



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

UNIDAD DE INVESTIGACION INTERDISCIPLINARIA
EN CIENCIAS DE LA SALUD Y DE LA EDUCACION
(UIICSE)

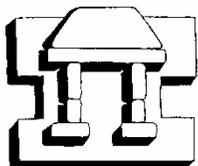
**“AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y RESISTENCIA
A ANTIBIOTICOS DE *ESCHERICHIA COLI* EN UNA
PLANTA DE TRATAMIENTO Y SU DESCARGA AL
LAGO DE XOCHIMILCO”**

T E S I S P R O F E S I O N A L
P A R A O B T E N E R E L T Í T U L O D E
B I Ó L O G A
P R E S E N T A:

ERIKA PALOMA SALAZAR JIMENEZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Pedro Ramírez García.



IZTACALA

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS. Por haberme dado salud, inteligencia y paciencia para llegar al final de esta etapa de mi vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por haberme dado la oportunidad y permitido ser orgullosamente puma y por todos los conocimientos que adquirí siendo parte de esta maravillosa y gran casa de estudios.

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES-I) y a todos y cada uno de los profesores que tuve a lo largo de la carrera de biología, gracias por transmitirme sus experiencias, conocimientos y el amor por ella.

Dr. Pedro Ramírez García. Por su paciencia y orientación en mi trabajo y por haberme dado la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo.

Dr. Carlos Eslava Campos. Gracias por todo el cariño y confianza que deposito en mí gracias por ser mi amigo y siempre extenderme su mano para cuando lo necesite, al igual que una palabra de aliento o aquella para hacerme entrar en razón. Así mismo al Laboratorio de Bacteriología de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Por las facilidades que me proporcionaron en la realización de parte de mi trabajo.

A los miembros del comité tutorial. MC. Elizabeth Ramírez Flores, Biol. Blanca Martínez Rodríguez, Biol. Dolores Hurtado

Dra. Norma Velásquez Guadarrama. Gracias por su colaboración y ayuda para la estandarización de la técnica de PCR Múltiple

conjunto con el Hospital Infantil de México Federico Gómez y el laboratorio de Bacteriología Intestinal y a cada uno del personal que trabaja para dicha institución por haberme orientado y permitido realizar mi trabajo mil gracias.

Dra. Ariadna del Carmen Cruz. Gracias por tu amistad y enseñanzas, paciencia y consejos no solo en cuestiones de mi trabajo sino a nivel personal de verdad gracias amiga te quiero mucho.

Dr. Ulises Hernández Chiñas. Gracias por todos los asesoramientos en mi trabajo paciencia y el cariño que me has demostrado pero sobre todo por su amistad. Eres una gran persona uli te quiero mucho.

A MI MADRE. Gracias por ser una maravillosa mujer, por darme la vida, confianza y las herramientas necesarias para salir adelante y llegar a ser quien soy recuerda te amo con todo mi ser y que eres el motor de mi vida.

A MI PADRE. Gracias papi por darme la vida junto con mi mami, por todo el amor, paciencia y confianza, que depositaste en mi te prometo no decepcionarte te amo.

DEDICATORIA

A MIS PADRES: Leonor y Francisco, por ser los mejores padres que la vida me pudo dar, creo que sin el cariño de ambos no lo hubiese logrado.

A MIS HERMANOS. Claudia, Mariana y Francisco. Gracias por su paciencia, sé que me tarde pero ja que creen lo hice, si pude gracias por todos y cada uno de sus comentarios los amo por ser parte de mi, gracias por todo.

A MI ABUELA. (Luchita) Gracias por haberme cuidado por tanto tiempo, por todo lo que me has enseñado y por todo tu cariño y bendiciones.

A MIS SOBRINOS. Fernanda y Mauricio les doy las gracias por el simple hecho de haber llagado a nuestras vidas y por cada beso y abrazo y que realmente no contribuyeron a nada pero gracias los amo muchísimo.

A MIS AMIGOS. Luis, Idania (Manigüis), Soraya, Quique, Cesar, José, Mago, Keyla (las gusanas), Lula, Wendy, Alberto, Hugo (Muñe), Horacio, Ulises, Raúl (mini), Alma, Ariadnna, Alex, Ale, Pável, Israel, Raúl (pinky) Marielena, Josefina y Luis Candía por cada momento inolvidable que viví a lado de cada uno de ustedes tristezas, risas, fiestas, practicas, etc.

A mis queridas alumnillas y nuevas amigas Bety,(cubanita) Liliana (china), Liliana (juanita) y cada uno de mis alumnillos.

A la familia Cárdenas Martínez (Sra. Mary, Sr. Luis, Lupita, Alejandro, Luis, Alinne y tu Mami (Carmen)) por todo el cariño que me han dado a lo largo de todo este tiempo, muchas gracias.

A TI LUIS. Por todo ese tiempo maravilloso que pase a tu lado y por creer en mí, por toda la confianza que nos hemos tenido a lo largo del tiempo que siempre has procurado estar a mi lado sobre todo en los momentos más difíciles de mi vida, así como los mejores de mi vida recuerda que siempre serás mi mejor amigo y que te quiero mucho.

A Lourdes Guadalupe Estrada. Por haber abierto su corazón u sus brazos para cada día recibirme con un beso y una gran sonrisa, por darme la oportunidad de conocerla mil gracias lula, te quiero mucho.

A Rous y Norma que junto con Lula me abrieron las puertas de su casa y me permitieron formar parte de su gran familia en verdad muchas gracias por todo ese cariño, mis tías, las quiero mucho.

A cada una de las personas que hicieron posible que de una u otra manera llegara al final de una etapa más en mi vida.

Índice General.	
Resumen.	1
Introducción.	3
Tratamiento de Aguas Residuales.	4
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC).	6
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (EIEC).	7
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigenica (ETEC).	8
<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (EHEC).	8
<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (EAEC).	9
<i>Escherichia coli</i> Adherencia Difusa (DAEC).	10
Antecedentes.	11
Justificación.	15
Objetivos.	16
Objetivo General.	
Objetivos Particulares.	
Área de estudio.	17
Material y Métodos.	22
Parámetros Ambientales.	22
Conteo de Coliformes Totales y Fecales.	22
Aislamiento e Identificación de <i>E coli</i> .	23
Identificación Automatizada VITEK.	24
Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos.	26
Extracción de DNA Genómico de <i>E coli</i> por Ebullición.	26
Identificación de Genes de Virulencia por PCR.	28
Resultados.	31
Parámetros Ambientales.	31

Conteo de Coliformes Totales y Fecales. _____	33
Aislamiento e Identificación de <i>E coli</i> . _____	38
Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos. _____	39
Identificación de Genes de Virulencia. _____	42
Discusión. _____	44
Conclusión. _____	57
Anexo I. _____	59
Anexo II. _____	67
Bibliografía. _____	70

Índice de Cuadros y Figuras.

Fig. 1.- Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.	18
Fig. 2.- Estación 1 Influyente de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.	19
Fig. 3.- Estación 2 Tanque de Lodos Activados de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.	19
Fig. 4.- Estación 3 Tanque de Sedimentación Secundaria de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.	20
Fig. 5.- Estación 4 Punto de Rebombear de la Planta de Tratamiento Hacia los Canales de Xochimilco.	20
Fig. 6.- Estación 5 Influyente Proveniente de la Planta de Tratamiento a los Canales de Xochimilco Nativitas.	21
Fig. 7.- Sistema Automatizado VITEK (biomerux).	24
Fig. 8.- Condiciones del Termociclador para PCR.	29
Fig. 9.- Termociclador para PCR.	29
Fig.10.- Controles de PCR en gel de Agarosa al 2%,35min, 90 Vlt, Genes stx1 (150pb) stx2 (255pb) eaea (384pb) ial (650pb).	41
Fig. 11.- PCR Sencillo del Gen Lt (450pb) en gel de Agarosa al 2%, 35min,90 Vlt	42
Fig. 12.- PCR Sencillo del Gen St (190pb)en gel de Agarosa al 2%, 35min,90 Vlt	42
Fig.13.- PCR Sencillo del Gen Lt (450pb) en gel de Agarosa al 2%, 35min, 90 Vlt	43
Cuadro 1.- Composición de la tarjeta Vitek (GNS-604) para determinar Susceptibilidad de Gram-Negativos.	26
Cuadro 2.- Secuencia de Genes Asociados a Factores de Virulencia de Cepas Patógenas de Escherichia coli (Saucedo, L. 2003).	27
Cuadro 3.- Concentración de Oxígeno Disuelto (mg/L) en las Diferentes Muestras de Agua Analizadas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.	31
Cuadro 4.- Valores Obtenidos de pH en las Diferentes Muestras de Agua Analizadas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.	31

Cuadro 5.- Valores Obtenidos de Temperatura (°C) en las Diferentes Muestras Analizadas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.	32
Cuadro 6.- Porcentajes de Organismos Identificados por Sistema Automatizado VITEK.	38
Cuadro 7.- Patrones de Resistencia a Antimicrobianos Obtenidos de Cepas Aisladas las Muestras en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.	40
Grafica 1.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Inflente de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.	33
Grafica 2.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Lodos Activados de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.	34
Grafica 3.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Tanque de Sedimentación Secundaria de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.	35
Grafica 4.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Rebombero Tequexquite de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.	36
Grafica 5.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Nativitas (Xochimilco) de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.	37
Grafica 6.- Sensibilidad Antimicrobiana de Cepas Aisladas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y dos Puntos en Xochimilco.	39
Grafica 7.- Multiresistencia de Cepas Aisladas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y dos Puntos en Xochimilco.	39
Tabla 1.- Conteo de Coliformes Totales NMP/100mL.	59
Tabla 2.- Conteo de Coliformes Fecales NMP/100mL.	59

RESUMEN.

En la Ciudad de México como en el resto del país, uno de los principales problemas de salud son las enfermedades infecciosas gastrointestinales que en muchas de las ocasiones son transmitidas tanto por agua contaminada como por alimentos regados con la misma. Uno de los objetivos de este trabajo fue la búsqueda de bacterias en la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella, la cual suministra una parte del agua tratada a una cárcel de la delegación, otra parte se distribuye en pipas para usos diversos como riego y lavado de automóviles y el resto se envía al lago de Xochimilco. En estudios previos se identificó la presencia de microorganismos patógenos en este lago como es el caso de *Escherichia coli*, por lo que se decidió identificar la fuente de contaminación. En un periodo de 10 meses se colectaron 60 muestras de agua de las cuales se realizaron conteo de coliformes totales y fecales por la técnica NMP, identificación, asimismo sensibilidad antimicrobiana y detección de genes de virulencia. En el conteo de coliformes sobrepasa los límites máximos permisibles que establece la NOM-001-ECOL-1996. Las bacterias se aislaron en Mac Conkey, la identificación y la susceptibilidad a antimicrobianos se realizó por pruebas bioquímicas IMVIC y con el sistema automatizado Vitek (bioMérieux). Se aislaron un total de 159 cepas de las cuales el 73% eran *E coli*, 10% *citrobacter freunii*, 6% *E coli* sorbitol negativas y el 11% a otros géneros. El 73% de las cepas de *Escherichia coli* resultaron sensibles a todos los antibióticos, el 21% es resistente a por lo menos un antibiótico. Los antibióticos con mayor resistencia son Piperacilina y Trimetoprim

sulfametoxazol. Aunque no se identificó alguno de los genes de virulencia de *E coli* la presencia del microorganismo en estos cuerpos de agua sugiere su participación como posible reservorio del microorganismo.

INTRODUCCION.

El agua es un elemento indispensable para todos los seres vivos, constituye cerca del 75% de su composición, lo que la hace indispensable para su permanencia en la tierra. La necesidad del agua en el mundo ha ido siempre en orden creciente y conforme se ha desarrollado la civilización y ha crecido la población en casi todas las áreas habitadas de la superficie terrestre.

Sin embargo, el desarrollo y el crecimiento acelerado de la población ha ocasionado que cada día se tengan mayores problemas para el uso y disfrute del agua, lo anterior principalmente a causa del vertido desordenado de residuos líquidos y sólidos a los ríos y reservorios tanto naturales como artificiales (Seoanez, 1999).

Tal situación constituye lo que conocemos como contaminación del ambiente acuático que está en relación directa con el criterio de calidad de agua y que se refiere al uso al que se le destinará. El material contaminante incluye una gran cantidad de compuestos inorgánicos tales como los metales (plomo o mercurio), o materia orgánica particulada y de manera importante a los microorganismos (Turk, 1981).

La contaminación del sistema de agua potable con aguas negras se detecta por la presencia de indicadores que se encuentran en un grupo denominado Coliforme y

cuya presencia en cuentas altas se relaciona con la presencia de organismos patógenos. Los indicadores son bacterias Gram-negativas aerobias y anaerobias facultativas, oxidadas negativas que no forman esporas y que son capaces de fermentar la lactosa en 24-48 hrs. Su presencia es obligada en el tracto intestinal del humano y animales de sangre caliente (Levinson, 1999). Esta definición abarca una gran variedad de bacterias intestinales, entre las principales están: *Escherichia coli*, *Citrobacter spp*, *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.* (Grant y Long, 1989).

Tratamiento de Aguas Residuales.

Las aguas residuales provienen del uso del agua para diversos fines y en su mayoría acarrearán materiales derivados de residuos domésticos o de procesos industriales, los cuales por razones de salud pública así como en lo referente a consumo, recreación y la estética, no deben ser desechadas sin tratamiento en lagos o corrientes convencionales. Los materiales inorgánicos como la arcilla, sedimentos y otros residuos se pueden eliminar por métodos mecánicos y químicos; sin embargo, si el material que debe ser eliminado es de naturaleza orgánica, el tratamiento implica usualmente actividades de los microorganismos que oxidan y convierten la materia orgánica en CO₂, por esto los tratamientos de aguas de desecho son procesos en los cuales los microorganismos juegan papeles cruciales. El tratamiento de aguas residuales tiene entre sus objetivos la eliminación de microorganismos patógenos, evitando así que estos lleguen a ríos

o a otras fuentes de abastecimiento. Específicamente el tratamiento biológico de las aguas residuales es considerado un tratamiento secundario ya que está ligado íntimamente a dos procesos microbiológicos, los cuales pueden ser aerobios y anaerobios (Turk, 1981 y <http://www.monografias.com>).

Uno de los efectos más perjudiciales del agua contaminada para el hombre ha sido ciertamente el de transmisión de enfermedades tales como, la fiebre tifoidea y el cólera, que han sido la causa del mayor número de defunciones relacionadas con el agua. Otras importantes enfermedades hidrotansimibles y que también afectan frecuentemente la salud humana debida a microorganismos son la disentería, la hepatitis infecciosa y la gastroenteritis.

Dentro de los patógenos que causan enfermedades gastrointestinales se ha reportado a *Escherichia coli*, el cual es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu *Escherichia*. Esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de la biota normal, sin embargo, existen cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos.

