C. y Hongxian, G. (2013). Heavy metal removal by biomineralization of urease producing bacteria isolated from soil. *Int Biodeterior Biodegrad.* Vol.76: 81-85.
- Millanao, R., Barrientos, C., Siegel, C., Tomova, A., Ivanova, L., Godfrey, H., et al. (2018). Resistencia a los antimicrobianos en Chile y el paradigma de Una Salud: manejando los riesgos para la salud pública humana y animal resultante del uso de antimicrobianos en la acuicultura del salmón y en medicina. *Rev. Chilena Infectol.* Vol. 35 (3): 299-303.
- Molina, J. y Orozco J. (2019). Detección de resistencia antimicrobiana en bacterias de interés clínico aisladas en el Río Chambo. Noviembre 2018 – enero 2019. Tesis de Licenciado en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. 51 p. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5557>
- Moraga, R., Merino C. y Mondaca M. (2003). Resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de la bahía de Iquique. *Nota Científica. Rev. Investigaciones Marinas.* Valparaíso. Vol. 31 (1): 91 – 95.
- Mosquito, S., Ruíz J., Bauer J. y Ochoa T. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev. Peru Med Salud Publica.* Vol. 28(4): 648-656.



[https://www.scielo.org/article/ssm/content/raw/?resource\\_ssm\\_path=/media/assets/rpmesp/v28n4/a13v28n4.pdf](https://www.scielo.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/rpmesp/v28n4/a13v28n4.pdf).

- Mushi, D., Byamukama, D., Kirschner, A., Mach, R., Brunner, K. y Farnleitner, A. (2012). Sanitary inspection of wells using risk-of-contamination scoring indicates a high predictive ability for bacterial faecal pollution in the peri-urban tropical lowlands of Dar es Salaam, Tanzania. *J. Water Health*. Vol. 10 (2):236–243.
- Myrvik, Q. y Weiser R. (1999). *Bacteriología y Micología Médicas*. Segunda edición. Editorial Interamericana McGraw – Hill. México. 713 p.
- Nagy, I., Schoofs G., Vanderleyden J. y De Mot R. (1997). Transposition of the IS21-related element IS1415 in *Rhodococcus erythropolis*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 179 (14): 4635-4638.
- Navarro, P. (2021). Estudio de la presencia de antibióticos y genes de resistencia en las aguas residuales y el papel de las depuradoras en su posible eliminación. Trabajo de grado en Farmacia. Universitas Miguel Hernández. España. 44 p.
- Novo, A., André, S, Viana, P., Nunes, O. y Manaia, C. (2013). Antibiotic resistance, antimicrobial residue and bacterial community composition in urban wastewater. *Water Res*. Vol. 47: 1875-1887. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.010>
- Núñez, L., Tornello C., Puentes N. y Moretton J. (2012). Bacterias resistentes a antibióticos en aguas grises como agentes de riesgo sanitario. *Revista Ambiente & Agua*. Vol. 7 (1): 235-243. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.638>.
- Núñez, N. y Moretton J. (2006). Perfil microbiológico y resistencia bacterias a desinfectantes en aguas residuales de hospital. *Rev. Higiene y Sanidad Ambiental*. Vol. 6: 197-201. [https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/bc51015a6507a2e\\_Hig.Sanid\\_Ambient.6.197-201\(2006\).pdf](https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/bc51015a6507a2e_Hig.Sanid_Ambient.6.197-201(2006).pdf)
- Ochoa, K., Paredes L., Bejarano D. y Silva R. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Rev. Scientia Agropecuaria*. UNT. Trujillo – Perú. Vol. 3: 291 – 302.



- Paciel, D., Seija, V., Prieto, J., Vignoli, R., Medina, J. y Savio, E. (2011). Enterobacterias productoras de KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemasa*). Rev. Tendencias. (In press).
- Paniagua, C., Monroy, E., Vaca, S. y González, E. (2003). Resistencia a antibióticos y metales pesados en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. Revista Médica del Hospital General de México. Vol. 66 (1): 13 – 21.
- Patrick, R., Rosenthal K. y Pfaller M. (2009). Metabolismo y genética de las bacterias. Microbiología Médica. 6ta Ed. Elsevier – España. 23-38.
- Paul, J., Frischer, M. y Thurmond, J. (1991). Gene transfer in marine water column and sediment microcosms by natural plasmid transformation. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 57 (5): 1509-1515.
- Peñalva, G. (2020). Impacto clínico y ecológico de un Programa de Optimización del Tratamiento Antimicrobiano (PROA) específico para atención primaria. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina. Universidad de Sevilla. <https://idus.us.es/handle/11441/100149>.
- Pérez, C. (2019). Relación clonal, diseminación y esparcimiento de aislados de *Escherichia coli* antibiótico resistentes provenientes de aguas residuales, aguas superficiales e infantes <1 año del municipio de León. Tesis de Máster en Microbiología Médica. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León – Nicaragua. 68 p. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/7608/1/244191.pdf>
- Picazo, J. (2000). Procedimientos en microbiología clínica. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Disponible en: [http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos\\_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf](http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf). Fecha de revisión: 30 de julio del 2016.
- Pinzón, M. y Cardona, A. (2010). Influencia del pH en la bioadsorción de Cr(III) sobre cáscara de naranja: Determinación de las condiciones de operación en proceso discontinuo. Rev. la Fac. Ciencias Básicas. Vol. 8(1): 21-30.



- Poiată, A., Bădicuț, I., Indreș, M., et al. (2000). Mercury resistance among clinical isolates of *Escherichia coli*. Roumanian Archives of Microbiology and Immunology. Vol. 59(1-2): 71-79.
- Poole, K. (2005). Efflux – mediated antimicrobial resistance. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol. 56 (1): 20-51.
- Quispe, E., Guevara V. y Pauro J. (2017). Resistencia *in vitro* al plomo y mercurio por la comunidad bacteriana de las aguas del río Ramis – Puno, Perú. Rev. de Investigaciones de la Escuela de Posgrado. UNA – Puno. Vol. 6 (3): 202-212. <http://revistas.unap.edu.pe/epg/index.php/investigaciones/article/view/109/96>.
- Ramaiah, N. y De, J. (2003). Inusual rise in mercury-resistant bacteria in coastal environs. Microbial Ecology. Vol. 45 (4): 444-454. <https://doi.org/10.1007/s00248-001-1068-7>
- Ramírez, C. (2001). Fenotipos de Resistencia a antibióticos y metales pesados en un grupo de cepas clínicas. Tesis de Licenciatura. México: FES-Iztacala, UNAM.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M. y González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. Revista Ingeniería Investigación y Desarrollo. Vol. 16 (2): 66-77. [doi.org/10.19053/1900771X.v16.n2.2016.5447](https://doi.org/10.19053/1900771X.v16.n2.2016.5447)
- Roberts, K. y Thomas, V. (2006). The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. Science of The Total Environment. Vol. 356: 143–153
- Roane, T. (1999). Lead resistance in two bacterial isolates from heavy metal – contaminated soils. Microbial Ecology. Vol. 37: 218-224.
- Rock, C., y Rivera, B. (2014). La calidad del agua, *E. Coli* y su salud. College of Agriculture and life Sciences, 1.
- Rodríguez, D. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. Rev. MEDISAN. Vol. 21(12): 3372-3385. <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v21n12/san122112.pdf>.