Con base en su mecanismo de patogenicidad y cuadro clínico, las cepas de *E. coli* se clasifican en seis grupos: Enterotoxigénica (ETEC), Enterohemorrágica también conocidas como productoras de toxina Vero o toxina semejante a *Shiga* (EHEC o VTEC o STEC), Enteroinvasiva (EIEC), Enteropatógena (EPEC), Enteroagregativa (EAEC) y de Adherencia Difusa (DAEC) (Rodríguez, 2002).

E. coli Enteropatógena (EPEC)

Las enteropatógenas fue el primer grupo que se identificó serológicamente y se asoció con casos de diarrea en infantes, siendo la adherencia su principal factor de patogenicidad. El proceso de la adherencia íntima entre la bacteria y la membrana de las células del epitelio intestinal, seguida por la destrucción de la microvellosidad, con polimerización de actina, son factores que llevan a la alteración del citoesqueleto en el sitio de la unión de la bacteria. Debido al aumento de los niveles de calcio intracelular y de proteína cinasa C, se le ha denominado adherencia y esfacelamiento. La adherencia esta mediada por pilis o fimbrias rizadas que se denominan Bfp cuya información genética está codificada en un plásmido de EAF y de algunos genes cromosomales (Rodríguez, 2002; Molina, 2003).

El cuadro clínico que produce EPEC se manifiesta con diarrea aguda, la cual puede ser leve o grave con vómito, fiebre baja y mala absorción, el periodo de incubación varia de 3 a 24 hrs después de que el individuo ingiere un inoculo grande de bacterias (10^9 a 10^{10} UFC), se cree que el inoculo que infecta a los niños es mucho menor (Vidal, 2007). Este grupo afecta principalmente a niños de menos de seis meses a dos años, también puede aislarse de adultos enfermos y sanos, principalmente cuando hay un factor que los predispone como la diabetes. La lesión característica producida por *E. coli* enteropatógena consiste en la destrucción de la microvellosidades del enterocito, la membrana de la célula

intestinal envuelve a la bacteria y ahí puede estimular a los macrófagos interepiteliales, ocasiona una enteritis ulcerada que afecta de modo predominante al colon, aunque todo el intestino sufre daño en grados variables (Valencia, 1996; Margall, 1997).

E. coli Enteroinvasiva (EIEC)

El mecanismo de patogenicidad de las cepas de EIEC es la capacidad de invadir y reproducirse dentro del citoplasma, ocasionando la destrucción de la célula hospedera. Estas cepas pertenecen a un grupo reducido de serotipos que se parecen bioquímica y antigénicamente al género *Shigella* (Molina, 2003). El primer paso en el proceso de patogénesis de dichas cepas es la adherencia de las bacterias a las microvellosidades de la mucosa intestinal y posteriormente al borde en cepillo del enterocito, en el cual se comienza a formar una vesícula en su membrana, que da lugar a que se facilite la penetración de la bacteria, se establece y se multiplica en el interior de la célula intestinal para de ahí invadir las células adyacentes a través de su migración por el citoesqueleto (Nataro, 1998; Rodríguez, 2002; Valencia 1996).

Los síntomas característicos en personas infectadas por EIEC son diarrea acuosa con sangre y moco, pero en algunos casos sólo presentan diarrea, ésta en ocasiones se confunde con los síntomas que ocasiona una ETEC, es un patógeno importante en niños de mayores de seis meses.

E. coli enterotoxigénica (ETEC)

Las ETEC colonizan la mucosa del intestino delgado por medio de pilis o fimbrias que tienen diversas formas denominadas CFA, siendo su principal mecanismo de patogenicidad la síntesis de alguna o ambas enterotoxinas llamadas toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST) (Valencia, 1996). Las cuales aumentan el nivel intracelular de cAMP y cGMP respectivamente, que se encuentran en la membrana de las células intestinales, provocando la salida de agua e iones. Este tipo de *Escherichias* son importantes en lactantes y principalmente en niños menores de dos años y específicamente durante los seis primeros meses de vida. En los niños de edad escolar y adultos puede ser sintomática y poco frecuente o producir la diarrea del viajero. El cuadro clínico se caracteriza por diarrea aguda, generalmente sin sangre, sin moco, sin pus y en pocos casos se presentan fiebre y vómito, este tipo de diarrea puede ser leve, breve y autolimitada pero en ocasiones puede ser grave (Nataro, 1998; Rodríguez, 2002).

E. coli enterohemorrágica (EHEC)

El grupo enterohemorrágico de *E. coli* incluye cepas de diferentes serotipos que presentan las mismas características clínicas, epidemiológicas y patogénicas del serotipo O157:H7. El grupo EHEC se ha asociado con la etiopatogenia de colitis hemorrágica afebril (CH) caracterizados por dolor abdominal, diarrea acuosa con sangre y poco o nada de fiebre, síndrome urémico hemolítico (SUH), caracterizado

por daño renal agudo, trombocitopenia (conteo de plaquetas menor a 150,000 por mm³) y anemia hemolítica microangiopática, precedida por diarrea con sangre (Rodríguez, 2002).

Las cepas causantes de estos cuadros tienen la capacidad de elaborar una o más citotoxinas con actividad en las células Vero, por lo que se les llama verotoxinas (VT), se observó que la citotoxina se neutraliza con antitoxina obtenida a partir de *Shigella dysenteriae* tipo 1, por lo que también se le llamo “shiga-like toxin” o toxina semejante a shiga (SLT) o “shiga toxin” (STX) (Valencia, 1996). La citotoxina STX es el principal mecanismo de patogenicidad de EHEC, la cual actúa al nivel de síntesis de proteínas, además presenta otros mecanismos de patogenicidad como el fenómeno de adherencia y esfacelación (A/E); otro mecanismo de patogenicidad es el plásmido pO157 que codifica para la enterohemolisina (Nataro, 1998).

El periodo de una EHEC es de 1 a 8 días, inicialmente produce diarrea sin sangre, con o sin vómito, dolor abdominal, fiebre y después de 1 a 2 días la diarrea se torna sanguinolenta y se intensifica el dolor abdominal, de una duración de 4 a 10 días, con heces abundantes sanguinolentas.

E. coli enteroagregativa (EAEC)

El grupo (EAEC) presenta un patrón de adherencia agregativa en cultivo celular. Este grupo está fuertemente asociado con diarrea persistente en niños. La patogénesis de EAEC aunque está en estudio, en ella se ha involucrado dos

proteínas de alto peso molecular, proteína codificada por un plásmido (Pet) y proteína codificada en el genoma con actividad de proteasa (Pic), que producen acortamiento de las vellosidades, hemorragia, ulceración y necrosis en asa ligada de rata (Blanco, 1995). El sitio de daño de EAEC puede ser la mucosa del intestino grueso y delgado, con un periodo de incubación de menos de ocho horas y puede durar hasta 18 o 20 días. Esta bacteria puede causar brotes o casos aislados de diarrea persistente. En niños puede manifestarse con diarrea líquida, de color verde, con moco, sin sangre, y que en ocasiones puede llegar a ser severa y requerir rehidratación intravenosa, en algunas ocasiones el cuadro clínico puede variar presentándose diarrea con moco, con o sin sangre, vómito y sin o con poca fiebre.

E. coli de Adherencia Difusa (DAEC)

Las cepas de *E. coli* de adherencia difusa, no forman microcolonias cuando se adhieren a las células Hep-2. Se sabe poco de su mecanismo de patogenicidad pero se ha caracterizado una fimbria de superficie, conocida como F1845, involucrada en el fenómeno de adherencia difusa (Rodríguez, 2002).

El grupo de las DAEC se puede aislar tanto en personas sanas como en personas con diarrea, siendo más importante en niños de cuatro a cinco años. Los principales síntomas que se presentan son diarrea acuosa sin sangre y sin leucocitos.

ANTECEDENTES.

Blanco y colaboradores en 1995 realizaron un estudio en pacientes con infecciones de vías urinarias, las que al parecer fueron causadas por cepas presentes en la flora intestinal normal que presentan factores de virulencia.

García-Gómez en el 2002 realizó una determinación microbiológica de dos de los vegetales más consumidos y cultivados en la zona de Xochimilco (lechuga y cilantro). Los resultados obtenidos demostraron que las muestras tratadas con desinfectante presentaban una eliminación parcial de microorganismos patogénicos encontrados en ambos vegetales.

En el 2002, Valdez aisló y caracterizó *Escherichia coli* presente en el agua y aire de la planta de tratamiento del Cerro de la Estrella, esto es en los aerosoles y del tanque de lodos activados de la planta. Su sola presencia indica la importancia que tienen estos estudios en Salud Pública.

En el 2002, García, aisló e identificó las bacterias patógenas de (*Ambystoma mexicanum*) de los canales de Xochimilco arrojando como resultados que el 46.3% de las bacterias identificadas correspondían a *Aeromonas hydrophila*, el 19.2% a *Escherichia coli*, el 11.5% a *Citrobacter brankii*, el 7.7% a *Morganella morganii* y el 3.8% a *Providencia rettgeri*.

Cortés en 2002 realizó un estudio de un brote en Chalco, México en el cual observa que *Escherichia coli* podría ser responsable del brote de diarrea en esta localidad.

Aguilar-Medina presentó en un estudio realizado en el 2003 sobre factores de virulencia de *Escherichia coli*, en aguas superficiales y subterráneas en dos épocas del año y en el cual utilizó la técnica de PCR para la identificación de cepas patógenas.

También en el área de Xochimilco, Juárez-Figueroa en el 2003 cuantificó diversos indicadores de contaminación en los efluentes de dos plantas de tratamiento y los canales de Xochimilco, encontrando como resultado que el agua tratada que se descarga a los canales, mostró cantidades bajas de coliformes fecales, enterococos y quistes.

Montiel en el 2005 determinó el número de coliformes e identificó los géneros y las especies de bacterias asociadas con la etiología de la diarrea, de muestras colectadas en los canales de Xochimilco. La identificación de bacterias mostró que *Escherichia coli* se presentó con relación a las demás identificadas en una mayor proporción, en todos los puntos de muestreo.

Un estudio realizado por Solís en el 2005, en el que analizó y caracterizó a *Vibrio cholerae* de los canales de Xochimilco.

Luna en el 2006 realizó la identificación de *Vibrio cholerae* en la planta de tratamiento Cerro de la Estrella y en raíz de lirio acuático (*Eichornia crassipes*) de los canales de Xochimilco.

Coincidentemente con lo descrito hasta ahora para México, Chiroles Rubalcaba y colaboradores en el 2007 realizaron un estudio de bacterias indicadoras de contaminación fecal en el río de Almendares en Cuba, donde se detectó un deterioro notable en la calidad del agua debido a los numerosos vertimientos de aguas residuales principalmente domésticas e industriales, sin tratamiento o con tratamiento deficiente.

Ramírez en el 2007, aisló e identificó cepas lactosa positiva de los canales de Xochimilco y de las cuales una gran proporción fueron *E. coli*, 82% para la época de estiaje y 69% en la época de lluvias. Del total de las muestras de *Escherichia coli* analizadas, los grupos patógenos encontrados fueron: ETEC con un 22%, EPEC 12%, EHEC con 8%, EIEC con el 2% para la época de estiaje. Para la época de lluvias el 15% se catalogaron como EPEC, el 11% como EHEC, el 10% para EIEC y así mismo el 8% para ETEC y EAEC.

Benavides en el 2004 llevó a cabo un estudio relacionado con la resistencia bacteriana en hospitales de la ciudad de México, para determinar los niveles de uso de los antibióticos y propone estrategias para disminuir la resistencia a estos, donde registró que el grupo de los β -Lactámicos y Cefalosporinas presentaron

mayor número de cepas resistentes, seguida de los Aminoglucósidos y las Quinolonas.

Por otro lado Estrada-García y colaboradores en el 2005 realizaron un estudio de cepas de *E. coli* resistentes a diferentes drogas en tres diferentes hospitales de la ciudad de México donde muestra que la mayoría de las cepas causantes de diarreas en niños hospitalizados en México son resistentes a trimetoprim-sulfametoxazol y a ampicilina, que son los medicamentos comúnmente utilizados.

Chávez en el 2007 realizó una identificación por la técnica de PCR con base en los genes LT y ST y a la proteína Longuns de cepas de diferentes ambientes en donde demostró que el 4.45% presentó una amplificación de 696 pb que corresponde al gen LT, con respecto a la amplificación del gen ST, se encontró que el 24.20% amplificó una banda de 186pb.

JUSTIFICACION.

La planta de tratamiento del Cerro de la Estrella, es una de las plantas que suministra el agua a los canales de Xochimilco para mantener el nivel de los mismos. Dado que en la región existen cultivos de vegetales los cuales son regados con este tipo de agua y distribuidos en los mercados locales y de la ciudad de México y si éstos se consumen crudos, representan un factor de riesgo a la salud. Además otra de las funciones del lago es el de ser una área de recreación turística por lo que el usuario tiene contacto directo con el agua, esto nos lleva a poner atención en la posibilidad de ser una fuente importante de enfermedades hidrottransmisibles como sería el caso de *Escherichia coli* la cual es una de las principales causantes de diarrea en niños menores de dos años y muy arraigada en países en vías de desarrollo ya que está involucrada tanto en problemas gastrointestinales como en infecciones urémicas y neonatales, de ahí la importancia de la relación entre Salud Ambiental y Salud Pública.

OBJETIVOS.

Objetivo General.

- Realizar el aislamiento e identificación de *Escherichia coli* de muestras de agua de la planta de tratamiento “Cerro de la Estrella” y del efluente “Nativitas” que descarga en el lago de Xochimilco.

Objetivos Particulares.

- 1) Analizar los parámetros ambientales como Oxígeno Disuelto Temperatura y pH de las muestras de agua en los periodos de lluvia y de estiaje en 2003 y 2004.
- 2) Evaluar las características bacteriológicas de la planta de tratamiento y del efluente tratado que llega a los canales de Xochimilco, mediante la cuantificación de coliformes totales y fecales.
- 3) Realizar la identificación preliminar de *E. coli* utilizando la caracterización bioquímica de las colonias lactosa positiva, IMVIC, más otra prueba utilizando tres azúcares, lactosa, manitol y maltosa.
- 4) Confirmar la identificación de *E. coli* utilizando un sistema automatizado.
- 5) Evaluar la susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas identificadas como *E. coli* en un sistema automatizado.
- 6) Determinar en las cepas de *E. coli* identificadas, la presencia de genes de virulencia.

ÁREA DE ESTUDIO.

La planta de tratamiento “Cerro de la Estrella” se ubica en la Avenida San Lorenzo No 312 en la delegación Iztapalapa de la ciudad de México cuyas coordenadas geográficas son: longitud oeste: 99°, 04’, 42.55”, latitud norte: 19°, 20’, 13.88” y una Altitud de 2,244 m.s.n.m. Comenzó su operación en 1968 produciendo inicialmente un caudal de 1,500 L/s mediante el tratamiento secundario de lodos activados el cual se basa en la descomposición de la materia orgánica por acción de los microorganismos. Actualmente la planta tiene una capacidad de 2,500 a 3,000 L/s, agua que se utiliza para el riego agrícola en las delegaciones Tlahuac y Xochimilco, así como a los canales de la zona turística, con la finalidad de mantener el nivel del mismo y llenado de la pista de remo y Canotaje “Virgilio Uribe” y en la zona industrial, así como a una cárcel de la Delegación Iztapalapa (<http://www.visitasguiadas.df.gob.mx>).