- Romero, E. (2020). Características de la resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* productora de  $\beta$  – lactamasas de espectro extendido (BLEE) aislada de aguas residuales descargadas en el río Chimbo del cantón San Miguel – provincia Bolívar – Ecuador. Tesis de Licenciado en Ciencias Biológicas y Ambientales. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Central del Ecuador. Quito – Ecuador. 43 p. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/22406>
- Romero, J. (2000). Tratamiento de aguas residuales, teoría y principios de diseño. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. Bogotá – Colombia. 1232 p.
- Rosenfeld, P. y Feng, L. (2011). 16 - Emerging Contaminants, Risks of Hazardous Wastes. William Andrew Publishing
- Rueda, C., Aikawa M., Prada L., Franco M., Martínez M. y Padilla G. (2009). Evaluación de la presencia del gen mer A implicado en la detoxificación de mercurio a partir de actinomicetos nativos del humedal de La Conejera. Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. XI (2): 105-113. <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v11n2/v11n2a11.pdf>.
- Sánchez, P., Muñoz, R. y Gutiérrez, N. (2012). Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. Revista Spei Domus. Vol. 8 (17): 31 – 37.
- Schaefer, J., Letowski J. y Barkay T. (2002). mer-Mediated resistance and volatilization of Hg (II) under anaerobic conditions. Geomicrobiol J. Vol. 19: 87–102. <https://doi.org/10.1080/014904502317246192>
- Schelert, J., Dixit V., Hoang V., Simbahan J., Drozda M. y Blum P. (2004). Occurrence and characterization of mercury resistance in the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* by use of gene disruption. J. Bacterial. Vol. 186 (2): 427–437. [doi: 10.1128/JB.186.2.427-437.2004](https://doi.org/10.1128/JB.186.2.427-437.2004)
- Silver, S. y Hobman, J. (2007). Mercury microbiology: resistance systems, environmental aspects, methylation, and human health. Molecular Microbiology of Heavy Metals. Vol. 6: 357 - 370.
- Sinhal, K., Srivastava, A. y Singh, V. (2010). EDTA and citric acid mediated phytoextraction of Zn, Cu, Pb and Cd through marigold (*Tagetes erecta*). J. Environ. Biol. Vol. 31: 255-259.



- Sueiro, F. (2012). Caracterización de la resistencia a metales pesados y búsqueda de integrones en cepas de *Delftia* sp. Tesina de Licenciatura en Bioquímica. Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Uruguay. 54 p. [file:///C:/Users/JUAN%20JOSE/Desktop/uy24-15835\\_unlocked.pdf](file:///C:/Users/JUAN%20JOSE/Desktop/uy24-15835_unlocked.pdf).
- Sulca, M. y Alvarado D. (2018). Asociación de la resistencia al mercurio con la resistencia a antibióticos en *Escherichia coli* aislados del litoral de Lima, Perú. Revista Peruana de Biología. Vol. 25 (4): 445-452. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v25n4/a06v25n4.pdf>.
- Tanner, A. y Stillman, N. (1993). Oral and dental infections with anaerobic bacteria: clinical features, predominant pathogens and treatment. Clin Infect Dis. Vol. 16: 304 [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=2871046&pid=S1698-6946200600010001600006&lng=es](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=2871046&pid=S1698-6946200600010001600006&lng=es)
- Toribio, S., Oriani, D. y Skliar, M. (2004). Actividad antimicrobiana de *Centaurea calcitrapa*. Ars Pharmaceutica. Vol. 45 (4): 335-341.
- Tzoc, E., Arias M. y Valiente C. (2004). Efecto de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas* sp. Rev. Biomed. Vol. 15: 165-172. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2004/bio043d.pdf>.
- UNEP, United Nations Environment Programme. (2013). Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport. Switzerland: UNEP Chemicals Branch.
- Van Hoek, A., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A. y Aarts, H. (2011). Acquired antibiotic resistance genes: an overview. Front Microbiol. Vol. 2: 203
- Vasquez, G. y Valdez, E. (2003). Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales. México.
- Verma, S. y Kuila, A. (2019). Bioremediation of heavy metals by microbial process. Environmental Technology & Innovation.



WHO. (2003). Chromium in drinking-water. Geneva, Switzerland.

Yin, K., Wang, Q., Lv y Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. Chem. Eng. J. Vol. 360: 1553-1563.

Zykov, I., Sundsfjord A. y Småbrekke L. (2016). The antimicrobial activity of mecillinam, nitrofurantoin, temocillin and fosfomicin and comparative analysis of resistance patterns in a nationwide collection of ESBL-producing *Escherichia coli* in Norway 2010-2011. Infect Dis (Lond). Vol. 48(2):99-107.

## ANEXOS

### Figura 5

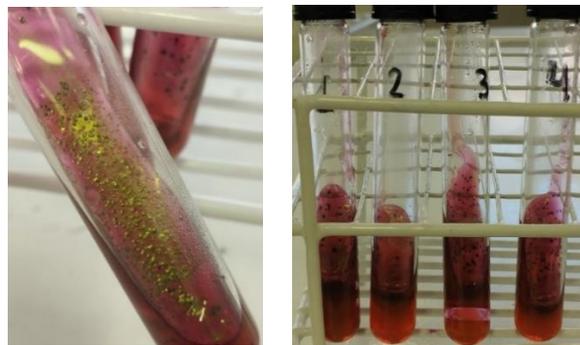
*Recolección de muestras de la planta de tratamientos de aguas residuales del centro poblado Alto Puno.*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 6

*Crecimiento de Escherichia coli in vitro en agar Eosin Metil Blue (EMB).*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 7

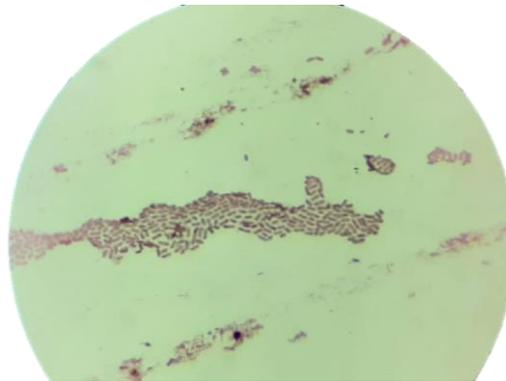
*Tinción Gram de Escherichia coli.*



Fuente: Elaboración propia.

### Figura 8

*Observación de Escherichia coli al microscopio óptico compuesto (100X).*



Fuente: Elaboración propia.

### Figura 9

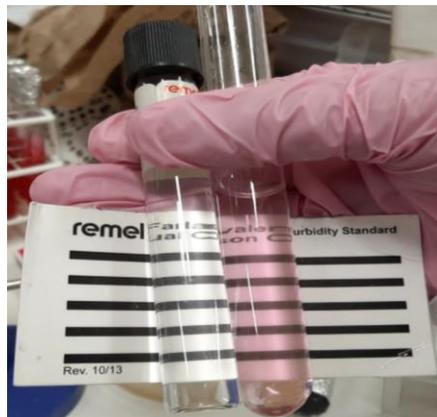
*Pruebas bioquímicas de TSI, LIA, CS, Urea e indol para la identificación de Escherichia coli.*



Fuente: Elaboración propia.

### Figura 10

*Estandarización y comparación de Escherichia coli en el estándar 0.5 McFarland.*



Fuente: Elaboración propia.

### Figura 11

*Inoculación de Escherichia coli en placas de Petri con agar Muller Hinton.*



Fuente: Elaboración propia.

### Figura 12

*Distribución de antibióticos: cloranfenicol, trimetoprim – sulfametoxazol, ampicilina, ceftriaxona y gentamicina.*



Fuente: Elaboración propia.

### Figura 13

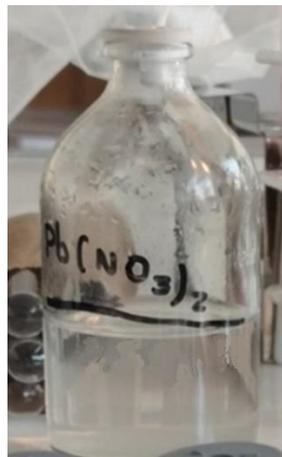
*Halos de inhibición generados por los antibióticos cloranfenicol, trimetropim – sulfametoxazol, ampicilina, ceftriaxona y gentamicina sobre Escherichia coli.*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 14

*Preparación de la solución concentrada de plomo a partir de  $Pb(NO_3)_2$ .*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 15

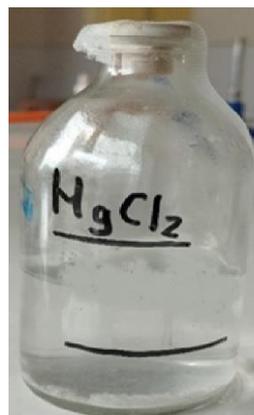
*Soluciones de plomo en concentraciones de 6000, 6300, 6500, 6900, 7000, 7300, 7500 y 7700 mg/l.*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 16