El muestreo se realizó en tres diferentes puntos dentro de la planta de tratamiento (Influyente, tanque de lodos Activados y Sedimentador secundario) y en dos más fuera de ésta, Rebombeo y Efluente en Nativitas.



Fig. 1. Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.

Para cubrir los objetivos del presente estudio se realizaron un total de 11 muestreos uno mensual comprendiendo el periodo de diciembre del 2003 a octubre del 2004 en la Planta de Tratamiento de aguas residuales “Cerro de la Estrella”, incluyendo las épocas de secas (Febrero-Abril, 2004) y de lluvias (Mayo-Octubre, 2004). En este estudio se seleccionaron cinco puntos de muestreo en todo el tren # 9 de la planta de tratamiento, los cuales comprendieron el influente como el punto uno, el tanque de salida de lodos activados como el segundo, el tanque Sedimentador secundario como el tercero, el Rebombear (Tequexquite) como el cuarto y la última estación que es el efluente (Nativitas) que llega a Xochimilco.



Fig. 2. Estación 1.-Influente de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.



Fig. 3. Estación 2.-Tanque de Lodos Activados de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.



Fig. 4. Estación 3.-Tanque de Sedimentación Secundaria de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, Iztapalapa.



Fig. 5. Estación 4.- Punto de Rebombeo de la Planta de Tratamiento hacia los Canales de Xochimilco.



Fig. 6. Estación 5.-Influente Proveniente de la Planta de Tratamiento a los Canales de Xochimilco Nativitas.

MATERIAL Y METODOS.

Parámetros Ambientales.

Para la valoración de los parámetros ambientales se realizaron *in situ* en el caso del oxígeno disuelto y la temperatura se determinaron con un Oxímetro (modelo YSI, 51 – B con electrodo, Ohio, USA), realizando las mediciones a nivel superficial (50 cm. de profundidad), al igual que la temperatura.

El pH se determinó con un potenciómetro digital (conductronic, México) tomando mediciones a nivel superficial (30cm).

Conteo de Coliformes Totales y Fecales.

Para los parámetros biológicos se colectaron un total de 60 muestras de agua en los diferentes puntos de muestreo (influyente, tanque de lodos, Sedimentador secundario, Rebombeo (Tequexquite) y Nativitas) en frascos ámbar esmerilados de 250mL previamente esterilizados y con un dispositivo muestreador el cual se sumergió a 50cm y llenando las $\frac{3}{4}$ partes de la botella para homogenizar la muestra antes del análisis. Las muestras se transportaron al laboratorio en refrigeración.

Posteriormente en el laboratorio se realizó el conteo de coliformes Totales y Fecales por el método del número más probable (NMP /100mL) serie de 5 tubos, con diluciones de (10mL, 1mL, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6}). Para la cuantificación de coliformes Totales (prueba presuntiva) se utilizó caldo

Lactosado (10mL) en tubos de ensayo de 16x150mm, con campana de Durham para observar la producción de gas, los tubos se incubaron a 37°C por 24hrs.

Así mismo los positivos se resembraron en caldo Bilis Verde Brillante (BVB) y caldo EC ambos con 10mL y campana de Durham, para realizar la prueba confirmativa de Coliformes Fecales, se incubaron a 37°C por 24hrs en Bilis Verde Brillante (BVB) y en caldo EC en baño de agua 45°C por 24 hrs.

Aislamiento e Identificación de *E. coli*.

Se realizó el aislamiento de *E. coli* tomando una asada de el caldo EC derivado de la técnica NMP y sembrando por estría en cajas con medio de cultivo Mac Conkey y Mac Conkey con Sorbitol para poder confirmar que efectivamente se trataba de *E. coli* al presentar sus típicas características morfológicas tales como son colonias de pequeñas a medianas con centro hundido redondas, lisas o rugosas (Molina, 2003). Posteriormente a las colonias seleccionadas se les realizó una identificación preliminar por medio de las pruebas bioquímicas IMVIC más una prueba adicional utilizando tres azúcares (maltosa, lactosa y manitol) para ampliar el espectro de identificación. Posteriormente en agar base sangre, se seleccionaron las colonias típicas y al mismo tiempo observar su capacidad hemolítica, las cepas seleccionadas se conservaron en medio de Gelosa especial.

Identificación Automatizada VITEK.

Para una identificación definitiva, las cepas se procesaron en el sistema automatizado VITEK (bioMérieux Vitek, Inc. USA), que analiza las características metabólicas de la bacteria, utilizando 30 diferentes substratos liofilizados tales como azúcares y aminoácidos (bioquímicas) contenidos en tarjetas de identificación denominadas GNI+. Este método permite la identificación de la bacteria en periodos que van de 3 a 18 hrs. (Nataro, 1998). La prueba se realizó tomando una asada de cultivo fresco, el cual fue resuspendido en 1.8 mL de solución salina estéril al (0.45%) para obtener una concentración correspondiente al tubo uno en la escala de Mac Farland, para esto se utilizó un microespectrofotómetro. Se hidrataron los pozos por medio de vacío del mismo sistema con la suspensión de *E. coli* equivalente a 1×10^6 UFC/mL incubándolos a 37 °C, los resultados fueron leídos observando la reacción en cada uno de los compuestos liofilizados.



Fig. 7. Sistema Automatizado VITEK (bioMérieux).

Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos.

Una vez caracterizadas las cepas se procedió a la prueba de sensibilidad en la cual se utilizó el mismo sistema automatizado (bioMérieux Vitek, Inc. USA), utilizando las tarjetas GNS-604 las cuales constan de 40 pozos con una serie de antibióticos liofilizados. La concentración de las antibióticos está diseñada para identificar niveles altos y bajos de resistencia ya que cada uno de estos se prueba con dos concentraciones (Cuadro 1). El procedimiento se dio de la misma manera que la identificación solo que con un paso mas que fue tomar otro tubo con 1800 µl de solución salina al (.45%) y agregar 50µl de la solución bacteriana estandarizada anteriormente, incubándolos a 37 °C, los resultados fueron leídos observando la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano. Esta es una prueba de susceptibilidad *in vitro*, que emplea un procedimiento de micro dilución en medio líquido, para determinar patrones de susceptibilidad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas de rápido crecimiento.

Extracción de DNA Genómico de *E. coli* por Ebullición.

Las cepas de *E. coli* aisladas de los diferentes puntos de muestreo se cultivaron en placas de TSA, para obtener un cultivo fresco se incubaron 24 hrs. a 37°C, posteriormente se tomó una asada considerable y se colocó en 1 mL de agua destilada estéril en tubos eppendorf los cuales fueron homogenizados en vortex, hervidos 2min en termoblok a 100°C, pasado este tiempo se colocaron en hielo para precipitar proteínas, así mismo se centrifugó

a 10,000 rpm por 5min. La técnica de extracción de DNA por Kit se explica en el Anexo II.

Cuadro 1. Composición de la tarjeta Vitek (GNS-604) para determinar Susceptibilidad de Gram-Negativos

Antimicrobiano	Concentraciones μG/ML	Rango de CMI μG/ML	
Amikacina	2,8, 32	≤2	≥64
Amoxicilina/Acido Clavulanico	4/2, 8/4, 16/8	≤8	≥32
Cefazolina	4, 16, 64	≤8	≥32
Cefepim	4, 8, 16	≤4	≥32
Ceftazidim	4, 8, 64	≤8	≥32
Ceftriaxona	16, 64, 128	≤8	≥64
Cefuroxim	4, 16, 64	≤4	≥32
Ciprofloxacina	1, 4	≤0.5	≥4
Gentamicina	0.5, 2, 8	≤0.5	≥16
Meropemem	2, 4, 8	≤2	≥16
Nitrofurantoina	32	≤32	≥128
Norfloxacina	4, 8	≤4	≥16
Ofloxacina	1, 4, 10	≤1	≥8
Piperacilina	8, 32, 64	≤8	≥256
Ticarcilina/Acido Clavulanico	32/2, 64/2, 128/2	≤16	≥256
Trimetoprima/Sulfametoxazol	2/38(40), 8/152(160)	≤10	≥320

Identificación de Genes de Virulencia por PCR.

Ensayo de PCR. Para el análisis genético se usó DNA genómico de *E. coli* haciendo la extracción primero por la técnica de ebullición y posteriormente por medio del Kit PCR Máster Mix (Promega, USA); se usaron siete secuencias específicas para el análisis de genes relacionados con factores de virulencia de *E. coli* patógenas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Secuencia de Genes Asociados a Factores de Virulencia de Cepas Patógenas de *Escherichia coli* (Saucedo, L. 2003).

Cepa	Gene	Número bases	Amplicón (pb)	Secuencia
ETEC	<i>lt</i>	20	450	F:5´ ggc gac aaa tta tac cgt gc 3´
		20		R:5´ cgg tct cta tat tcc ctg tt 3´
	<i>st</i>	21	190	F:5´ att ttt ctt tct gta ttg tct t 3´
		20		R:5´ cac ccg gta caa gca gga tt 3´
EPEC	<i>bfpA</i>	21	324	F:5´ aat ggt gct tgc gct tgc tgc 3´
		21		R:5´ gcc gct tta tcc aac ctg gta 3´
	<i>eaeA</i>	20	384	F:5´ gac ccg gca caa gca taa gc 3´
		20		R:5´ cca cct gca gca aca aga gg 3´
EHEC	<i>stx1</i>	21	150	F:5´ ctg gat tta atg tgc cat agt 3´
		21		R:5´ aga acg ccc act gag atc atc 3´
	<i>stx2</i>	21	255	F:5´ ggc act gtc tga aac tgc tcc 3´
		21		R:5´ tgc cca gtt atc tga cat tct 3´
EIEC	<i>ial</i>	21	650	F:5´ ggt atg atg atg atg agt cca 3´
		20		R:5´ gga ggc caa caa tta ttt cc 3´

PCR Múltiplex.

Esta es una variante de la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que permite la amplificación de múltiples segmentos de DNA empleando dos o más pares de primers simultáneamente en un mismo tubo. El fundamento se explica en el Anexo II. Este procedimiento se realizó bajo las siguientes condiciones: en cada tubo de reacción se colocaron 2.5 μ L de buffer 10x, 0.75 μ L de MgCl (50mM), 2.5 μ L de dNTPs (2mM) (dATP, dTTP, dGTP y dCTP), el pool de oligos 0.625 μ L de cada uno, 8.95 μ L de agua para PCR, .3 μ L de Taq polimerasa (5U/ μ L) y 5 μ L del DNA muestra, obteniendo un volumen final de 25 μ L. Así mismo se realizo por separado cada gen con las siguientes cantidades por tubo de reacción: 2.5 μ L de buffer 10x, 0.75 μ L de MgCl (50mM), 0.5 μ L de dNTPs (2mM) (dATP, dTTP, dGTP y dCTP), de oligos 1.75 μ L de cada uno, 17.5 μ L de agua para PCR, .1 μ L de Taq polimerasa (5U/ μ L) y 2 μ L del DNA muestra, obteniendo un volumen final de 25 μ L. Una vez listo el tubo de reacción se seleccionaron las siguientes condiciones en el termociclador 94°C 5min, 50° 2min, 72°.45min, 94° .45min, 50° .45min, 72° 10min por un total de 35 ciclos, para ambos casos Fig 8, 9. Posteriormente se preparó un gel de agarosa al 2 % y en cada pozo se colocaron 5 μ L del producto de PCR más 2 μ L buffer de carga y se corrió a 90 V por un periodo de 30min, se observo el producto amplificado en un transiluminador de luz UV.

CONDICIONES DEL TEMOCICLADOR

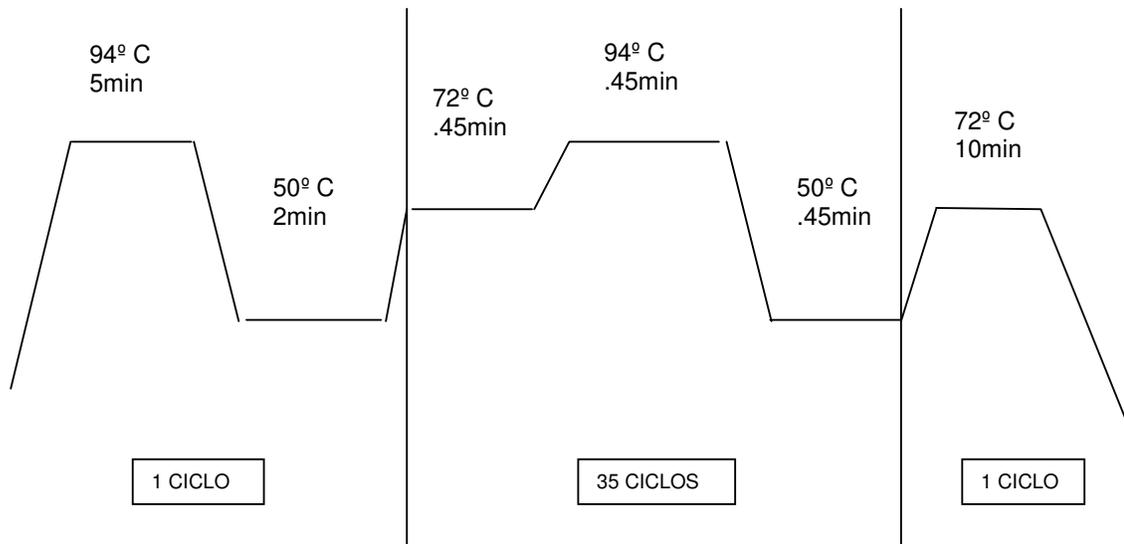


Fig.- 8 Condiciones del Termociclador para PCR Múltiplex.



Fig.-9 Termociclador para PCR.

RESULTADOS.

El estudio realizado en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y en dos puntos localizados en el lago de Xochimilco se efectuó durante el periodo de diciembre del 2003 a octubre 2004. En este se realizaron 55 análisis de parámetros físico químicos y el aislamiento de 159 colonias de bacterias.

Parámetros Ambientales.

Los resultados de los parámetros físico químicos de las muestras mostraron en los niveles de Oxígeno Disuelto (OD) un promedio anual de 2.15mg/L, con un nivel mínimo de 0.20mg/L en enero 2004 en la estación uno (influyente) y un máximo de 5.2mg/L en marzo 2004 en la estación Nativitas. En negritas se señalan los promedios mínimos y máximos por mes (1.32 mg/L y 3.36 mg/L en julio y octubre 2004 respectivamente) y por estación (0.83 mg/L y 3.6 mg/L en el influyente y Nativitas respectivamente) (Cuadro 3).

Con respecto al pH se encontró un promedio anual de 7.30 con valores que se mantuvieron en un intervalo entre 6.7 y 7.5. Sin embargo, en el mes de octubre del 2004 se observaron valores alcalinos en todas las estaciones (8.7) y un valor de 8.28 en febrero del mismo año únicamente en la estación Nativitas, en el análisis por mes observamos que el valor más bajo se presentó en mes de enero (6.95) y el mes de octubre con el más alto (8.74) (Cuadro 4).