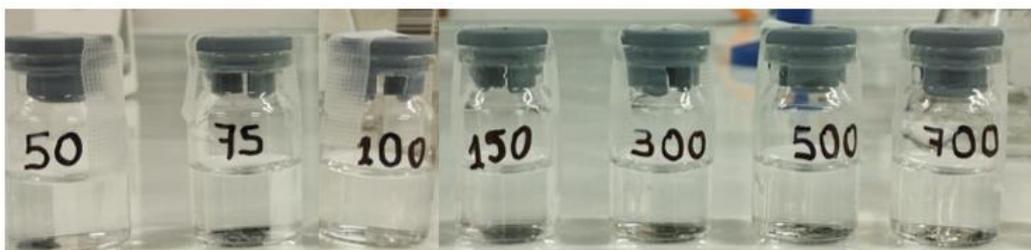
*Preparación de la solución concentrada de mercurio a partir de  $HgCl_2$ .*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 17

*Soluciones de mercurio en concentraciones de 50, 75, 100, 150, 300, 500 y 700 mg/l.*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 18

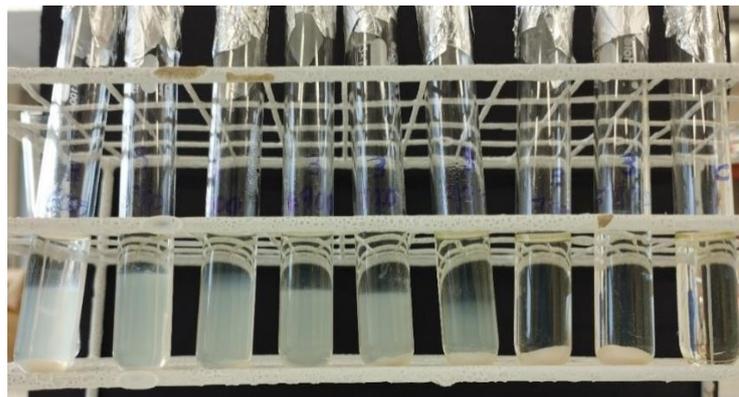
*Trasferencia de soluciones con metales pesados en diferentes concentraciones, distribuidas en tubos con caldo infusión cerebro corazón y Escherichia coli en concentración 0.5 McFarland.*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 19

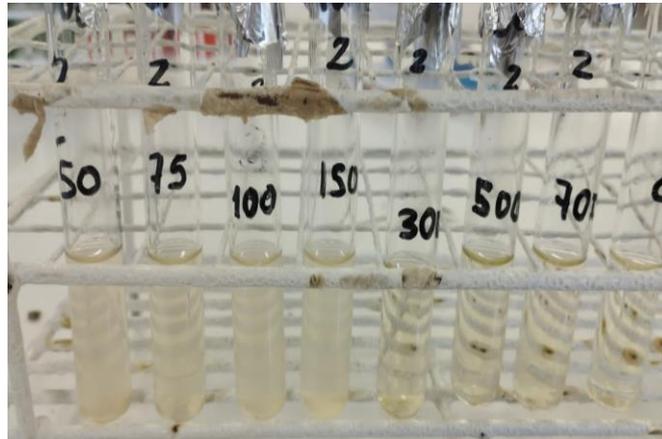
*Determinación de la CMI del plomo en concentraciones crecientes sobre Escherichia coli, mediante la observación de turbidez en caldo infusión cerebro corazón (6000 mg/l a 7300 mg/l).*



**Fuente:** Elaboración propia.

### Figura 20

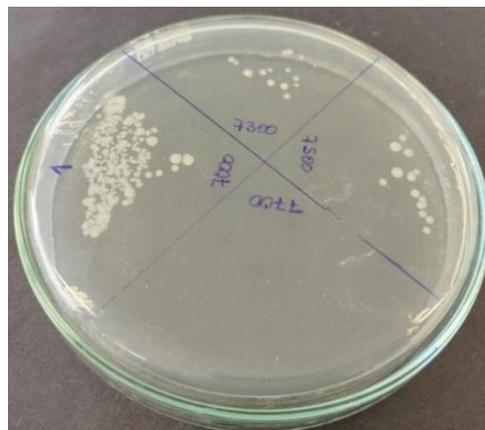
*Determinación de la CMI del mercurio en concentraciones crecientes sobre Escherichia coli, mediante la observación de turbidez en caldo infusión cerebro corazón (50 mg/l a 150 mg/l).*



Fuente: Elaboración propia.