Cuadro 3. Concentración de Oxígeno Disuelto (mg/L) en las Diferentes Muestras de Agua Analizadas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.

	INFLUENTE	LODOS ACTIV.	SEDIMENTADOR SECUNDARIO	REBOMBEO	NATIVITAS	PROMEDIO MENSUAL
DICIEMBRE	1.2	0.9	1.2	2.8	3.0	1.82
ENERO	0.2	2.0	1.2	1.8	2.8	1.6
FEBRERO	0.3	1.2	1.4	2.0	2.8	1.54
MARZO	1.2	1.2	2.0	2.6	5.2	2.44
ABRIL	1.0	1.2	1.4	4.0	4.6	2.44
MAYO	1.0	2.0	2.0	3.2	3.4	2.32
JUNIO	1.0	2.2	1.8	2.0	2.8	1.96
JULIO	0.6	0.6	1.0	2.0	2.4	1.32
SEPTIEMBRE	1.0	3.2	4.0	3.2	4.0	3.08
OCTUBRE	0.8	4.2	4.0	3.4	4.4	3.36
PROMEDIO ANUAL	0.83	1.87	2.0	2.7	3.6	2.15

Cuadro 4. Valores Obtenidos de pH en las Diferentes Muestras de Agua Analizadas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.

	INFLUENTE	LODOS ACTIV.	SEDIMENTADOR SECUNDARIO	REBOMBEO	NATIVITAS	PROMEDIO MENSUAL
DICIEMBRE	6.98	6.96	7.09	7.01	7.09	7.02
ENERO	7.38	6.72	7.01	6.88	6.78	6.95
FEBRERO	7.23	7.12	7.66	7.63	8.28	7.58
MARZO	7.17	7.14	7.15	6.98	7.16	7.12
ABRIL	7.18	7.01	7.00	7.01	7.41	7.12
MAYO	7.18	6.94	6.91	7.08	7.18	7.05
JUNIO	7.16	7.08	7.20	7.16	7.26	7.17
JULIO	7.80	7.36	7.45	7.53	7.57	7.54
AGOSTO	7.18	7.02	6.97	6.87	6.97	7.00
SEPTIEMBRE	7.26	6.84	6.86	7.04	7.17	7.03
OCTUBRE	8.77	8.80	8.94	8.60	8.62	8.74
PROMEDIO ANUAL	7.39	7.18	7.29	7.25	7.40	7.30

La temperatura del agua mostró un promedio anual de 20.4^o C, la temperatura más baja fue de (17^o C) que se presentó en el mes de enero de 2004 en todas las

estaciones y en abril solo en la estación Nativitas, con respecto a la más alta (22-23 ° C) se identificó en septiembre 2004 para todas las estaciones (Cuadro 5).

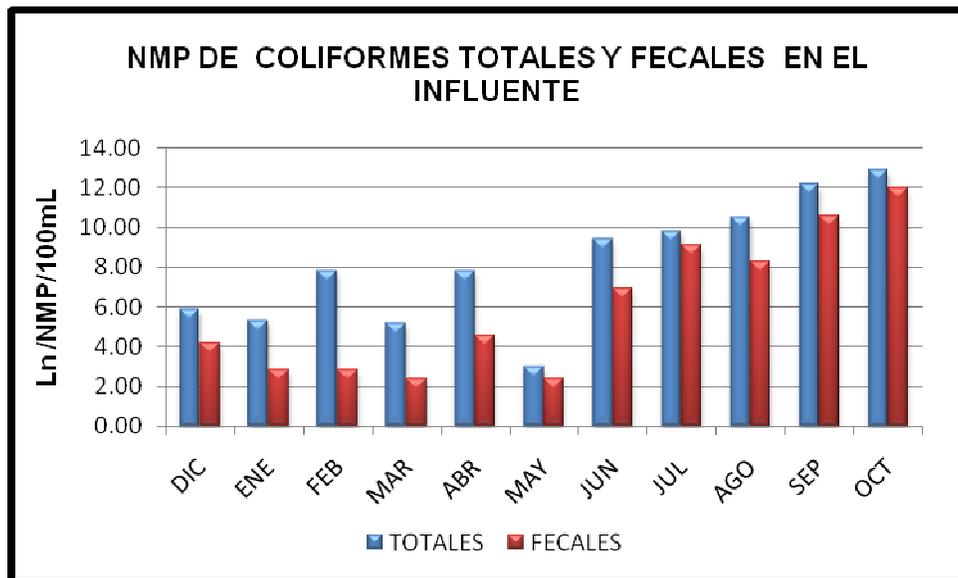
Cuadro 5. Valores Obtenidos de Temperatura (°C) en las Diferentes Muestras Analizadas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.

	INFLUENTE	LODOS ACTIV.	SEDIMENTADOR SECUNDARIO	REBOMBEO	NATIVITAS	PROMEDIO MENSUAL
DICIEMBRE	20.0	19.5	19.0	19.0	19.5	19.4
ENERO	17.0	17.0	17.0	17.5	17.0	17.1
FEBRERO	18.0	18.0	18.5	20.5	19.0	18.8
MARZO	21.0	20.5	20.0	21.0	22.0	20.9
ABRIL	21.0	21.0	22.0	22.0	17.0	20.6
MAYO	20.0	20.0	20.0	22.0	21.0	20.6
JUNIO	21.0	22.0	21.0	22.0	20.0	21.2
JULIO	20.0	21.5	21.0	21.0	21.0	20.9
SEPTIEMBRE	22.0	22.0	22.0	23.0	22.0	22.0
OCTUBRE	21.0	21.0	21.0	21.0	21.0	21.0
PROMEDIO ANUAL	20.1	20.25	20.15	20.9	19.8	20.4

Conteo de Coliformes Totales y Fecales.

En relación a las cuentas de Coliformes Totales analizadas por el ensayo de tubos múltiples mostró en los meses de diciembre 2003 a mayo 2004 niveles con un intervalo de 2 a 2400 (NMP/100mL) identificando éstos como los más bajos en el estudio. En el análisis por estación podemos observar en la grafica 1 que para la estación del Influyente en los primeros meses del muestreo (época de secas) para CT se presentan cifras que van de 20 a 2000 NMP/100mL, presentando un incremento notable para el resto del periodo de muestreo (época de lluvias) con cifras que van de 18,100 a 370,000 NMP/100mL. A su vez también nos indica que en el caso de CF no se presentan en las mismas proporciones pero al igual que en

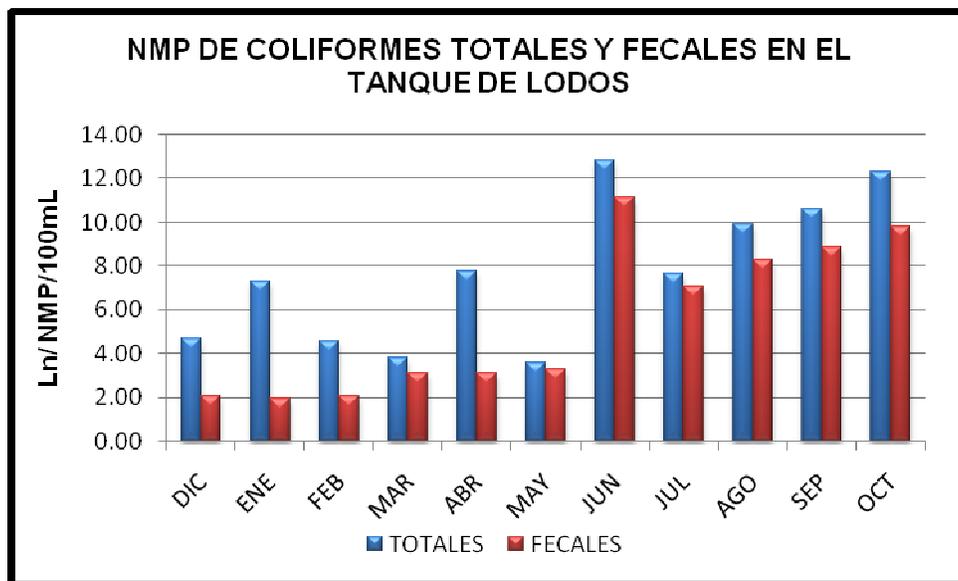
las Totales la época que presenta un incremento en la de lluvias que va desde 1,000 a 160,000 NMP/100mL siendo septiembre y octubre los meses más altos para ambos casos. Debido a las cuentas tan elevadas no fue posible graficar en números naturales por tal motivo se grafico en logaritmo natural para comprobar los datos ir al anexo 1.



Grafica 1.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Influyente de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.

En la grafica 2 observamos que para la estación de Lodos Activados sucede lo mismo que en la estación anterior presentándose en la época de secas, que comprende los primeros meses del muestreo, cifras que van de un rango de que tiene como mínimo 35 a 2,400 como máximo NMP/100mL para Coliformes Totales y presenta un gran incremento a partir del mes de junio teniendo gran variación que van desde 2,100 como mínima hasta 360,000 como máximas en esta ocasión para el mes de junio y 220,000 para el mes de octubre. Así mismo en el caso de

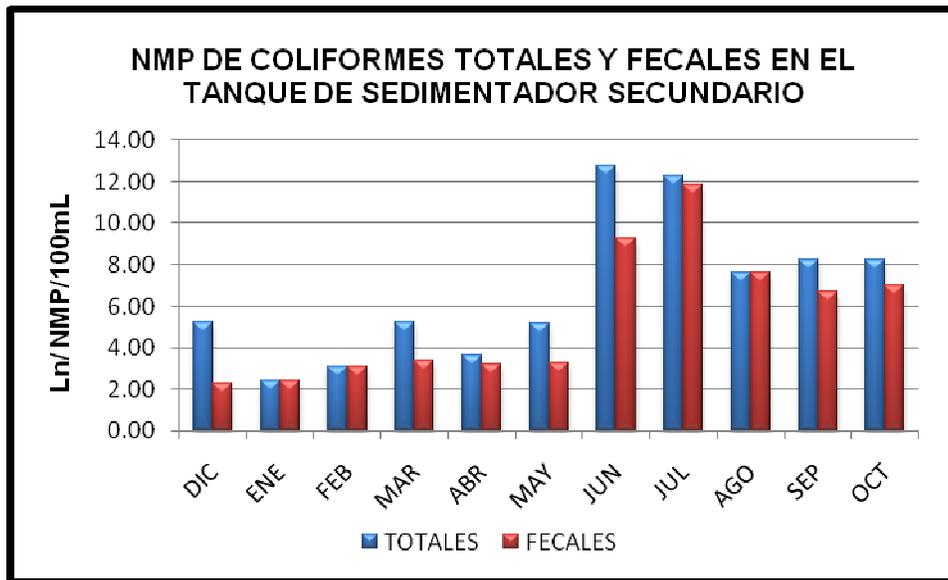
Coliformes Fecales si presenta una disminución notable en la época de secas que va de 8 a 27 NMP/100mL, sin embargo para los siguientes meses sigue el incremento presentando valores de 1,200 como mínimo a 70,000 NMP/100mL valor máximo de nuevo para el mes de junio. Debido a las cuentas tan elevadas no fue posible graficar en números naturales por tal motivo se grafico en logaritmo natural para comprobar los datos ir al anexo 1.



Grafica 2.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Lodos Activados de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.

Como podemos observar en la grafica 3 en la estación de Sedimentador Secundario para el caso de las cuentas de Coliformes Totales en los primeros meses van de 11 como mínimo a 183 NMP/100mL como máximo pero no es el caso para los meses siguientes por que al igual que en las estaciones anteriores el incremento se da a partir del mes de junio (época de lluvias) con cifras que van desde 2,000 (mínima) a 350,000 (máxima) esta ultima presentándose en junio y

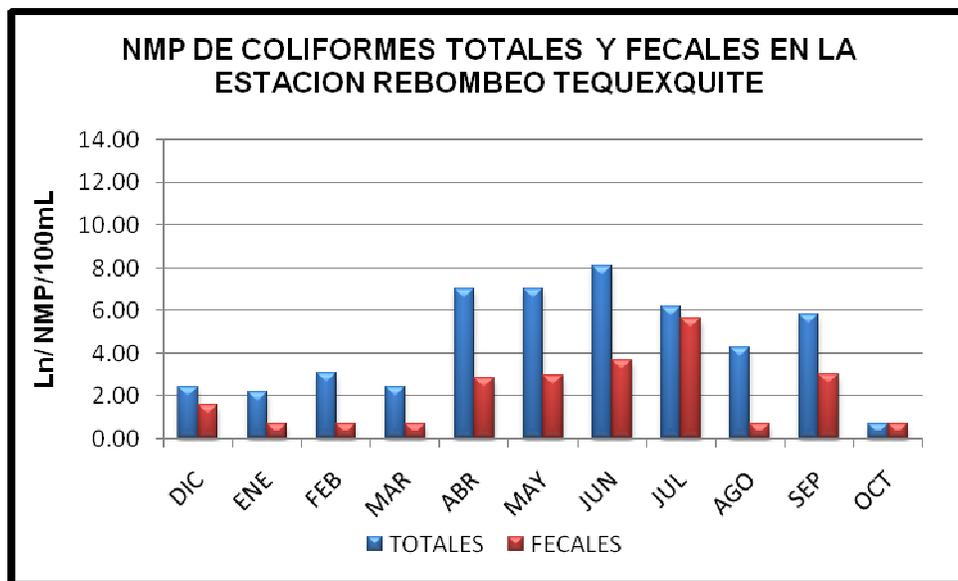
220,000 NMP/100mL en julio. Para el caso de Coliformes Fecales se observa que presenta niveles bajos que van desde 10 (mínima) a 29 NMP/100mL (máxima) y el incremento como ya lo mencionamos anteriormente es a partir del mes de junio (lluvias) con rangos que van desde 800 a 140,000 NMP/100mL esta última cifra se da en el mes de julio seguido de junio que presenta 11,000 NMP/100mL. Debido a las cuentas tan elevadas no fue posible graficar en números naturales por tal motivo se grafico en logaritmo natural para comprobar los datos ir al anexo 1.



Grafica 3.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación del Tanque de Sedimentación Secundario de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.

En la grafica 4 de la estación Rebombeo Tequexquite observamos claramente una gran disminución con relación a las estaciones anteriores para Coliformes Totales sin embargo en esta ocasión hay un ligero incremento en el mes de abril y mayo presentando para ambos casos 1,100 NMP/100mL pero mantiene rangos menores, para la época de lluvias sigue un poco elevado con un mínimo de 2 a

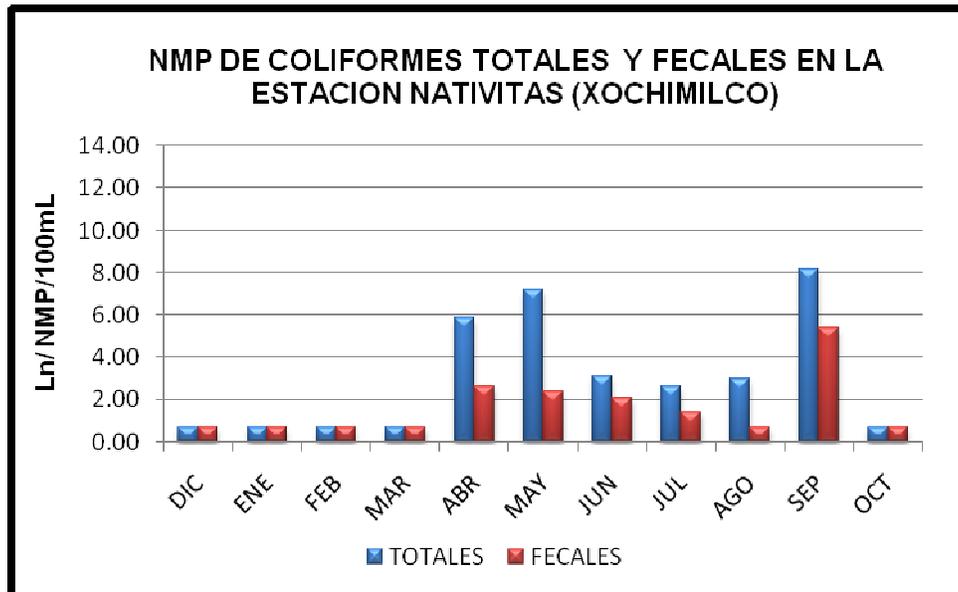
3,300 NMP/100mL para el mes de junio. No es el caso para los Coliformes Fecales ya que tanto en la época de secas como lluvia presentan medidas bajas que van de un mínimo de 2 a un máximo de 280 NMP/100mL este último valor corresponde a el mes de julio. Debido a las cuentas tan elevadas no fue posible graficar en números naturales por tal motivo se grafico en logaritmo natural para comprobar los datos ir al anexo 1.



Grafica 4.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Rebombeco Tequexquite de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.

En la grafica 5 observamos que para la estación Nativitas en el conteo de Coliformes Totales se presentan cuentas bajas para la época de secas que van desde un rango de 2 a 1,300 NMP/100mL siendo esta última cifra para el mes de mayo. Para el caso de la época de lluvias se presenta un ligero incremento en el mes de septiembre con 3,500 NMP/100mL. Sin embargo para el caso de los Coliformes Fecales en ambas épocas del año presentan cifras menores que tiene

un mínimo de 2 y un máximo de 220 NMP/100mL, esto para el mes de septiembre. Debido a las cuentas tan elevadas no fue posible graficar en números naturales por tal motivo se grafico en logaritmo natural para comprobar los datos ir al anexo 1.



Grafica 5.- Conteo de Coliformes Totales y Fecales en la Estación Nativitas (Xochimilco) de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella.

Aislamiento e Identificación de *E. coli*.

El aislamiento se realizó en medio Mac Conkey a partir de los tubos de EC, de estos se obtuvieron 159 muestras lactosa positiva a las que se les realizó la identificación. El resultado mostró que el 73% (118/159) de las muestras corresponden a *E. coli*; 10% (16/159) *Citrobacter freundii*; 6% (9/159) *E. coli* sorbitol negativas y 11% microorganismos no identificados. Los géneros *Klebsiella*

pneumoniae, *Shigella dysenteriae*, *Leclercia adecarboxylata* y *Escherichia fergusonii* se identifican en solo el 1% de las muestras (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentajes de Organismos Identificados por Sistema Automatizado VITEK.

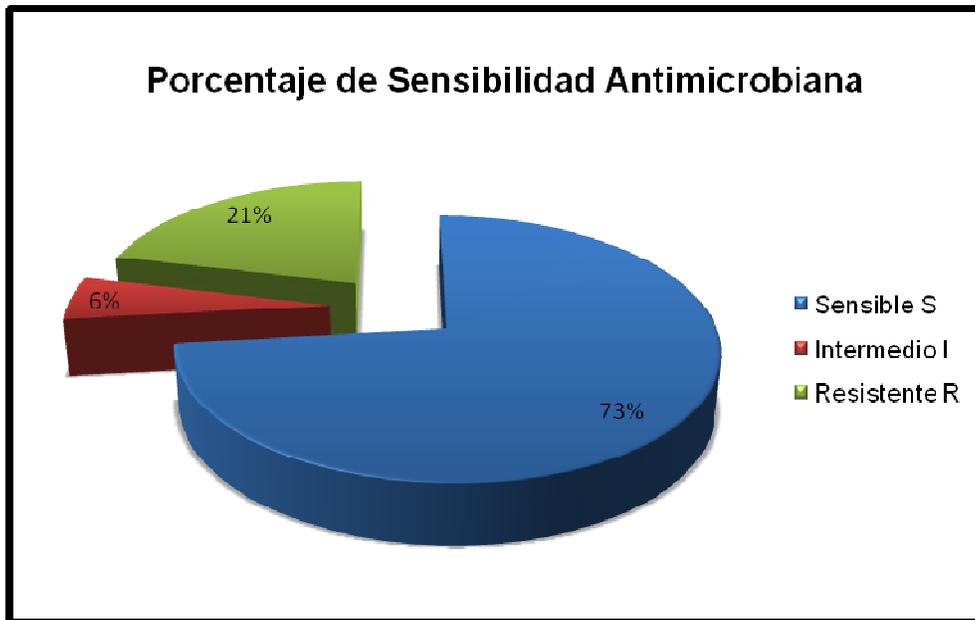
Organismo	Número de Aislamientos	%
<i>Escherichia coli</i>	118	73%
<i>Citribacter freundii</i>	16	10%
<i>E. coli sorbitol (-)</i>	9	6%
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	2	1%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
<i>Escherichia fergusonii</i>	1 c/u	1%
<i>Shigella dysenteriae</i>		
No identificados	11	7%

Prueba de Sensibilidad a los Antimicrobianos.

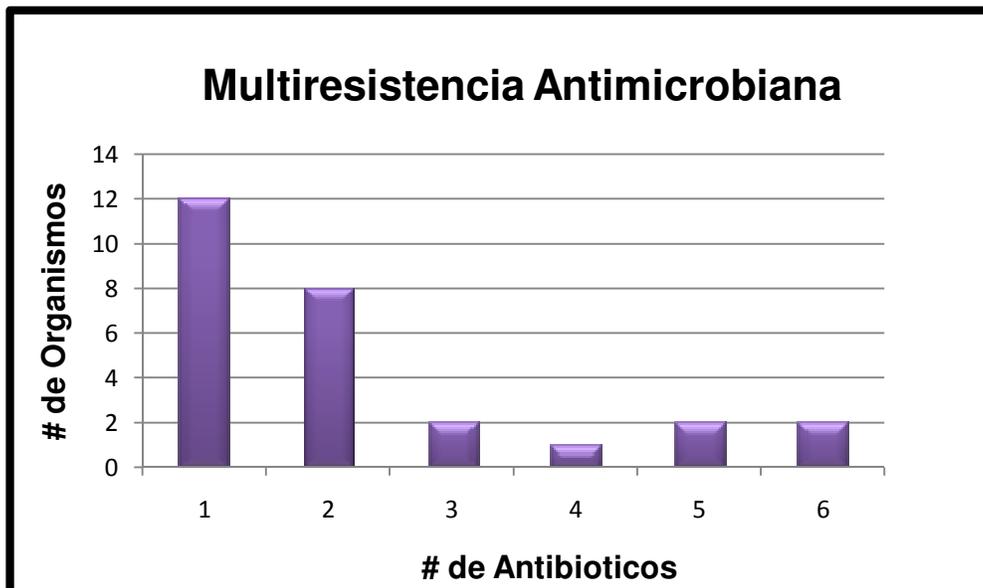
La prueba de sensibilidad a los antimicrobianos se les aplicó solamente a las cepas determinadas como *Escherichia coli* (127). El resultado mostró que 93 (73%) cepas son sensibles a todos los antibióticos, 7 (6%) dieron resultado intermedio y 27 (21%) son resistentes al menos a uno de los antibióticos (Fig. 14). De las 27 cepas resistentes 12 lo fueron a un sólo antibiótico, 8 a dos, y los 7 restantes fueron resistentes a mas de tres antibióticos (Fig. 15).

Las asociaciones de resistencia de las cepas de *E. coli* mas frecuentes muestran asociación a Piperacilina y Trimetoprima sulfametoxazol con el (22%), Piperacilina, Trimeth-sulfa Ciprofloxacina, Norfloxacina, Ofloxacina con el (7.4%), Piperacilina, Trimeth-sulfa Ciprofloxacina Gentamicina, Ofloxacina, Norfloxacina también con el

(7.4%). Asimismo podemos observar que el grupo de los β -Lactámicos es el predominante seguido de las Sulfas y el grupo de las Fluoroquinolonas (Cuadro 7).



Grafica 6.- Sensibilidad Antimicrobiana de Cepas Aisladas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y dos Puntos en Xochimilco.



Grafica 7.- Multiresistencia de Cepas Aisladas en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y dos Puntos en Xochimilco.

Cuadro 7. Patrones de Resistencia a Antimicrobianos Obtenidos de Cepas Aisladas de las Muestras en la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y su Efluente en Nativitas Xochimilco.

PATRONES DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA		
Antibióticos	Número de Organismos	%
Gentamicina	1	3.7%
Piperacilina	2	7.4%
Trimeth-sulfa	9	33.3%
Piperacilina, Nitrofurantoina	1	3.7%
Piperacilina, Trimeth-sulfa	6	22.2%
Nitrofuratoina, Trimeth-sulfa	1	3.7%
Piperacilina, Trimeth-sulfa, Nitrofurantoina	1	3.7%
Piperacilina, Amoxicilina/CA, Cefazolina	1	3.7 %
Piperacilina, Trimeth-sulfa		
Amoxicilina/CA, Cefazolina	1	3.7%
Piperacilina, Trimeth-sulfa		
Ciprofloxacina, Norfloxacina, Ofloxacina	2	7.4%
Piperacilina, Trimeth-sulfa		
Ciprofloxacina Gentamicina, Ofloxacina, Norfloxacina	2	7.4%
Total	27	100%

Identificación de Genes de Virulencia.

Se buscó la detección de genes de virulencia mediante un ensayo de PCR múltiplex, a cepas de *E. coli* aisladas en el presente estudio. El resultado no mostró amplificación para las muestras ambientales, sin embargo para las cepas controles si se ve claramente el amplificado esperado Fig 10 dado que en esta prueba múltiplex no se obtuvo amplificado de los controles It, st y Bfpa se tomo la decisión de hacer cada gen por separado y aun así tampoco se obtuvo amplificado de las muestras analizadas solo los controles fig 11, 12, 13.

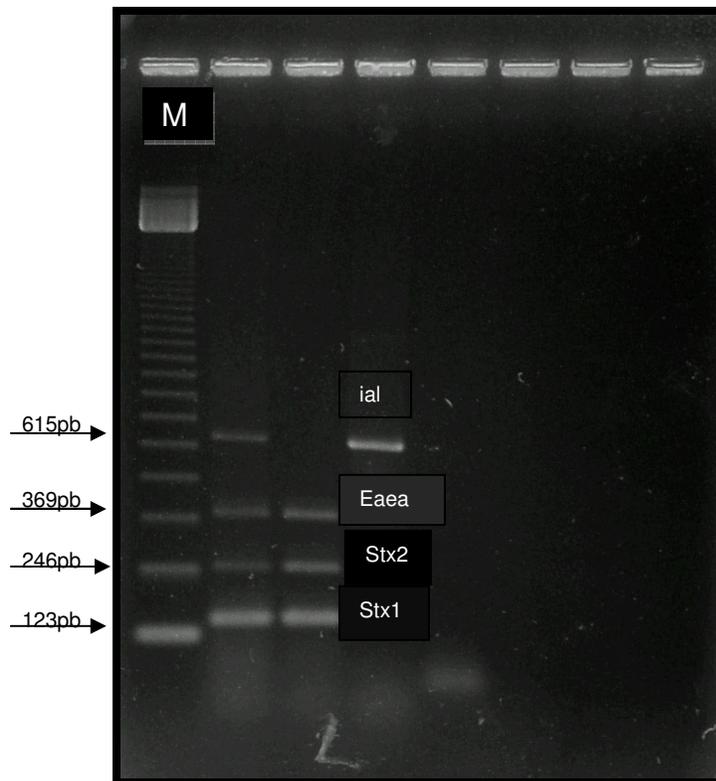


Fig. 10 .Controles de PCR Múltiplex en gel de Agarosa al 2%,35min, 90 VltS. Genes stx1 (150pb)
stx2 (255pb) eaea (384pb) ial (650pb).

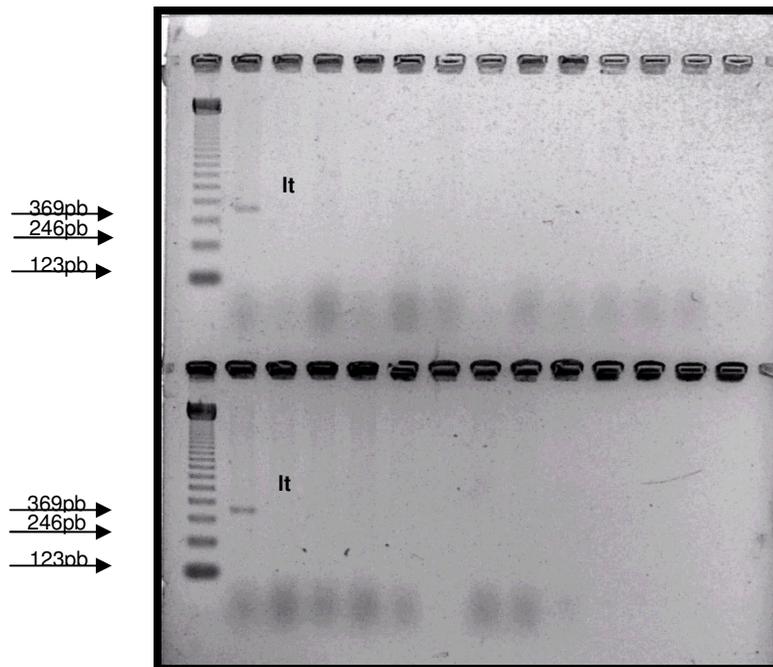


Fig. 11 PCR Sencillo del Gen Lt (450pb) en gel de Agarosa al 2%,35min, 90Vlts.

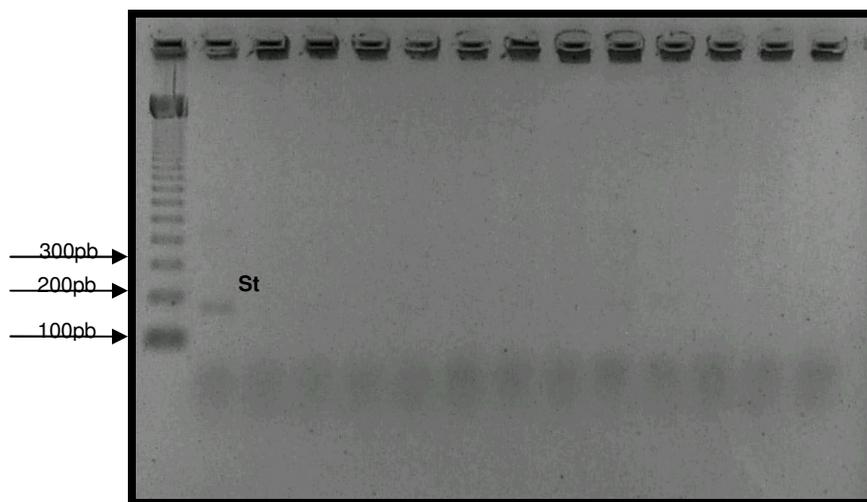


Fig. 12 PCR Sencillo del Gen St (190pb) en gel de Agarosa al 2% 90 Vlts, 35min.

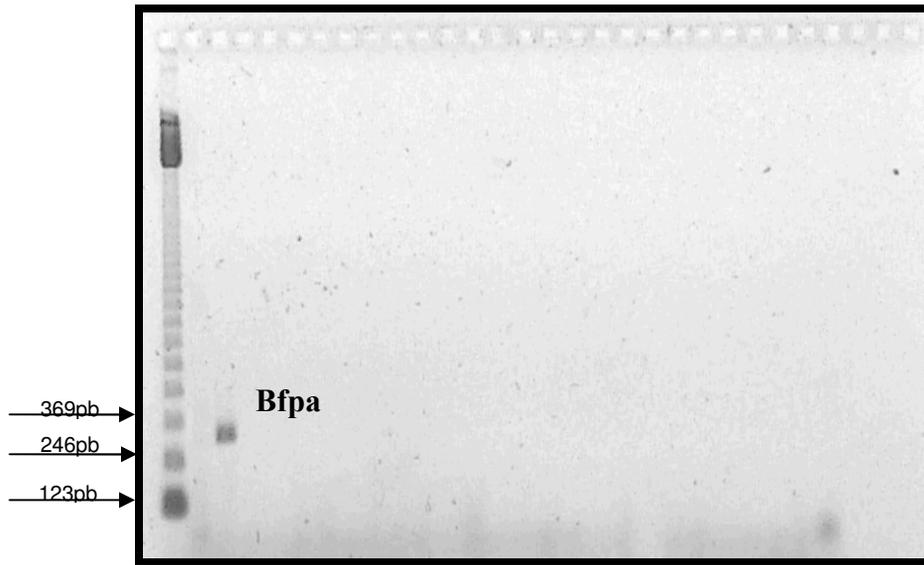


Fig.13 PCR Sencillo del Gen Lt (450pb) en gel de Agarosa al 2% 90 VIts 35min.

DISCUSION.

Debido a la sobrepoblación de la ciudad de México se genera una gran carga de contaminación a los cuerpos de agua circundantes, tanto de desechos industriales como domésticos. Para esto se ha recurrido, aunque de forma no total al tratamiento de las aguas residuales, mismas que se utilizan para varios fines entre ellos mantener el nivel del agua de algunos lagos urbanos. A esta situación no ha escapado Xochimilco y del cual se tomaron desde 1952 (<http://www.femisca.org.mx/publicaciones/XIVcongreso/AguaCosterah.html>) los manantiales que lo alimentaban para aprovecharlos como fuente de abastecimiento de agua potable.

Los canales de Xochimilco que se forman entre las chinampas, constituyen una típica zona turística al sur de la ciudad de México, el agua de estos canales también se aprovecha para el riego agrícola, principalmente en hortalizas y plantas de ornato. El término conocido como “Chinampas” viene de tiempos prehispánicos cuando se comenzó a desarrollar ese peculiar sistema de cultivo y el cual se sigue empleando en la actualidad. Como se ha mencionado cuando se captó el agua de los manantiales para ser utilizada como fuente de abastecimiento a la ciudad de México, se registró la desecación total del lago de Xochimilco, lo que aunado a la deforestación empeoró la situación, que llevó al gobierno de la época el tomar la decisión de desviar el río Churubusco hacia Xochimilco. Ya en 1958 se enviaban aguas de origen industrial y doméstico depuradas en forma incompleta con

tratamiento primario (solo retirando la basura) para irrigar las chinampas (<http://www.femisca.org.mx/publicaciones/XIVcongreso/AguaCosterahtml>) y para mantener el nivel del lago con agua proveniente, y a partir de 1980 los canales de Xochimilco, Tláhuac y Mixquic fueron alimentados con aguas de la planta de tratamiento “Cerro de la Estrella” (Torres, P. 2007). Dicha planta comenzó su operación en 1971, produciendo inicialmente un caudal a nivel de tratamiento secundario de 2,000 L/s. Desde 1994 ha aumentado su capacidad hasta 4,000 L/s de agua mediante un tratamiento a nivel terciario (el cual busca eliminar los contaminantes orgánicos, los nutrientes como los iones fosfatos y nitrato o cualquier exceso de sales minerales) así como la cloración del efluente. (<http://lanic.utexas.edu/project/ilassa/conference/1999/papers2/neira/neira.htm>)

Uno de los objetivos de este trabajo fue la búsqueda de bacterias en la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella, la cual suministra una parte del agua tratada a una cárcel de la delegación, otra parte se distribuye en pipas para usos diversos como riego y lavado de automóviles y el resto se envía al lago de Xochimilco para los fines arriba mencionados.(43) Las bacterias son una de las principales contaminantes de estas aguas por lo que su detección es importante ya que la supervivencia de las mismas está relacionada con diferentes factores físico y químicos del ambiente, los resultados obtenidos de algunos de estos, como OD, T y pH se muestran en los cuadros 3, 4 y 5.

El oxígeno es una limitante para el desarrollo de bacterias anaeróbicas pero no para algunas enterobacterias como *Escherichia coli* (Presscot, 2004). Nosotros

observamos un incremento del OD conforme avanza el tratamiento del agua, estos datos son coincidentes con el trabajo realizado por Luna en el 2006, tal incremento es un indicativo del tratamiento adecuado del agua y en cierta medida tales valores determinan la presencia de materia orgánica vertida a los cuerpos de agua.

Dado que el oxígeno disuelto en las aguas puede agotarse más rápidamente, de lo que es remplazado por la atmósfera, y puesto que las bacterias, los protozoarios y gusanos de lodo compiten por el oxígeno, cuando los elementos nutritivos orgánicos son abundantes, y consume oxígeno esta condición afecta la distribución de las formas de vida en el agua (Turk. 1981).

Otro de los factores importante para el desarrollo de las bacterias es el pH del agua los valores adecuados van de 5.5 a 8.0, nosotros encontramos en la planta de tratamiento un promedio anual de 7.3, presentándose únicamente en el mes de octubre un pH alcalino de 8.7. Aunque los microorganismos crecen a menudo en medios con un amplio rango de pH, su tolerancia tiene un límite y variaciones intensas en el mismo pueden dañar a los organismos alterando la membrana plasmática o inhibiendo la actividad de las enzimas y proteínas transportadoras, también pueden modificar la ionización de las moléculas de nutrientes, disminuyendo por eso, su disponibilidad para el microorganismo (Presscott 2004).

Un factor igualmente importante es la temperatura, en un ambiente natural llega a variar debido a los cambios climáticos, la dimensión y el movimiento constante del

mismo cuerpo de agua: los datos obtenidos en el presente estudio mostraron que en todos los sitios de muestreo se mantiene un promedio mensual entre 17° y 21° C , situación que es favorable para el crecimiento de diferentes microorganismos como es el caso de *Escherichia coli* que tiene un rango de 10° C como temperatura mínima, 37° C como temperatura optima y 45° C como máxima (Presscott 2004), y en el caso de *Vibrio cholerae*, oscila entre 30° y 37° C, datos reportados por Luna F. en el 2006, y Solís A. en 2003. La temperatura es un factor importante que puede ocasionar que la población bacteriana desaparezca o sobreviva por más tiempo en el ambiente (Microbiología del Agua 1985). Ya que el metabolismo en general es más activo a temperaturas altas, los microorganismos crecen rápidamente en un ámbito, lo que se conoce como Temperatura óptima, o bien disminuir su velocidad de crecimiento en valores altos que pueden llegar a ser letales, ocasionar daños al desnaturalizar las enzimas, las proteínas transportadoras, deteriorar las membranas microbianas, la doble capa lipídica la cual puede fundirse y desintegrarse e inhibir su crecimiento, por el contrario las temperaturas muy bajas de membrana se melifica y las enzimas no operan a gran velocidad y la función se ve afectada pero no necesariamente en su estructura y composición (Presscott 2004).

Las aguas naturales poseen una determinada población bacteriana que incluye gran variedad de familias, grupos y géneros. En muchas ocasiones la biota nativa se ve incrementada con la adición de nuevos grupos que provienen del suelo, aire, de las excretas de humanos y animales de sangre caliente, las heces usualmente

se mezclan con la aguas residuales domésticas que pueden ser descargadas en cuerpos de agua (ríos, lagos, presas) que posteriormente serán utilizados como fuente de abastecimiento (Microbiología del agua 1985, Rosas, I. 2004).

El agua contaminada es una importante fuente de transmisión de enfermedades infecciosas, gastrointestinales no sólo por la ingesta de ésta sino también por contacto directo o indirecto a través de la piel, las mucosas o vías respiratorias. La cuantificación de bacterias indicadoras de contaminación fecal (coliformes Totales (CT) y Fecales (CF)), se utilizan para evaluar la calidad sanitaria tanto de alimentos, como de agua de consumo directo e indirecto como es el caso de aguas tratadas para riego, agricultura y recreación (Suárez, 2002). En el presente estudio se realizó la cuantificación de Coliformes Totales y Coliformes Fecales por la técnica del NMP, los resultados obtenidos muestran en los primeros meses de muestreo, para las estaciones que están dentro de la planta de tratamiento el Influyente, para CT se presentan cifras que van de 20 a 2000 NMP/100mL, presentando un incremento notable para el resto del periodo con rangos que van de 18,100 a 370,000 NMP/100mL. A su vez también nos indica que en el caso de CF no se presentan en las mismas proporciones pero presenta un incremento en la época de lluvias que va desde 1,000 a 160,000 NMP/100mL siendo septiembre y octubre los meses más altos para ambos casos. Para la estación de Lodos Activados sucede lo mismo presentándose en la época de secas, cifras que van de un rango de que tiene como mínimo 35 a 2,400 como máximo NMP/100mL para Coliformes Totales y presenta un gran incremento a partir del mes de junio

teniendo gran variación que van desde 2,100 como mínima hasta 360,000 como máximas en esta ocasión para el mes de junio y 220,000 para el mes de octubre. Así mismo en el caso de Coliformes Fecales si presenta una disminución notable en la época de secas que va de 8 a 27 NMP/100mL, sin embargo para los siguientes meses sigue el incremento presentando valores de 1,200 como mínimo a 70,000 NMP/100mL valor máximo. En el caso del Sedimentador Secundario las Coliformes Totales en los primeros meses van de 11 como mínimo a 183 NMP/100mL como máximo pero no es el caso para los meses siguientes por que al igual que en las estaciones anteriores el incremento se da a partir del mes de junio (época de lluvias) con cifras que van desde 2,000 (mínima) a 350,000 (máxima) esta ultima presentándose en junio y 220,000 NMP/100mL en julio. Para el caso de Coliformes Fecales se observa que presenta niveles bajos que van desde 10 (mínima) a 29 NMP/100mL (máxima) y el incremento como ya lo mencionamos anteriormente es a partir del mes de junio (lluvias) con rangos que van desde 800 a 140,000 NMP/100mL esta última cifra se da en el mes de julio seguido de junio que presenta 11,000 NMP/100mL. La mayoría de los valores sobrepasan lo que estipula la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 la cual establece que los límites máximos permisibles de descarga de Coliformes Fecales CF para aguas tratadas es de 1,000 y 2,000 UFC como número más probable por cada 100mL en promedio mensual y diario respectivamente. Para el caso de los dos puntos que tan fuera de la planta el Rebombeo Tequexquite observamos claramente una gran disminución con relación a las estaciones anteriores para Coliformes Totales sin embargo en esta ocasión hay un ligero

incremento en el mes de abril y mayo presentando para ambos casos 1,100 NMP/100mL pero mantiene rangos menores, para la época de lluvias sigue un poco elevado con un mínimo de 2 a 3,300 NMP/100mL para el mes de junio. No es el caso para los Coliformes Fecales ya que tanto en la época de secas como lluvia presentan medidas bajas que van de un mínimo de 2 a un máximo de 280 NMP/100mL este último valor corresponde a el mes de julio. .Al igual en Nativitas en el conteo de Coliformes Totales se presentan cuentas bajas para la época de secas que van desde un rango de 2 a 1,300 NMP/100mL siendo esta última cifra para el mes de mayo. Para el caso de la época de lluvias se presenta un ligero incremento en el mes de septiembre con 3,500 NMP/100mL. Sin embargo para el caso de los Coliformes Fecales en ambas épocas del año presentan cifras menores que tiene un mínimo de 2 y un máximo de 220 NMP/100mL, esto para el mes de septiembre. Estos últimos valores no sobrepasan lo que estipula la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 Esto resultados probablemente se deban a que en la época de secas existe una mayor concentración de bacterias en la atmósfera debido al transporte de las partículas provenientes de las superficies secas, por el contrario en la época de lluvias el número de bacteria disminuye significativamente debido al lavado de la atmósfera (Rosas, I. 2004) creemos que el aumento de las cuentas obtenidas en el presente estudio en la época de lluvias se deba al arrastre de materia orgánica, basura y otros contaminantes. Sugiriendo que el probable aumento de otros microorganismos como algas, protozoarios, afectan directamente la concentración de los coliformes así mismo la presencia de

algún genero específico de las mismas coliformes como es el caso de *Citrobacter* y *Enterobacter* las cuales podemos encontrar con mayor facilidad en el suelo.

Anteriormente en el 2001 Juárez F. cuantifica diversos indicadores de contaminación fecal en los efluentes de dos plantas de tratamiento Cerro de la Estrella y San Luís, cuyos efluentes llegan a los canales de Xochimilco y a diferentes puntos de estos (embarcaderos) obteniendo como resultado para el primer caso 3.2 /100mL UFC y para el segundo caso 2.5/100mL UFC.

Dado que en la zona de Xochimilco se practica la siembra de hortalizas, Rolando y col. en el 2002, realizaron un trabajo con dos de los vegetales más consumidos y cultivados en Xochimilco, que son la lechuga y el cilantro los cuales se consumen crudos por esta razón pueden ser causantes de enfermedades gastrointestinales, al ser regados con las aguas del lago que provienen de las dos plantas de tratamiento antes mencionadas. En el estudio obtuvieron como resultado valores de CF de 75 a 0.43 NMP/g de lechuga y de 150 a 2.10 NMP/g de cilantro. Así mismo Montiel en el 2005 reportó con respecto a CT un promedio anual de 1,591 UFC/100mL obteniendo por estación un intervalo de 244 a 3,930 UFC/100mL y con respecto a CF obtiene un promedio anual de 274 UFC/100mL y por estación un intervalo de 67 a 1,602 UFC/100mL, los cuales también sobrepasan la norma. Lo cual nos sugiere que tanto los asentamientos irregulares y las probables fugas del sistema de alcantarillado público, podría anular el efecto o disminuir la calidad el agua que sirven las plantas de tratamiento, e incrementar el efecto de la contaminación ya que cualquier tipo de esta facilita la transmisión de agentes

enteropatógenos, mediante cultivos contaminados y por contacto directo con el agua por los trabajadores de las chinampas.

A su vez hay que mencionar que el proyecto UNESCO-Xochimilco de enero 2005 (45), menciona que la retroalimentación del lago con el agua tratada y aguas negras ha traído diversas consecuencias como cambios en el ecosistema, provocar enfermedades en la población debido a la contaminación. Por otro lado Sandoval (2003) menciona que la calidad sanitaria del agua rebasa los límites máximos permisibles por lo cual no se debe hacer uso de ésta para fines agrícolas.

Posteriormente la identificación de las bacterias aisladas en los diferentes puntos de muestreos arrojó diversos géneros, encontrando a *E. coli* en una proporción de 76% y *E. coli* sorbitol negativas con el 6%, algunas otras con un 10% como fue el caso de *Citrobacter freundii*, este es un hecho importante ya que *E. coli* es un organismo causante de diferentes cuadros diarreicos de importancia clínica.

Estos datos tienen relación con el estudio realizado con anterioridad por Montiel en el 2002, quien identificó un total de 46% de *E. coli* y 23% de *Vibrio cholerae* en los canales de Xochimilco. Por otro lado Ramírez C. en el 2002 identificó un total de 151 cepas lactosa positiva de los canales de Xochimilco, de las cuales un 82% correspondían a *E. coli*, estos valores se presentaron en la época de secas, mientras que se obtuvo un 69% en época de lluvias; lo anterior puede deberse a que *Escherichia coli* es un microorganismo cosmopolita y básicamente no necesita

de condiciones ambientales tan estrictas, como otros microorganismos, además el agua de lluvia puede arrastrar consigo residuos o sustancias contaminadas hacia los canales favoreciendo que se incremente el número de dichos microorganismos en el agua.

Los primeros estudios sobre resistencia bacteriana se enfocaron sobre fenómenos de mutación de origen cromosomal, sin embargo estudios realizados por investigadores japoneses (Watanabe, T. 1963), demostraron que las bacterias entéricas presentaban resistencia múltiple a diferentes antibióticos y que esta resistencia no se debía a cambios cromosómicos sino a la presencia de DNA extracromosómico transferible, llamado factor R (resistencia por plásmido). Este hecho constituye una gran amenaza ya que es transferible entre bacterias además de ser altamente estable, esto les confiere resistencia a diferentes antibióticos y se asocia con otras características como la capacidad del microorganismo de colonizar y diseminarse a los tejidos del hospedero (Molina 2003). Existen diferentes mecanismos que se involucran en la resistencia bacteriana, alteración de los receptores del antibiótico, disminución de la cantidad del antimicrobiano que se puede relacionar con el receptor por escasa penetración intracelular o por la eliminación rápida de la droga, por destrucción o inactivación del antimicrobiano principalmente por acción enzimática y sintetizando vías metabólicas resistentes (Molina 2003).

Las pruebas de resistencia a antimicrobianos realizadas en el presente estudio muestran en el cuadro 7 un mayor porcentaje del grupo de los β -lactámicos principalmente a piperacilina, seguido de trimetoprim sulfametoxazol siendo los más comunes ya sea actuando solos o en combinación con otro antibiótico, otra de las cuestiones importantes que hay que resaltar de este trabajo es que encontramos cepas resistentes a tres o más antibióticos y que son los más comúnmente prescritos por las diferentes instituciones o que están al alcance de la gente, esta resistencia a los antimicrobianos es un problema importante y cambiante que dificulta el manejo y control de las enfermedades, una de las razones por las que existe una falta terapéutica al emplear antibióticos para tratar a pacientes con infecciones bacterianas es el surgimiento de bacterias resistentes a estos antibióticos. (Solórzano, 1998). El estudio de sensibilidad realizado por Valdés en el 2002 a 189 cepas de *E. coli*, mostró que el 1.2% fueron multiresistentes (resistencia a más de un antibiótico), del total, 38% de la resistencia fue a trimetoprim/sulfametocxazol, 40% para ampicilina, 32% a ticarcilina y 32% a piperacilina. Por otro lado Juárez F. en el 2003 probó un total de 235 colonias de *E. coli* para determinar la susceptibilidad a los antibióticos, obteniendo como resultado que las dos principales frecuencias de resistencia se observaron a la tetraciclina en 108 de 235 cepas (46%), y a la ampicilina en 82 de 235 (35%). Las *E. coli* aisladas de los canales de Xochimilco son multiresistentes a ticarcilina, ampicilina, amoxicilina y ampicilina entre otras. Lo que sugiere que la difusión de los genes de resistencia a antibióticos pueden ser transferidos a otras bacterias en el intestino de animales o humanos. Por otro lado el estudio realizado

por Estrada-García en el 2005 en tres hospitales de la ciudad de México obtiene principalmente dos patrones de resistencia con 65% al trimetoprim-sulfametoxazol, 73% a ampicilina y el 53% fue resistente a más de tres antibióticos, por lo tanto 105 de 170 (62%) fueron multiresistentes, 145 (85%) fueron resistentes a tetraciclina, 124 (73%) a ampicilina, 127 (75%) a trimetoprim-sulfametoxazol, 29 (17%) a clorafenicol, 4 (2%) a gentamicina, y ninguno a ciprofloxacina y cefotaxima. Esto puede deberse a que estos antibióticos son los más prescritos en los diferentes centros de salud, o que las bacterias se han hecho resistentes debido a cuatro principales causas: modificación del antibiótico, modificación del sitio blanco mediante mutaciones espontáneas en los genes que codifican para estos, cambio en la permeabilidad de la bacteria debido a la modificación de las proteínas de la membrana externa, expulsión del antibiótico mediante la sobreproducción de bombas de eflujo lo cual impide el acceso del mismo al sitio blanco de la bacteria (Silva, 2006).

La transmisión de enfermedades diarreicas se relaciona con la falta de higiene y en muchos de los casos con la pobreza, así como con la desnutrición y las malas condiciones sanitarias. *E. coli* es uno de los agentes causantes de diarreas, esta bacteria ha desarrollado ciertos factores de virulencia para causar daño al hospedero promoviendo la colonización, facilitando la supervivencia de las bacterias infectantes, en las que destaca su adherencia mediada por pilis o fimbrias, la presencia de enterotoxinas, las adhesinas no fimbriales y las cápsulas.

Con relación a los ensayos de PCR múltiple y simple para determinar genes relacionados con virulencia mostraron que las cepas carecen de estos. Lo cual no concuerda con los resultados obtenidos por Chávez (2007) en su estudio realizado en diferentes ambientes en los cuales ella encuentra amplificaciones del gen LT (696pb) en muestras clínicas de adultos con mayor frecuencia, seguida de muestras de alimentos y de aire. Asimismo para el gen ST (186pb) es el grupo de muestras de niños las que presentan el mayor porcentaje, seguido del agua y alimentos, sin embargo nuestro estudio no concuerda con el nuestro probablemente por que no son los mismos primers que nosotros utilizamos por tales características nuestros resultados no son comparables. Lo mismo sucede con el estudio que realizo Aguilar-Medina en el que encuentra CT Y CF en su estudio ya que ninguna de las muestras resulto positiva para los genes de ST, LT los cuales también nosotros buscamos. Lo que nos sugiere que la bacteria los perdió o probablemente a que estos genes de virulencia se encuentran en un plásmido o en el cromosoma de la bacteria ya que el conservarlos generaría un gasto de energía que la bacteria podría requerir para su sobrevivir en el medio

CONCLUSIONES.

- ❖ Los parámetros ambientales determinados *in situ* en el presente estudio Temp. OD, y pH se mantuvieron estables.
- ❖ El conteo de indicadores de contaminación Coliformes Totales y Fecales en la época de lluvia para todas las estaciones sobrepasa lo que establece la NOM-001-ECOL-1997.
- ❖ Del total de organismos aislados 159, el 73% (118/159) de las muestras corresponden a *E. coli*; 10% (16/159) *Citrobacter freundii*; 6% (9/159) *E. coli* sorbitol negativas y 11% microorganismos no identificados. Los géneros *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella dysenteriae*, *Leclercia adecarboxylata* y *Escherichia fergusonii* se identifican en solo el 1% de las muestras.
- ❖ La prueba de sensibilidad aplicada a *Escherichia coli* (127), el resultado mostró que 93 (73%) cepas son sensibles a todos los antibióticos, 7 (6%) dieron resultado intermedio y 27 (21%) son resistentes al menos a uno de los antibióticos.
- ❖ De las 27 cepas resistentes 12 lo fueron a un sólo antibiótico, 8 a dos, y los 7 restantes fueron resistentes a mas de tres antibióticos.
- ❖ De los antibióticos a los que las cepas mostraron más resistencia fueron a el grupo de los β -Lactámicos (piperacilina, amoxicilina, etc) y al grupo de las sulfas (Trimetoprima sulfametoxazol).
- ❖ Las asociaciones de resistencia de las cepas de *E. coli* mas frecuentes son a Piperacilina y Trimetoprima sulfametoxazol con el (22%), Piperacilina,

Trimeth-sulfa Ciprofloxacina, Norfloxacina, Ofloxacina con el (7.4%); Piperacilina, Trimeth-sulfa Ciprofloxacina Gentamicina, Ofloxacina, Norfloxacina también con el (7.4%).

- ❖ La detección de genes de virulencia mediante un ensayo de PCR múltiple y simple, a muestras aisladas de *E. coli*. no mostró amplificación.

Anexo I

Tabla 1. Conteo de Coliformes Totales NMP/100mL.

ESTACION	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	PROMEDIO
INFLUENTE	3.5×10^2	2.0×10^2	2.4×10^3	1.7×10^2	2.4×10^3	2.0×10^1	1.2×10^3	1.8×10^4	3.5×10^4	1.8×10^5	3.7×10^5	5.6×10^4
LODOS	1.1×10^2	1.5×10^3	9.6×10^1	4.5×10^1	2.4×10^3	3.5×10^1	3.6×10^5	2.1×10^3	2.0×10^4	4.0×10^4	2.2×10^5	5.8×10^4
SECUNDARIOS	1.8×10^2	1.1×10^1	2.2×10^1	1.8×10^2	3.7×10^1	1.8×10^2	3.5×10^5	2.2×10^5	2.0×10^3	3.7×10^3	3.7×10^3	5.2×10^4
REBOMBEO	1×10^1	9	2.2×10^1	1.1×10^1	1.1×10^3	1.1×10^3	3.3×10^3	4.9×10^2	7.0×10^1	3.3×10^2	2	5.8×10^2
NATIVITAS	2	2	2	2	3.6×10^2	1.3×10^3	2.2×10^1	1.4×10^1	2.0×10^1	3.5×10^3	2	4.7×10^2

Tabla 2. Conteo de Coliformes Fecales NMP/100mL.

ESTACION	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	PROMEDIO
INFLUENTE	6.6×10^1	1.7×10^1	1.7×10^1	1.1×10^1	9.7×10^1	1.1×10^1	1.0×10^3	9.2×10^3	4.0×10^3	4.0×10^4	1.6×10^5	1.9×10^4
LODOS	8	7	8	2.3×10^1	2.3×10^1	2.7×10^1	7.0×10^4	1.2×10^3	4.0×10^3	7.0×10^3	1.8×10^4	9.1×10^3
SECUNDARIOS	1.0×10^1	1.1×10^1	2.2×10^1	2.9×10^1	2.5×10^1	2.6×10^1	1.1×10^4	1.4×10^5	2.0×10^3	8.0×10^2	1.1×10^3	1.4×10^4
REBOMBEO	5	2	2	2	1.7×10^1	1.9×10^1	4.0×10^1	2.8×10^3	2	2.0×10^1	2	3.5×10^1
NATIVITAS	2	2	2	2	1.4×10^1	1.1×10^1	8	4	2	2.2×10^2	2	2.4×10^1

Médios

Caldo Lactosado.

Extracto de Carne	3g
Peptona de Gelatina	5g
Lactosa	5g
Agua destilada	1000 mL

Preparación: Suspender 13 gramos del polvo en un litro de agua destilada y distribuir en tubos de 16x 150mm con campana de Durham. Esterilizar a 121° C por 12 a 15 min.

Caldo EC

Componentes:

Triptosa o tripticasa	20g
Lactosa	5g
Mezcla de sales biliares	1.5g
Fosfato dibásico de potasio $K_2 HPO_4$	4g
Fosfato monobásico de potasio KH_2PO_4	1.5g
Cloruro de Sódio	5g
Agua destilada	1000 mL

Preparación: Disolver 37g en un litro de agua destilada y distribuir en tubos de 16x 150mm con campana de Durham. Esterilizar a 121° C por 12 a 15 min.

Caldo Bilis Verde Brillante (BVB)

Componentes:

Peptona	10g
Lactosa	10g
Bilis de buey deshidratada	20g
Verde brillante	0.0133g
Agua destilada	1000 mL

Preparación: Disolver 40g en un litro de agua destilada distribuir en tubos de 16x150 con campana de Durham. Esterilizar a 121° C por 12 a 15 min.

Solución Salina 0.85%

Componentes:

Cloruro de sodio	8.5g
Agua destilada	1000ml

Solución Salina 0.45%

Componentes:

Cloruro de sodio	4.5g
Agua destilada	1000ml

Preparación:

Se pesa la sal y se disuelven en un litro de agua destilada, y se esteriliza a 121°C durante 15 minutos.

Mac Conkey

Componentes:

Peptona	17g
Peptona de proteasa	3g
Lactosa	10g
Sales biliares No 3	1.5g
Cloruro de Sódio	5g
Agar	13.5g
Rojo neutro	0.03g
Violeta cristal	0.001g
Agua destilada	1000 mL

Preparación: suspender 50g del medio en 1000mL de agua destilada, calentar y agitar frecuentemente hasta disolver por completo, hervir por 1 minuto. Esterilizar en autoclave a 121° C durante 15min dejar enfriar y vaciar en placas estériles.

Gelosa especial. Medio de conservación

Componentes:

Base de gelosa sangre	20g
Agar bacteriológico	15g
Extracto de carne	1.5g
Agua destilada	1000 mL

Preparación: esterilizar los viales a ocupar junto con el agua, suspender toda la mezcla anterior en el agua y calentar hasta disolver el medio, ajustar el pH a 7.4. Vaciar 2.5mL en los viales e inclinar.

Medio MIO (Movilidad-Indol-Ornitina)

Componentes:

Extracto de levadura	3.0g
Peptona de gelatina	10.0g
Peptona de caseína	10.0g
L-ornitina	10.0g
Dextrosa	1.0g
Púrpura de bromocresol	0.02g
Agar	2.0g
Agua destilada	1000ml

Preparación:

Disolver 31 g del medio en un litro de agua destilada, obteniendo un pH final de 6.4, se calienta hasta disolverse completamente, distribuir de 3 a 4 ml en tubos. Esterilizar a 121 °C durante 15 minutos, enfriarlos y dejarlos en reposo en posición vertical hasta que solidifiquen.

TSA (Difco). Agar soya tríptica

Componentes:

Digerido pancreático de caseína	15g
Digerido enzimático de soya	5g
Cloruro de sodio	5g
Agar	15g
Agua destilada	1000 mL

Preparación: Suspender 40g del medio en 1000mL de agua destilada, caliente agitando frecuentemente y hierva durante 1minuto para disolver por completo. Esterilizar en autoclave a 121° C durante 15min, dejar enfriar y vaciar en placas o tubos.

Agar de Manutención (Agar nutritivo modificado)

Componentes:

Extracto de carne	4.0g
Peptona	10.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Agar	15.0g
Agua destilada	1000ml

Preparación:

Se disuelven todos los componentes en un litro de agua destilada, dejando reposar 15 minutos. Calentar hasta su completa disolución, cuidando de no alcanzar la temperatura de ebullición. Esterilizar a 121 °C por 15 minutos y vaciar en cajas petri estériles, esperando a que solidifique.

Técnica Número Más Probable (NMP)

La presencia y la extensión de la contaminación fecal es un factor importante en la determinación de la calidad de un cuerpo de agua. Las heces contienen una gran variedad de microorganismos y formas de resistencia de los mismos, involucrando organismos patógenos, los cuales son un riesgo para la salud pública al estar en contacto con el ser humano.

El método se basa en la inoculación de alícuotas de la muestra diluida o sin diluir, en una serie de tubos de un medio de cultivo líquido que contenga lactosa.

Los tubos se examinan a las 24 y 48hrs de incubación a 37° C. cada uno de los tubos que muestra turbidez con producción de gas

Bioquímicas IMVIC.

a) Indol (I). Consiste en cultivar la especie en estudio en un caldo rico en triptofano; después de 24-48 horas de crecimiento se determina la presencia de indol con reactivos específicos como P-dimetil-aminobenzaldehído (reactivo de Kovack) el que adquiere un color rojo en presencia de indol. En la práctica se emplean medios combinados tales como sulfuro-indol-movilidad (SIM), movilidad-indol-ornitina (MIO) o indol-nitrato.

b) Rojo de metilo (M). El rojo de metilo es un indicador de pH. Actúa entre pH 4,2 y 6,3 variando desde rojo (pH 4,2) a amarillo (pH 6,3). Por lo tanto, permite determinar la formación de ácidos que se producen durante la fermentación de un carbohidrato. El rojo de metilo se prepara con 0,1 g de este reactivo en 300 mL de alcohol etílico y se diluye en 500 mL de agua.

c) Voges-Proskauer (VI). Permite determinar la formación de acetil metil carbinol, el que es un producto intermediario de la fermentación que conduce a la formación de 2,3 butanodiol y que caracteriza a ciertas especies de las Enterobacteriaceae. El medio más utilizado es el metilo-Voges-Proskauer (RM/VP).

d) Agar-citrato (C). Determina si el organismo bacteriano en cuestión se desarrolla o no en un medio mineral que contiene citrato como única fuente de carbono.

Anexo II

Extracción de DNA.

- 1.- En 500ml de TE 1x colocar una asada de la muestra y homogenizar en vortex.
- 2.- Centrifugar por 3 minutos a 13,000 rpm, y decantar una sola vez.
- 3.- Agregar 600ml de solución de lisis y homogeneizar en vortex.
- 4.- Incubar un periodo de 5 minutos a 80° C y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- 5.- Añadir 3µl de RNAs incubar 15 minutos a 37° C dejar enfriar a temperatura ambiente.
- 6.- Agregar 200µl de solución precipitadora de proteínas, incubar en hielo 5 minutos.
- 7.- Añadir 400µl de Cloroformo y homogenizar en vortex, centrifugar por 3 minutos a 14,000 rpm.
- 8.- En otro tubo con 500 µl de Izopropanol agregar la parte acuosa del tubo anterior.
- 9.- Homogenizar sin vortex suavemente, y centrifugar por 3 minutos a 14,000 rpm y decantar una vez.
- 10.- Agregar 600µl de Etanol al 70% homogenizar y centrifugar por 3 minutos a 14,000 rpm.
- 11.- Repetir el paso anterior (enjuague) dos veces y decantar con mucho cuidado para no perder el producto y finalmente aspirar o deja secar.

12.- Rehidratar con 100 µl de solución rehidratadora por un periodo de 24hrs o 60 minutos a 65° C.

PCR: Esta técnica utiliza una enzima denominada ADN polimerasa que copia cadenas de ADN en un proceso que simula la forma en la que el ADN se replica de modo natural en la célula. Este proceso, que ha revolucionado todos los campos de la biología, permite a los científicos obtener gran número de copias a partir de un segmento determinado de ADN.

Fundamento.

La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica que permite amplificar más de un millón de veces un ADN obtenido a partir de una región seleccionada del genoma, utilizando para ellos las propiedades de la Taq Polimerasa, siempre que se conozca una parte de la secuencia de nucleótidos.

Desnaturalización.- Para que comience la reacción es necesario que el DNA se encuentre en cadena sencilla lo cual se consigue aplicando temperatura de 90° a 95° C que produce la ruptura de los puentes de hidrogeno y por tanto la separación de ambas cadenas. Para conseguir la completa separación de las hebras de todas las muestras la temperatura debe mantenerse por unos minutos, si el DNA se desnaturaliza parcialmente este se renaturalizara rápidamente evitando así una eficiente hibridación de los primers y una posterior extensión. En este ciclo las cadenas de DNA se separan para formar cadenas sencillas, un cebador se une a la cadena de DNA y otro a la complementaria, la síntesis se

lleva a cabo en la región de interés y con distancias variables en la región flanqueante produciendo fragmentos de long variable.

Hibridación.- Esta fase también se llama de emparejamiento, una vez que el DNA esta desnaturalizado se disminuye la temperatura hasta un rango comprendido entre 40º- 60º C para que se pueda producir la unión de los primers a las secuencias flanqueantes del fragmento que se desea amplificar. Cuando comienza este segundo ciclo hay dos tipos de patrón 1) las cadenas de DNA original, 2) las cadenas de DNA recién sintetizadas que constan de una región de interés y de fragmentos de long variable de la región flanqueante en el extremo 3'. Cuando se una este último patrón en este ciclo solo se copia la región de interés.

Extensión.- La Taq Polimerasa sintetiza una cadena complementaria. La enzima lee la secuencia de la cadena opuesta y extiende los cebadores agregando nucleótidos en el orden en que pueden emparejarse. En este tercer ciclo la región de interés recién sintetizada (sin regiones flanqueantes) actúa como patrón. La molécula de DNA original esta todavía presente y lo estará hasta el final, sin embargo después de unos pocos ciclos el fragmento de DNA recién sintetizado se establece como patrón predominante.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Aguilar–Medina, J., y Mazari-Hiriart, M. 2003. *Escherichia coli* virulence Factors in Water from the Xochimilco Area, Mexico City. International Water Associaton. 4th. Internacional Symposium on Wastewater Reclamation and Reuse. México, D. F., 19 noviembre **2003**.
- 2.- Benavides, P. L.; Aldama, O. L. y Vázquez, H. J. **2005**. Vigilancia de los niveles de uso de los antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. Salud Pública Mex. 47: 219-226.
- 3.- Blanco, M; Blanco, J; Blanco, J. **1995**. Factores de virulencia y serogrupos O de *Escherichia coli* causantes de infecciones urinarias comunitarias. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. 13(4): 236-241.
- 4.- Cravioto, A., Eslava, C. **2003**. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* patógenos comunes en el lago de Xochimilco. Latinoamericanas en Ciencias. 23:3 UNAM, México.
- 5.- Cortés-Ortiz, L. A., Rodríguez–Angeles, G., Moreno –Escobar, E. A, Tenorio-Lara, J. M., Torres-Mazadiego, B. P., Montiel-Vázquez, E. **2002**. Brote causado por *Escherichia coli* en Chalco, México. Salud Pública de México. 44(4): 297-302.
- 6.- Chávez, B. E; et al. **2007**. Identification de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas en diferentes ambientes. Enfermedades Infeciosas y Microbiología. 27(3): 70-74.

- 7.- Estrada-García, T., Cerna, J. F., Pacheco-Gil., Velázquez, R. F., Ochoa, T. J., Torres, J. y Du Pont, H. L. **2005**. Drug-resistant Diarrheogenic *Escherichia coli*, México. *Emerging Infections Diseases*. 11(8):1306-1308.
- 8.- García, R.; Chávez, J. **2002**. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City, Mexico. *Rev. Latinoamericana de Microbiología*. 44(1): 24-30.
- 9.- García, V. A. **2002**. Aislamiento y Caracterización de Bacterias Patógenas de *Ambystoma mexicanum*. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México.
- 10.- Grant, W. D. Y Long, P. E. **1989**. *Microbiología Ambiental*. Acribia. España. pp 221.
- 11.- Figueroa, J. **2003**. Microbiological Indicators of Water Quality in the Xochimilco Canals, Mexico City. *Salud Pública de México*. 45(5): 389-395.
- 12.- Freeman, B. A. **1985**. *Microbiología de Burrows*. 22ª Interamericana. México, D. F. pp 1180.
- 13.- Huguet, J; Huapaya, B. y Salazar, E. **2002**. Determinación de factores de virulencia asociados a *Escherichia coli* enterohemorrágica en cepas peruanas aisladas entre 1999-2001. *Medicina Experimental y Salud Pública*. 19(2): 63-67.
- 14.- Koneman, E. W. **1985**. *Diagnóstico Microbiológico*. Médica Panamericana. México. Pp 533.
- 15.- Levinson, W. E. Y Jawetz, E. *Microbiología e Inmunología. El Manual Moderno*. México, D. F. pp 816.
- 16.- Luna, F. K. A. **2006**. Aislamiento y caracterización serológica de *Vibrio cholerae*, aislado de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella y raíz de lirio en los canales de Xochimilco. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. 53p.

- 17.-Mac Faddin, D. F. **1991**. Pruebas Bioquímicas para la identificación de Bacterias de importancia Clínica. Panamericana. México, D. F. pp 45-197.
- 18.- Manual de Microbiología del agua. 3^a ed 1985. México: Subsecretaría de Infraestructura Hidráulica. Dir. Gral. De desarrollo tecnológico. Subdir. De Investigación y Entrenamiento. Pp 285.
- 19.- Margall, N; et al. **1997**. *Escherichia coli* enterohemorrágica. Rev. Esp. Salud Pública. 71(5): 437-443.
- 20.- Molina, L. J. **2003**. Los Antimicrobianos en Microbiología y Parasitología Médicas. Méndez Editores. 3^{era} México. pp 26-30.
- 21.- Molina, L. J. y Cravioto, A. **2003**. Enterobacterias Patógenas, *Escherichia coli* en Microbiología y Parasitología Médicas. Méndez Editores. 3^{era} México. Pp 92-98.
- 22.- Montiel, R. C. **2005**. Evaluación de la calidad bacteriológica del agua de los canales de Xochimilco y caracterización serológica de *Escherichia coli*. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. 47pp
- 23.- Montiel, C., Ramirez, P., Martínez, B., Ibarra, R., Hurtado, D., Robles, E., Navarro, A., Cravioto, A., Eslava, C. **2003**. *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* patógenos comunes en el plago de Xochimilco. Latinoamericana en Ciencias. 23:3 UNAM. México.
- 24- Nataro, J. P. y Koper, J. B. **1998**. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Reviews. 11(1): 142-201.
- 25.- Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997. Publicada en el diario oficial de la federación el 21 de septiembre de **1998**.
- 26.- Torres, P. "Rescatan el último río vivo del Distrito Federal" *El Sol de México*. México D. F. 17 junio **2007**.

- 27.- Prescott, M. L., Harley, P. J., Klein, D. A. **2002**. Microbiología. 5ta Mc Graw-Hill España. Pp 1239.
- 28.- Ramírez, C. S. Y. **2007**. Aislamiento e identificación de cepas patógenas de *Escherichia coli* en muestras de agua del lago de Xochimilco. Tesis de Licenciatura. UAM Xochimilco. 58p. México D. F.
- 29.- Rodríguez, G. **2002**. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública Mex. 44: 464-475.
- 30.- Romalho, R.S. **1996**. Tratado de Aguas residuales. Reverte, S.A. Barcelona. P. 21-77.
- 31.- Sandoval, C. J. **2003**. Calidad Microbiológica y Físicoquímica del agua de los canales de Xochimilco, D. F. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias UNAM. México D. F.
- 32.- Seoanez, C. M. **1999**. Ingeniería Medioambiental Aguas Residuales Urbanas. 2da, Mundi-prensa. México, D. F. p 11-139.
- 33.- Silva, S.J. **2006**. Resistencia a Antibióticos. Revista Latinoamericana de Microbiología. 48 (2): 105-112.
- 34.- Solis, S. G. A. **2005**. Aislamiento y caracterización de *Vibrio cholerae* de los canales de Xochimilco. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. 61p.
- 35.- Solórzano-Santos, F. y Miranda-Navales, Ma. G. **1998**. Resistencia de bacterias respiratorias y entéricas a antibióticos. Salud Pública de México. 40(6): 510-516.
- 36.- Turk, A. M., Turk, J., Wittes, J. **1981**. Ecología Contaminación Medio Ambiente. Interamericana, México. P 115-141.

- 37.- Valencia, M. P.; Sandominski, P. S; Cabrera, M. L; y Ortiz, H. C. **1996**. Patología de las diarreas Bacterianas. En Enfermedades Diarreicas del Niño. 10^{ed}. Interamericana. México. Pp 469
- 38.- Valdez, S. H. A. **2002**. Análisis patogénico y Molecular de *Escherichia coli* Aerolizada de sistemas de tratamiento de aguas residuales de la Ciudad de México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México D. F. 69p.
- 39.- Vidal, J. E., Cásales-Román, A., Gutiérrez-Jiménez, J., Navarro-García, F. Patogénesis, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. Salud Pública de México. 49(5): 376-386.
- 40.- Walter, T. S. **2000**. Microbiología. Mc Graw-Hill Interamericana. México, D. F. pp 532.
- 41.- Watanabe, T. **1963**. Infective heredity of multiple drugs resistant in bacteria. Bacterial. Rev. 27: 87-115.
- 42.<http://www.femisca.org.mx/publicaciones/XIVcongreso/AguaCosterahtml>
- 43.<http://lanic.utexas.edu/project/ilassa/conference/1999/papers2/neira/neira.htm>
- 44.- <http://www.visitasguiadas.df.gob.mx/visitas/residuales.html>
- 45.- Acuerdo por el que se establecen los criterios ecológicos de calidad de agua CE-CCA-001/89
- 46.- <http://www.monografias.com/trabajo10/formulac/formulac.shtml#>