### Figura 21

*Determinación de la CMB del plomo en concentraciones de 7000 a 7700 mg/l, mediante crecimientos de colonias de Escherichia coli en agar Mueller Hinton.*



Fuente: Elaboración propia.

## Figura 22

*Determinación de la CMB del mercurio en concentraciones de 100 a 700 mg/l, mediante crecimientos de colonias de Escherichia coli en agar Mueller Hinton.*



**Fuente:** Elaboración propia.

## Análisis estadístico de datos

### Tabla 6

*Prueba de chi cuadrado de la susceptibilidad antibiótica de Escherichia coli frente a 5 antibióticos.*

ANTIBIÓT	INTER	RESIST	SENS	Total
AMP	8	18	4	30
CEFT	6	2	22	30
CLOR	14	10	6	30
GENT	2	0	28	30
TRIMET	8	12	10	30
Total	38	42	70	150
Estadístico	Valor		gl	p
Chi Cuadrado Pearson	67.42	8		<0.0001
Chi Cuadrado MV-G2	76.10	8		<0.0001
Coef. Conting. Cramer	0.39			

**Fuente:** Infostat (2008).



**Tabla 7**

*Prueba de análisis de varianza de la comparación de la CMI y la CMB de plomo sobre aislamientos de Escherichia coli.*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
VALORES Pb	8	0.12	0.00	5.44

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	125000.00	1	125000.00	0.84	0.3953
PRUEBAS_SUSCEP	125000.00	1	125000.00	0.84	0.3953
Error	895000.00	6	149166.67		
Total	1020000.00	7			

**Test:Bonferroni Alfa=0.05 DMS=668.25025**

PRUEBAS SUSCEP	Medias	n	E.E.
CMB	7225.00	4	193.11 A
CMI	6975.00	4	193.11 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )*

**Fuente:** Infostat (2008).



*Universidad Nacional del Altiplano de Puno*

Facultad de Ciencias Biológicas  
Escuela Profesional de Biología  
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico  
Laboratorio de Botánica y Biotecnología



**Registro: 008-2022**

## **CONSTANCIA**

EL QUE SUSCRIBE, **DOCENTE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE BOTÁNICA Y BIOTECNOLOGÍA** DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO – PERÚ.

### **HACE CONSTAR:**

Que el (la) Bachiller **EVELYN HUANCA GOZME**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado la parte experimental de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA Y A METALES PESADOS EN *Escherichia coli* AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES DEL CENTRO POBLADO ALTO PUNO DE LA CIUDAD DE PUNO**, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología, del Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología, entre los meses de febrero a abril del año 2022.

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 11 de mayo del 2022.

  
Dr. Sc. **JUAN JOSÉ PAURO ROQUE**  
Responsable del Laboratorio de Botánica y Biotecnología  
FCCBB – UNA Puno



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Evelyn Huanca Gozme,  
identificado con DNI 70439776 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

Biología  
informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA Y A METALES PESADOS  
EN Escherichia coli AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES  
DEL CENTRO POBLADO ALTO PUNO DE LA CIUDAD DE PUNO ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 20 de JUNIO del 2024

  
FIRMA (obligatoria)



Huella



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Evelyn Huanca Gozma  
identificado con DNI 70439776 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

BIOLOGIA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:  
"SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA Y A METALES PESADOS  
EN Escherichia coli AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES DEL  
CENTRO POBLADO ALTO PUNO DE LA CIUDAD DE PUNO"

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 20 de JUNIO del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella