

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS

DETECCIÓN DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN FECAL EN AGUAS TRATADAS COMO UN RIESGO POTENCIAL DE INFECTO- CONTAGIOSIDAD EN LA POBLACIÓN EXPUESTA DE TIJUANA Y ROSARITO B.C.

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias de la Salud

Presenta

QFB. JONATHAN VINCENT LOPEZ BAENA

Director de Tesis

Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala

Co-Director

MSP. Luis Alberto Alcántara Jurado

Tijuana, Baja California; Junio del 2018.

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FOLIO No. 239

Tijuana, B. C., a 7 de marzo de 2018

C. Jonathan Vincent López Baena
Pasante de: Maestro en Ciencias de la Salud
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

Es propuesto, por los C. Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala y MSP. Luis Alberto
Alcántara Jurado

Quienes serán las responsables de la calidad de trabajo que usted presente,
referido al tema DETECCIÓN DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN BACTERIAS
INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN FECAL EN AGUAS TRATADAS COMO UN RIESGO
POTENCIAL DE INFECCION-CONTAGIOSIDAD EN LA POBLACIÓN EXPUESTA DE TIJUANA
Y ROSARITO B.C.

el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I- ANTECEDENTES
- II- JUSTIFICACIÓN
- III- PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA
- IV- OBJETIVO GENERAL
- V- OBJETIVOS ESPECÍFICOS
- VI- MÉTODOS
- VII- METODOLOGÍA
- VIII- PROCEDIMIENTO
- IX- RESULTADOS
- X- CONCLUSIONES
- XI- DISCUSIONES
- XII- BIBLIOGRAFÍA
- XIII- ANEXOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA


Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala
Directora de Tesis


MSP. Luis Alberto Alcántara Jurado
Co-Director de Tesis


Dr. José Luis González Yáñez
Sub-Director Secretario


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director

RESUMEN

Existe una emergencia mundial en la investigación de bacterias resistentes a antibióticos que representan un gran riesgo de contagiosidad, y su abordaje terapéutico es limitado. Para el control de estas bacterias es importante estudiar su ecología, orígenes y evolución, para crear medidas de control de uso y disposición de antimicrobianos, prevenir la diseminación de bacterias indicadoras de contaminación fecal con características de resistencia, conocer el impacto ambiental que genera esta diseminación a los cuerpos de agua y su reúso en áreas recreacionales expuestas a la población. **Objetivo.** Detectar Enterobacterias resistentes a β -Lactámicos en PTAR como riesgo a la población expuesta. **Metodología.** Se analizó agua residual tratada para reúso urbano en la población de Tijuana B.C., mediante la detección de perfiles de resistencia por métodos de difusión en disco (Jarlier y método modificado para inactivación de carbapenemes). **Resultados.** Se aislaron 30 cepas de Enterobacterias: 40% *Escherichia coli*, 34%, *Proteus vulgaris*, 17% *Proteus mirabilis*, 3% *Klebsiella pneumoniae*, 3% *Proteus penneri*, 3% *Providencia stuartii*. El 89.2% de las cepas mostraron un perfil de β -Lactamasa de espectro extendido (BLEE), y un 40% fue productor de carbapenemasas. **Conclusión.** Se sabe que existe conexión entre el perfil de resistencia y la exposición a los antibióticos teniendo un impacto ambiental y en salud pública. Promover el control de uso y descarga proveniente de la industria farmacéutica, agricultura, hospitales y desechos humanos es de suma importancia para mejorar la calidad del agua residual tratada, evitando un riesgo de infección por estas bacterias resistentes en la población expuesta.

AGRADECIMIENTOS

A ti.....

Índice

RESUMEN	3
AGRADECIMIENTOS	4
Abreviaturas	7
ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	11
ÍNDICE DE GRÁFICAS	12
I. ANTECEDENTES	14
1.1 PLANTAS TRATADORAS DE AGUA RESIDUAL	14
1.2 Agua residual.....	14
1.3 AAgua Residual tratada.....	15
1.4 Niveles de Tratamiento del agua residual.....	15
1.5 Tipos de tratamiento de aguas residuales.....	16
1.6 Importancia que tiene el tratamiento de aguas residuales.....	17
1.7 Normatividad que determina la cálda de las aguas residuales tratadas..	18
1.8 Reusó en servicios al público con contacto directo.....	19
1.9 Reusó en servicios al público con contacto indirecto u ocasional.....	19
1.10 Proyecto morado.....	19
1.11 Importancia del reusó de agua.....	20
1.12 Situación del reúso de agua tratada en México.....	21
1.13 CESPT impulsando el reusó.....	22
II. JUSTIFICACIÓN.....	39
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	41
IV. OBJETIVO GENERAL	45
V. OBJETIVOS ESPECIFICOS	45
VI. HIPOTESIS	46
VII. METODOLOGÍA	47
VII.1 Materiales y equipo.....	47
VII.1.1 Tratamiento Pre-analítico.....	47
VII.1.2 Toma de muestra.....	48
VII 1.3. Variables.....	48
VII 1.4 Tratamiento analítico.....	48

VII 1.5 Análisis de resultados.....	49
PROCEDIMIENTO	50
VIII 1. Tratamiento pre-analítico en la toma de muestras en plantas tratadoras de agua residual.	50
VIII 2. Tratamiento analítico para el conteo de coliformes totales, fecales y <i>Escherichia coli</i> presuntiva.	50
VIII 3. Aislamiento e identificación de bacterias indicadoras de contaminación fecal (familia <i>Enterobacteriaceae</i>).....	51
VIII 4. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Micro dilución (CMI).	52
VIII 5. Detección de BLEE: Método Jarlier (Comité de la sociedad francesa de microbiología).....	54
VIII 6. Método modificado para la inactivación de carbapenemes (mCIM CLSI, 2017).	55
VIII 7. Datos	56
VIII. RESULTADOS.....	57
IX 1. Análisis de puntos críticos para la toma de muestra en las plantas tratadoras de agua residual (PTAR).....	57
Prueba de tamizaje de para la detección de BLEE.....	61
Prueba de tamizaje para detección de carbapenemasas.	63
Susceptibilidad antimicrobiana por concentración mínima inhibitoria	64
IX. DISCUSIÓN.....	78
X. CONCLUSIONES	84
XI. BIBLIOGRAFÍA	86
XII. ANEXOS.....	94
Anexo 1.....	94
Anexo 2.....	95
Anexo 3.....	95

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
A/S	Ampicilina/Sulbactam
Ak	Amikacina
Am	Ampicilina
ATCC	American Type Culture Collection
Aug	Amoxicilina/ac. Clavulanico
Azt	Aztreonam
BLEE	Betalactamasas de espectro extendido
BRA	bacterias resistentes a antibióticos
Cax	Ceftriaxona
Caz	Ceftazidima
Caz/CA	Ceftazidima/ac. Clavulanico
CESPT	Comisión estatal de servicios públicos de Tijuana
Cf	Cefalotina
CFE	Comisión federal de electricidad
Cft	Cefotaxima
Cft/CA	Cefotaxima/ac. Clavulanico
Cfz	Cefazolina
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CM	Carga microbiana
CMI	Concentración mínima inhibitoria
Cp	Ciprofloxacino
Cpe	Cefepime
Crm	Cefuroxima
Ctn	Cefotetan
Ctx	Cefotaxima
DBO	Demanda bioquímica de Oxígeno

Etp	Ertapenem
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
Gm	Gentamicina
GRA	Genes de resistencia a antibióticos
HHRA	Evaluación del riesgo para la Salud Pública
I	Intermedio
Imp	Imipenem
IMTA	Instituto mexicano de tecnología
InDRE	Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica
INSP	Instituto nacional de salud Pública
LM	La morita
Lvx	Levofloxacin
MAR	Resistencia múltiple a antibióticos
mCIM	Método modificado para la inactivación de carbapenemes
MDR	Multidrogo resistente
Mer	Meropenem
MO	Monte de los olivos
MR-VP	Rojo de metilo-Voges Proskauer
Mxf	Moxifloxacin
NMP	Número más probable
OMS (WHO)	Organización mundial de la salud
OPS	Organización panamericana de la salud
P/T	Piperacilina/Tazobactam
Pi	Piperacilina
PTAR	Planta tratadora de agua residual
QMRA	Evaluación cuantitativa de riesgo microbiano
R	Resistente
R1	Rosarito 1
RN	Rosarito norte
RVBA	Rojo violeta bilis agar

S	Sensible
SENTRY	Antimicrobial Surveillance Program
SIREVA	Sistema Regional de Vacunas
TAR	Tratamiento de agua residual
TBS	Caldo soya tripticasa
Te	Tetraciclina
Tgc	Tigeciclina
Tim	Ticarcilina/Ac. Clavulanico
To	Tobramicina
UV	Ultravioleta
m ³	Metro cubico
m ³ /s	Metro cubico sobre segundo
L/s	Litro sobre segundo
pH	Potencial de Hidrogeno
h/l	Horas sobre litros
mg/L	Miligramos sobre litro
°C	Centígrados
Psi	Libra sobre pulgada
m/L	Mililitros sobre litros

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1	Límites máximos permisibles de contaminantes (NOM-003-SEMARNAT-1997).	23
2	Antibióticos dentro del Panel Neg combo 44 de Microscan.	47
3	Análisis de puntos críticos para la toma de muestras en las plantas tratadoras de agua residual en Tijuana y Rosarito, Baja California.	51
4	Selección de puntos críticos.	51
5	Distribución de muestras en las PTAR.	52
6	Concentración de coliformes totales (NMP/100 ml) en las muestras de PTAR de Tijuana y Rosarito, Baja California.	53
7	Distribución de grupos bacterianos aislados en PTAR (n=30).	54
8	Distribución de Enterobacterias por PTAR (n=30).	54
9	Aislamiento y etiología bacteriana por muestra en las PTAR.	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Métodos biológicos para el tratamiento de aguas residuales.	13
2	Fórmula para el cálculo del índice de resistencia antimicrobiana múltiple	33
3	Posición geográfica de las PTAR en Tijuana y Rosarito B.C.	42
4	Muestreo en las PTAR de Tijuana y Rosarito B.C.	43
5	Diluciones de las muestras analizadas para la determinación de NMP.	44
6	Esquema de tratamiento analítico de las muestras de agua residual.	46
7	Panel Negativo 44 Microscan por CMI.	48
8	Prueba de tamizaje para β -lactamasas espectro extendido (Amoxicilina/Ac. Clavulanico (AmC), Ceftazidima (CAZ), Cefotaxima (CTX), Efecto de sinergismo del inhibidor con los discos (efecto huevo).	55
9	Método modificado para la inactivación de carbapenemes. Meropenem (MEM) (CLSI 2017).	57

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Grafica	Descripción	Página
1	Distribución de Enterobacterias aisladas en las PTAR (n=30).	53
2	Resultados de la prueba de tamizaje de Jarlier por cada aislamiento.	56
3	Resultados de la prueba de tamizaje de mCIM por cada aislamiento.	57
4	Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana por antibióticos analizados por el método semi automatizado Microscan.	58
5	Resultados de porcentaje de resistencia en las cepas a las diferentes familias de antibióticos analizadas.	59
6	Resultados del análisis de multidrogo resistencia para las cepas aisladas.	60
7	Resultados del porcentaje susceptibilidad antimicrobiana a los grupos de bacterias aislados.	61
8	Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR >0.2 los grupos de bacterias aislados.	62
9	Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana para los grupos de bacterias lactosa positivos y lactosa negativos	63
10	Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR >0.2 los grupos bacterianos.	64
11	Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana para para las diferentes PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.	65
12	Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR >0.2 para las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.	66

- 13 Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana para la entrada y salida de las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C. 67
- 14 Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR >0.2 para la entrada y salida de las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C. 68
- 15 Resultados del índice MAR >0.2 para los grupos de Enterobacterias aisladas en las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C. 69
- 16 Resultados del índice MAR >0.2 para la entrada y salida de las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C. 70

I. ANTECEDENTES

1.1 PLANTAS TRATADORAS DE AGUA RESIDUAL

Es una instalación donde a las Aguas Residuales se les retiran los contaminantes, para hacer de ella un agua sin riesgos a la salud y/o medio ambiente al disponerla en un cuerpo receptor natural (mar, ríos o lagos) o por su reusó en otras actividades de nuestra vida cotidiana con excepción del consumo humano (no para ingerir o aseo personal).

1.2 Agua residual

Se consideran Aguas Residuales a los líquidos que han sido utilizados en las actividades diarias de una ciudad (domésticas, comerciales, industriales y de servicios). Comúnmente las aguas residuales suelen clasificarse como:

- Aguas Residuales Municipales. Residuos líquidos transportados por el alcantarillado de una ciudad o población y tratados en una planta de tratamiento municipal.
- Aguas Residuales Industriales. Las Aguas Residuales provenientes de las descargas de Industrias de Manufactura.

Otra forma de denominar a las Aguas Residuales es en base al contenido de contaminantes que esta porta, así se conocen como:

- Aguas negras a las Aguas Residuales provenientes de inodoros, es decir, aquellas que transportan excrementos humanos y orina, ricas en sólidos suspendidos, nitrógeno y coliformes fecales.
- Aguas grises a las Aguas Residuales provenientes de tinajas, duchas, lavamanos y lavadoras, que aportan sólidos suspendidos, fosfatos, grasas y coliformes fecales, esto es, aguas residuales domésticas, excluyendo las de los inodoros.

- Aguas negras industriales a la mezcla de las aguas negras de una industria en combinación con las aguas residuales de sus descargas. Los contaminantes provenientes de la descarga están en función del proceso industrial, y tienen la mayoría de ellos efectos nocivos a la salud si no existe un control de la descarga (Cuido el agua, 2010).

1.3 A Agua Residual tratada

Las Aguas Residuales son conducidas a una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) donde se realiza la remoción de los contaminantes, a través de métodos biológicos o fisicoquímicos. La salida (efluente) del sistema de tratamiento es conocida como Aguas Residuales tratadas.

1.4 Niveles de Tratamiento del agua residual

En la formulación, planeación y diseño de un sistema de tratamiento se pueden considerar objetivos diferentes, teniendo en cuenta la disponibilidad de recursos económicos y técnicos, así como los criterios establecidos para descarga de efluentes o eficiencias mínimas y, eventualmente, motivaciones ecológicas.

En un desarrollo gradual de sistemas de tratamiento se pueden considerar, como objetivos iniciales y principales del tratamiento de aguas residuales, los siguientes:

- Remoción de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO).
- Remoción de sólidos suspendidos.
- Remoción de patógenos.

Posteriormente ha sido común agregar:

- Remoción de nitrógeno y fósforo.

Finalmente se involucra:

- Remoción de sustancias orgánicas refractarias como los detergentes, fenoles y pesticidas.

- Remoción de trazas de metales pesados.
- Remoción de sustancias inorgánicas disueltas.

La complejidad del sistema de tratamiento es, por tanto, función de los objetivos propuestos. Teniendo en cuenta el gran número de operaciones y procesos disponibles para tratamiento de agua, es común hablar de pretratamiento, tratamiento primario, tratamiento secundario y tratamiento terciario o avanzado de aguas residuales (Cuido el agua, 2010).

En general, el pretratamiento tiene como objeto remover del agua residual aquellos constituyentes que pueden causar dificultades de operación y mantenimiento en los procesos posteriores o que, en algunos casos, no pueden tratarse conjuntamente con los demás componentes del agua residual.

El tratamiento primario se refiere comúnmente a la remoción parcial de sólidos suspendidos, materia orgánica u organismos patógenos, mediante sedimentación u otro medio, y constituye un método de preparar el agua para el tratamiento secundario. Por lo regular, el tratamiento primario remueve alrededor del 60% de los sólidos suspendidos del agua residual cruda y un 35 a 40% de la DBO.

1.5 Tipos de tratamiento de aguas residuales.

Un sistema de tratamiento de Aguas Residuales es seleccionado de acuerdo a los objetivos que se fijan al buscar la remoción de los contaminantes. Existen diferentes sistemas de tratamiento que implican procesos biológicos, procesos fisicoquímicos, y en ocasiones se presentan ambos. En México para el tratamiento de aguas residuales municipales generalmente se emplean métodos biológicos los cuales se subdividen en las siguientes categorías: aerobios y anaerobios.

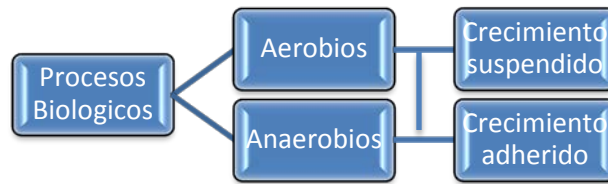


Figura 1. Métodos biológicos para el tratamiento de aguas residuales (CESPT 2012).

Ya en la clasificación dada por el tipo de crecimiento (adherido y/o suspendido), los sistemas de tratamiento son nombrados de acuerdo al principio de operación (p.e. lodos activados, zanjas de oxidación, lagunas anaerobias, película fija, filtros percoladores, etc.). Una de las tecnologías más utilizadas en México es la de lodos activados.

1.6 Importancia que tiene el tratamiento de aguas residuales.

En la formulación, planeación y diseño de un sistema de tratamiento se pueden considerar objetivos diferentes, teniendo en cuenta la disponibilidad de recursos económicos y técnicos, así como los criterios establecidos para descarga de efluentes o eficiencias mínimas y, eventualmente, motivaciones ecológicas.

1. Proteger el Salud Pública y el Medio Ambiente. Si las aguas residuales van a ser vertidas a un cuerpo receptor natural (mar, ríos, lagos), será necesario realizar un tratamiento para evitar enfermedades causadas por bacterias y virus en las personas que entran en contacto con esas aguas, y también para proteger la fauna y flora presentes en el cuerpo receptor natural.
2. El Reusó del Agua Tratada. Existen actividades en las que no se requiere utilizar agua potable estrictamente y que se pueden realizar con agua tratada, sin ningún riesgo a la salud, tales como:
 - Riego de Áreas Verdes (glorietas, camellones, jardines, centro recreativos, parques, campos deportivos, fuentes de ornato).
 - Industriales y de servicios (lavado de patios y nave industrial, lavado de flota vehicular, sanitarios, intercambiadores de calor, calderas, cortinas de agua, etc.).

En este caso, la función del tratamiento de las aguas residuales será el garantizar que no existirán efectos nocivos a la salud por entrar en contacto con el agua tratada en las actividades antes descritas. Este tipo de objetivos involucran tratamientos de mayor nivel, que generalmente involucran la implementación de las mejores tecnologías y las calidades logradas son casi tan buenas como las generadas para el agua potable (De La Peña *et al*, 2013)

1.7 Normatividad que determina la calidad de las aguas residuales tratadas.

La Organización Mundial de la Salud asesora desde hace tiempo a los países en cuestiones sanitarias, ambientales y técnicas para ayudarles a establecer y mejorar los sistemas de utilización de las aguas residuales, especialmente en la región del Mediterráneo Oriental. En las regiones áridas y semiáridas del mundo, la falta de agua limita el desarrollo agrícola e industrial. Los gobiernos tratan continuamente de encontrar nuevos medios para suplementar los escasos recursos hídricos disponibles (Ayres *et al*, 1996)

En México, existen tres normas que la ley contempla para regular la descarga de aguas residuales en aras de la protección a la salud humana y al medio ambiente.

Aquellos generadores de aguas residuales quienes requieran realizar la descarga de estas al sistema de alcantarillado municipal deben cumplir con la NOM-002-SEMARNAT-1996 la cual establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Los generadores de aguas residuales provenientes de las actividades industriales, comercios y de servicios son principalmente para los que aplica esta norma.

Aquellos generadores de aguas residuales quienes requieran realizar la descarga de estas a un cuerpo receptor natural tendrán como marco normativo la NOM-001-SEMARNAT-1996, que es la que regula los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Las plantas de tratamiento municipales o generadores de agua

residual que coexisten en las cercanías del cuerpo receptor natural son para quienes generalmente aplica esta norma.

Por su parte para quienes deseen realizar un reusó del agua tratada la NOM-003-SEMARNAT-1997 es la que regula la calidad del agua para su reusó en las formas de contacto directo e indirecto con el ser humano. Las nuevas PTAR generalmente ya son diseñadas para cumplir con esta norma y generan por tal un agua limpia y segura para las actividades que ello comprende. Son las plantas municipales las que generalmente buscan este tipo de objetivos (SEMARNAT, 2013).

1.8 Reusó en servicios al público con contacto directo.

Es el que se destina a actividades donde el público usuario esté expuesto directamente o en contacto físico. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana se consideran los siguientes reúsos: llenado de lagos y canales artificiales recreativos con paseos en lancha, remo, canotaje y esquí; fuentes de ornato, lavado de vehículos, riego de parques y jardines.

1.9 Reusó en servicios al público con contacto indirecto u ocasional.

Es el que se destina a actividades donde el público en general esté expuesto indirectamente o en contacto físico incidental y que su acceso es restringido, ya sea por barreras físicas o personal de vigilancia. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana se consideran los siguientes reúsos: riego de jardines y camellones en autopistas; camellones en avenidas; fuentes de ornato, campos de golf, abastecimiento de hidrantes de sistemas contra incendio, lagos artificiales no recreativos, barreras hidráulicas de seguridad y panteones.

1.10 Proyecto morado.

El Proyecto Morado es un plan activado por la Comisión Estatal de Servicios Públicos de Tijuana (derivado de un estudio de factibilidad) para promover el reusó

de aguas tratadas en el riego de áreas verdes, en la industria y construcción, con el fin de obtener una mayor conservación del agua potable para uso doméstico. Se trata de una Nueva Cultura Ecológica del Agua para impulsar el reusó del agua como el riego de glorietas, camellones, jardines, nuevos parques urbanos, campos deportivos y todas aquellas áreas que contribuyan a elevar la calidad ambiental del entorno social urbano.

El proyecto también contempla la aplicación del agua de reusó en la industrial, en empresas manufactureras y de servicios, abriendo la factibilidad de atraer nuevas inversiones que vendrían a reactivar la economía de la región, evitando el gasto de agua potable en el lavado de patios, naves, vehículos, calderas, etc (Ramírez *et al*, 2004)

1.11 Importancia del reusó de agua.

Uno de los mayores problemas del siglo XXI consistirá en administrar juiciosamente los recursos hídricos. El empleo de aguas de calidad inferior (p.e. aguas residuales, desagües o agua salobre) se convertirá sin duda en una práctica corriente a medida que las fuentes de agua dulce se vayan haciendo cada vez más escasas en todo el mundo. El reusó del agua mediante distintos niveles de tratamiento resulta conveniente para propiciar un mayor aprovechamiento de este recurso vital.

Como ya se ha mencionado, el abastecimiento de agua para la ciudad de Tijuana y Playas de Rosarito se realiza mayoritariamente a través del acueducto Río Colorado-Tijuana contando con una capacidad de 4.0 m³/s (este también aporta para la ciudad de Tecate). Con dicha aportación y la que se generará al entrar en funcionamiento la ampliación del acueducto para 1.3 m³/s adicionales, tenemos resuelto el abastecimiento de agua potable sólo para otra década más, aunado a ello los antecedentes de escasez pluvial y por ende la pobre recarga de nuestros mantos acuíferos en la región, hacen necesario realizar un uso integral de este recurso y buscar otras alternativas para su suministro en el futuro. La rentabilidad en el aprovechamiento de agua residual tratada puede valorarse desde la perspectiva de una planta de tratamiento que produzca y comercialice el agua

tratada a diversos usuarios, o bien desde el punto de vista de plantas de tratamiento que aprovechen el gasto producido para el consumo interno dentro de una industria o empresa.

Por ejemplo, para regar un campo de fútbol se necesitan 2,628 m³ de agua al mes. Pero, si se utiliza agua residual tratada para este fin, se liberará agua potable suficiente para abastecer a 243 personas durante un mes.

Sin embargo, la grave situación que enfrenta México para el abastecimiento del agua potable va a ser valorada sólo cuando repercuta con un mayor impacto económico en la sociedad en general. No existe realmente una concientización ciudadana que propicie un mayor desarrollo de este sector a corto plazo.

El reúso de agua es sin duda una de las partes más importantes en la gestión de un uso más consciente y eficiente del recurso hídrico, contribuyendo así a su preservación y mayor disponibilidad para las necesidades básicas de la población (Cortés *et al*, 2011)

1.12 Situación del reúso de agua tratada en México.

Actualmente las aguas residuales municipales se reúsan en regiones con poca disponibilidad de agua, aun cuando en la mayoría de los casos se hace en forma inapropiada. Las aguas residuales de la Ciudad de México se utilizan en la agricultura en el distrito de riego 03 (aguas no tratadas). En la industria, se usan aguas residuales tratadas en la papelera de San Cristóbal, Chiapas. En Lechería Edomex. y Tula, Hgo., se emplean para enfriar los sistemas de generación de energía eléctrica. En recreación se han utilizado aguas residuales tratadas en el llenado de lagos como el de Chapultepec, San Juan de Aragón y Xochimilco, entre otros. Además se usan para el riego de áreas verdes.

El reúso industrial de las aguas residuales municipales es aún muy restringido, se identifican actualmente sólo dos tipos de práctica. Una de ellas corresponde a plantas industriales que se abastecen directamente del alcantarillado, y ellas mismas se encargan del tratamiento para cumplir con sus requerimientos de

calidad. En este caso están las termoeléctricas del Valle de México y Tula de la Comisión Federal de Electricidad (CFE), la refinera de Pemex en Tula y Altos Hornos de México, en Monclova. La termoeléctrica de Tula, por ejemplo, cuenta con una planta que trata de 850 a 1300 L/s de agua residual del Gran Canal para emplearla en enfriamiento. La otra práctica es el tratamiento y suministro de agua tratada a un reducido grupo de empresas, algunas de ellas localizadas en la ciudad de Monterrey, y otras en la zona metropolitana del Valle de México.

El reusó en Monterrey fue la primera experiencia en su tipo en el país y data de 1955. La empresa Agua Industrial de Monterrey opera una planta de 300 L/s y distribuye el agua a varias industrias. En el estado de México la planta de San Juan Ixhuatepec, S.A. abastece a los socios industriales con 160 L/s de agua tratada que capta del Río de Los Remedios (Cortés *et al*, 2011)

1.13 CESPT impulsando el reusó.

Actualmente la Comisión Estatal de Servicios Públicos de Tijuana (CESPT) está desarrollando proyectos sobre el reusó del agua, con alcances tales como un reusó de tipo urbano (riego de áreas verdes y actividades industriales), así como la recarga de nuestras fuentes de abastecimiento de agua a nivel local. Para ello tiene contemplados una serie de estudios necesarios para garantizar la calidad del agua a reusar y la salud de quienes entren en contacto con ella.

A continuación se presenta una reseña de una parte de estos estudios, en orden de aparición:

- La Agencia de Protección al Ambiente EUA (EPA) - Comisión de Cooperación Ecológica Fronteriza (COCEF) y CESPT desarrolló el "Estudio de Factibilidad para el Reusó de Aguas Residuales Tratadas dentro de la Zona Urbana de Tijuana, Baja California", identificará áreas potenciales para la reutilización del efluente tratado, las necesidades de infraestructura y red de distribución de agua residual tratada (líneas moradas), volumen del

efluente tratado que podría ser reutilizado, y las condiciones potenciales de la calidad del agua, determinando los costos estimados.

- En adición el Instituto Mexicano de Tecnología de Agua (IMTA) y CESPT, desarrolló un estudio más denominado "Estudio Geo hidrológico de la Zona del Valle de las Palmas, Arroyo de las Palmas y Zona Perimetral de la Presa Abelardo L. Rodríguez", que tiene como principal objetivo la evaluación de las condiciones actuales de la zona de recarga en el Acuífero del Valle de las Palmas, Arroyo Las Palmas y sitio probable para una laguna de maduración (ubicada en cercanías del Rancho Santa Anita) con fines de almacenamiento para su posterior reusó, adicionalmente se evalúa la zona perimetral de la Presa Abelardo L. Rodríguez con el fin de revisar sus condiciones para la creación de una zona de forestación y conservación. Este estudio en conjunto con el desarrollado por la UABC permitirán solo proponer los destinos del reusó, lo siguiente será evaluar la forma de concretar los proyectos que de aquí emerjan.
- Por otro lado, Universidad Autónoma de Baja California (UABC) y CESPT, realizaron el estudio "Caracterización Estacional del Efluente de una Planta de Tratamiento de Agua Residual de Lodos Activados en La Región Tijuana-Playas de Rosarito y Determinación de la Calidad del Agua Tratada para su Reusó Potable Indirecto". El objetivo del estudio es avalar la calidad lograda en el tratamiento de aguas residuales y comparar esta calidad con la necesaria para recargar acuíferos y/o embalses naturales que permitan su posterior potabilización, sin descartar otras actividades de reusó como la irrigación de áreas verdes, consumo industrial y/o agricultura.
- Actualmente se está realizando el Proyecto Piloto de Identificación de Agua Tratada en el Acuífero de Valle de Las Palmas.

1.14 Calidad Microbiológica del Agua.

El agua, además de ser una sustancia imprescindible para la vida, por sus múltiples propiedades, es ampliamente utilizada en actividades diarias tales como la agricultura (70-80%), la industria (20%), el uso doméstico (6%), entre otras,

convirtiéndose en unos de los recursos más apreciados en el planeta (Arcos *et al*, 2005)

El control de la calidad microbiológica del agua de consumo y de desecho, requiere análisis dirigidos a determinar la presencia de microorganismos patógenos; los agentes involucrados en la transmisión hídrica son las bacterias, virus y parásitos, que pueden causar enfermedades con diferentes niveles de gravedad, desde gastroenteritis simple hasta casos fatales de diarrea, disentería, hepatitis o fiebre tifoidea. Es importante destacar que cada vez es más frecuente que las enfermedades de origen hídrico, estén relacionadas con la presencia de organismos emergentes o reemergentes.

Determinar el tipo de microorganismos presentes en el agua y su concentración proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad de la misma y para tomar decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de ecosistemas, evitando así el riesgo de contaminación de las personas y el ambiente (Arcos *et al*, 2005).

1.15 Microorganismos indicadores de contaminación fecal.

Los microorganismos indicadores de contaminación fecal que tienen un comportamiento similar a los patógenos, concentración y reacción frente a factores ambientales, pero son más fáciles, rápidos y económicos de identificar.

Un microorganismo indicador de contaminación fecal debe reunir las siguientes características:

1. Ser constituyente normal de la microbiota intestinal de individuos sanos.
2. Estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotermos.
3. Estar presentes cuando los microorganismos patógenos intestinales lo estén.
4. Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación.

5. Debe ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotermos.
6. Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas, su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o un poco superior a los de origen fecal.
7. Debe ser fácil de aislar y cuantificar.
8. No debe ser patógeno.

La presencia de coliformes totales debe interpretarse de acuerdo con el tipo de aguas: deben estar ausentes en 85% de las muestras de aguas potables tratadas (Arcos et al., 2005b).

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana debido a que estos son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente, están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades, permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas y se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección.

Los microorganismos que conforman el grupo de los coliformes totales; *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Edwardsiella* y *Citrobacter*, viven como saprofitos independientes o como bacterias intestinales; los coliformes fecales (*Escherichia*) son de origen intestinal. Todos pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, fermentadores de lactosa con producción de gas; constituyen aproximadamente el 10% de los microorganismos intestinales de los seres humanos y otros animales, las bacterias del tracto intestinal no suelen sobrevivir en el medio acuático, están sometidas a un estrés fisiológico y pierden gradualmente la capacidad de producir colonias en medios diferenciales y selectivos. Su velocidad de mortalidad depende de la temperatura del agua, los efectos de la luz solar, las poblaciones de otras bacterias presentes, y la composición química del agua.

La presencia de coliformes en el agua indica la contaminación bacteriana reciente y constituye un indicador de degradación de los cuerpos de agua. Los coliformes fecales se denominan termo tolerantes por su capacidad de soportar temperaturas más elevadas. Esta denominación está ganando más adeptos actualmente, pues sería una forma más apropiada de definir este subgrupo que se diferencia de los coliformes totales por la característica de crecer a una temperatura superior.

La capacidad de reproducción de los coliformes fecales fuera del intestino de los animales homeotermos es favorecida por la existencia de condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, etc. Estas bacterias son de interés clínico, ya que pueden ser capaces de generar infecciones oportunistas en el tracto respiratorio superior e inferior, además de bacteriemia, infecciones de piel y tejidos blandos, enfermedad diarreica aguda y otras enfermedades severas en el ser humano.

Los estreptococos no se multiplican en el medio ambiente, o si esto ocurre es solamente en raras ocasiones, son más persistentes en ambientes acuáticos y en suelos contaminados que *E. coli*.

1.16 Límites permisibles para reusó de agua tratada.

Límite máximo permisible.

Valor o rango asignado a un parámetro, que no debe ser excedido por el responsable del suministro de agua residual tratada.

Tabla 1. Límites máximos permisibles de contaminantes (NOM-003-SEMARNAT-1997).

TIPO DE REUSO	Promedio Mensual				
	Coliformes Fecales NMP/100ml	Huevos de Helminto (h/l)	Grasas y aceites mg/L	DBO5 mg/L	SST mg/L
SERVICIO AL PUBLICO CON CONTACTO DIRECTO	240	≤1	15	20	20

SERVICIO AL PUBLICO CON CONTACTO INDIRECTO U OCASIONAL	1,000	≤5	15	30	20
---	-------	----	----	----	----

Los riesgos para la salud relacionados con el agua de consumo más comunes y extendidos son las enfermedades infecciosas ocasionadas por agentes patógenos como bacterias, virus y parásitos (p.e, protozoos y helmintos). La carga para la salud pública es función de la gravedad de la enfermedad o enfermedades relacionadas con los agentes patógenos, de su infectividad y de la población expuesta. Un fallo general del sistema de sistema de protección de la seguridad del abastecimiento de agua puede ocasionar una contaminación a gran escala del agua y, potencialmente, epidemias detectables. Otras averías y la contaminación leve, posiblemente en ocasiones repetidas, pueden ocasionar brotes esporádicos significativos de enfermedades, pero no es probable que las autoridades de vigilancia de la salud pública los asocien con la fuente de abastecimiento de agua de consumo. La evaluación y cuantificación de los riesgos puede ayudar a comprenderlos y gestionarlos, sobre todo los relacionados con casos de enfermedad esporádicos.

Las epidemias de enfermedades transmitidas por el agua pueden afectar a numerosas personas, y la prioridad principal de la elaboración y aplicación de controles de la calidad del agua de consumo debe ser el control de estas epidemias. La información disponible sugiere también que el agua de consumo puede contribuir a la morbilidad general en ausencia de epidemias, de modo que una finalidad adicional del control de la calidad del agua de consumo debe ser reducir la morbilidad por enfermedades transmitidas por el agua en el conjunto de la población. La experiencia ha demostrado que los sistemas de detección de epidemias de enfermedades transmitidas por el agua suelen ser ineficientes en países con cualquier grado de desarrollo socioeconómico, y el que no se detecten brotes no garantiza que no existan, ni indica necesariamente que el agua de consumo pueda considerarse inocua. Algunos de los agentes patógenos cuya

transmisión por agua de consumo contaminada es conocida producen enfermedades graves y que, en ocasiones, pueden ser mortales (OMS, 2007).

1.17 Método de evaluación de riesgos.

En muchas circunstancias, es posible calcular los efectos de la mejora de la calidad del agua de consumo sobre los riesgos para la salud de la población mediante la elaboración y aplicación de modelos de evaluación de riesgos. La evaluación cuantitativa de los riesgos microbianos es una disciplina en rápido desarrollo que combina de forma sistemática la información disponible sobre exposición al riesgo y sobre la relación entre dosis y respuesta para calcular valores estimados de la carga de morbilidad relacionada con la exposición a agentes patógenos. Para estimar los efectos que se producen en poblaciones y subgrupos de población, se utilizan modelos matemáticos, que interpretan el efecto de las distintas concentraciones de agentes patógenos presentes en el agua de consumo.

La interpretación y la aplicación de la información obtenida en estudios epidemiológicos analíticos, determina la propuesta de metas que contribuyan a la protección de la salud a nivel local o nacional.

La evaluación de riesgos comienza con la formulación del problema, cuya finalidad es determinar todos los peligros posibles y sus vías de transmisión de la fuente o fuentes a la persona o personas afectadas. A continuación, se caracterizan los riesgos combinando la información sobre exposición de las personas a los agentes patógenos seleccionados (concentraciones medioambientales y volúmenes ingeridos) y la relativa a la relación entre dosis y respuesta. Esta información, junto con información adicional (factores sociales, culturales, políticos, económicos, medioambientales, etc.), permite establecer prioridades entre las diferentes opciones de gestión. Para fomentar el apoyo y la participación de las partes interesadas, es importante aplicar, en cada etapa del proceso, un procedimiento transparente y una comunicación activa de los riesgos (Gorchev, 2004).

De acuerdo a las publicaciones recientes de la OMS se estima 842,000 muertes por diarrea en países de bajos recursos y en desarrollo, esto asociado a la inadecuada calidad del agua para beber, saneamiento y prácticas de lavados de manos. Aunque este número indica una disminución en los problemas del agua, la carga microbiana sigue siendo elevada, afectando el saneamiento y las enfermedades diarreicas relacionadas con la higiene en los últimos 10 años, Además, los países desarrollados como los que están en desarrollo siguen teniendo un problema alarmante con el brote de enfermedades transmitidas por agua, lo cual se ve reflejado en aumento de las enfermedades, costos elevados de tratamiento y pérdida de vidas en las comunidades (OMS, 2016).

Debido a estos estos hallazgos es importante garantizar la seguridad de los servicios de agua. Los criterios de la OMS sobre la calidad del agua para su reúso hacen hincapié en la atención primaria a los peligros microbianos en el ciclo del agua. Esto ha sido controlado tradicionalmente dándole importancia al análisis de las bacterias indicadoras de contaminación fecal (OMS, 2016).

El riesgo para la salud asociado con la exposición a estos patógenos microbianos en el medio acuático se puede medir a través de estudios epidemiológicos. Además, sería difícil estimar el riesgo microbiano de la salud mediante estudios epidemiológicos, en los casos en que los cuerpos de agua se ven afectados por la contaminación de fuentes no puntuales.

Por lo tanto, la evaluación cuantitativa del riesgo microbiano (QMRA) se ha utilizado como una herramienta complementaria esencial para los estudios epidemiológicos realizados por muchos gobiernos para comprender el riesgo de salud asociado con la exposición a cuerpos de agua contaminados. Varios estudios se han realizado utilizando este enfoque para cuantificar el riesgo para la salud asociado con la exposición a estos patógenos microbianos en cuerpos de agua (Abia *et al*, 2016).

Una posible fuente de bacterias resistentes a los antibióticos (BRA) es el aumento de los niveles de contaminación fecal de origen humano que entran en el agua recreacional. Este tipo particular de contaminación podría ser causado por el gran

número de personas que visitan la playa y el vertido de agua de la PTAR cercanas (O'Flaherty *et al*, 2017).

La literatura sugiere que la resistencia a los antibióticos puede albergarse en aguas recreativas y esto aumenta el riesgo de exposición humana a bacterias y genes de resistencia a través del uso de aguas recreativas. Las posibles razones de la presencia de resistencia a los antibióticos en el desperdicio recreativo varían desde el agua efluente de la PTAR, las influencias agropecuarias, las altas concentraciones de desechos humanos y animales así como a los eventos meteorológicos. El agua contaminada por antibióticos, ARB y genes de resistencia a antibióticos (GRA) podría ser ingerida por los seres humanos al bañarse, nadar o realizar diversas actividades deportivas en los sitios de agua recreativos. Identificar la cantidad de antibióticos, ARB y ARG en el agua es crucial para determinar el riesgo para la salud humana e identificar los pasos necesarios para reducir los niveles de resistencia a los antibióticos en el sitio de agua de recreo (O'Flaherty *et al*, 2017)

La evaluación del riesgo microbiano (ARM) es una herramienta científica que puede utilizarse para evaluar el nivel de exposición y el riesgo subsiguiente para la salud humana debido a un organismo específico o un tipo particular de resistencia (Snary *et al*, 2004)

Existen dos enfoques principales para la evaluación del riesgo: la evaluación cualitativa y cuantitativa del riesgo. La evaluación del riesgo cualitativo utiliza categorías amplias y la evaluación del riesgo cuantitativo utiliza valores numéricos para evaluar el riesgo, la exposición y los riesgos asociados. Hay cuatro pasos principales a la hora de elaborar un modelo de evaluación cuantitativa de riesgos: identificación de peligros, evaluación de exposición, caracterización de peligros y caracterización de riesgos. La evaluación del riesgo puede utilizarse para analizar el riesgo de la resistencia a los antibióticos de muchas maneras diferentes, como examinar el riesgo que representan las concentraciones de antibióticos y la cantidad de ARB que se encuentran en el medio ambiente. Hay una serie de diferentes métodos y modelos disponibles que han sido o podrían ser

potencialmente utilizados para ayudar a evaluar y comprender los riesgos de los antibióticos y ARB (O'Flaherty *et al*, 2017).

1.18 Contaminantes Emergentes.

“Contaminantes emergentes” o “nuevos contaminantes”, que no están regulados y cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva aunque sus implicaciones son aún desconocidas (Pérez *et al*. 2012).

Diversos estudios han demostrado que los contaminantes emergentes se encuentran en cuerpos de agua; aguas residuales, ríos, arroyos, aguas subterráneas y entornos marinos. Existe la necesidad de estudiar el efecto que producen estos compuestos en el ambiente, pues se piensa que pueden causar daños a la salud y ecológicos (Peña *et al*, 2015).

En forma adicional a los patógenos que tradicionalmente se han encontrado en el agua, se han venido encontrando organismos que son causantes de enfermedades emergentes. Este tipo de enfermedades comprende aquellas cuya incidencia en los seres humanos ha aumentado en las dos últimas décadas.

Frente a este fenómeno surge la necesidad de incluir nuevos indicadores microbiológicos debido a que se han encontrado que algunos microorganismos patógenos pueden ser más resistentes a cloración y otros factores de estrés ambiental (Castro *et al.*, 2009).

Uno de los principales fuentes de contaminantes emergentes son las aguas residuales que no reciben ningún tratamiento y los efluentes de plantas tratadoras de agua, las cuales no están diseñadas para tratar este tipo de sustancias, por lo que una alta proporción de estos compuestos y sus metabolitos no sufren ningún cambio y entran con una gran toxicidad al medio acuático, como acuíferos y sistemas marinos, entre otros.

Antibióticos como penicilina, sulfonamidas, y tetraciclinas causan resistencia en patógenos bacterianos. Aunque estos contaminantes los encontramos en muy bajas concentraciones sus efectos son significativos, por lo que es necesario implementar adecuados diseños de tratamiento de aguas para su eficiente remoción (García *et al*, 2011).

1.19 Resistencia antimicrobiana.

La resistencia a los antimicrobianos es la resistencia de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al que originalmente era vulnerable.

Los organismos resistentes (bacterias, hongos, virus y algunos parásitos) pueden resistir ataques de medicamentos antimicrobianos tales como antibióticos, fungicidas, antivirales y antipalúdicos, de tal forma que los tratamientos convencionales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten, lo que incrementa el riesgo de propagación.

La aparición de cepas resistentes es un fenómeno natural que ocurre cuando los microorganismos se reproducen de forma errónea o se intercambian características de resistencia, pero la utilización y el uso indebido de antimicrobianos también acelera su aparición. Las prácticas inapropiadas de control de las infecciones, las malas condiciones sanitarias y la manipulación inadecuada de alimentos propician la propagación de las resistencias (OMS, 2015).

La base del desarrollo de la resistencia bacteriana está en la selección de cepas resistentes que producen ciertas concentraciones de antibiótico. El antibiótico no induce resistencia, solamente selecciona. Es una interferencia en el proceso de selección natural. Donde antes se seleccionaban las bacterias más aptas para la supervivencia en el sitio del organismo de que se trate, en presencia del antibacteriano, sobrevivirán solamente aquellas variantes capaces de resistir a las

concentraciones de antibiótico presentes en ese lugar. El antibiótico se convierte en el primer factor de selección.

El uso de los antibacterianos ha cambiado no solamente los clásicos cuadros sintomatológicos que habían sido excelentemente descritos en siglos anteriores de buena clínica, sino las bacterias mismas, sus susceptibilidades y, consecuentemente, las posibilidades de tratamiento y curación (FAO, 2015).

El tracto gastrointestinal animal y humano ha sido considerado como el lugar de elección de las transferencias de resistencias. Otros nichos, sin embargo, comienzan a ser considerados como de gran importancia. Así, el intestino de animales salvajes (especialmente roedores), animales de compañía, y, esencialmente peces, en especial considerando explotaciones comerciales para producción de éstos, representan lugares en que el fenómeno se produciría en gran escala. El medio ambiente representa, en ciertas circunstancias especiales, un lugar de intensa actividad microbiana, donde los intercambios podrían tener lugar en forma extensa, por ejemplo ciertos lugares como el suelo, especialmente en zonas en que se produzcan descargas de materia fecal producto de la limpieza de corrales. Así mismo los efluentes de agua, especialmente si se los vincula al vertido de desechos cloacales (si éstos no han sido tratados previamente a su descarga), serían lugares ideales de intercambio (FAO, 2015).

1.20 Mecanismos de transferencia de resistencia.

Los plásmidos son porciones circulares de ADN extra-cromosómico que puede estar codificado para resistencia a un determinado antibiótico. Cuando codifican resistencias se los denomina plásmidos *R*. Los plásmidos son auto-replicantes, independientemente del ADN cromosómico. En general codifican características que mejoran los rasgos de supervivencia de las bacterias, sin ser imprescindibles para la misma. Pueden ser transferidos entre bacterias del mismo, o diferentes géneros. La adquisición de resistencia por parte de la bacteria receptora, por lo tanto, es en un paso. Un plásmido puede ser incorporado por un virus y transferido

a otra bacteria. En general se cita como ejemplos a los bacteriófagos. También puede pasar de una célula a otra por conjugación.

Transposones: Son los ya clásicamente conocidos como genes transponibles. Son cadenas cortas de ADN que saltan de cromosoma a plásmido, en uno u otro sentido, entre plásmidos o entre plásmidos y bacteriófagos. La característica más saliente de este tipo de material es la de integrarse con facilidad a cadenas de ADN diferente del original. A diferencia de los plásmidos, los genes transponibles no son auto-replicantes, deben mantenerse dentro de una estructura auto-replicante para replicarse. Un rasgo central y peligroso de los transposones es la posibilidad de que varios de ellos, codificando resistencias a múltiples drogas, estén incluidos dentro de un mismo plásmido, lo que permite, por transferencia de este último, la adquisición de multirresistencia por parte de la bacteria receptora.

Integrones y casetes genéticos: Diferentes de los transposones pero de mecanismos algo parecidos. Se recombinan en un sitio específico y codifican resistencia a un solo antibiótico. Junto con los transposones, son los sistemas que más actúan en la adquisición de resistencias por parte de los plásmidos. Constan de tres regiones, dos invariables y una central variable, que es la que porta el casete. El denominado casete es un elemento que incluye un gene y un sitio recombinante. Se han identificado más de cuarenta casetes y la mayoría porta genes de resistencia (FAO, 2015).

1.21 Mecanismos de Resistencia bacteriana.

Las bacterias pueden volverse resistentes a los antimicrobianos, Así como el primer mecanismo de acción de un agente infeccioso conocido fue el de las sulfamidas, el primer mecanismo de resistencia conocido también fue el de los microorganismos a estas drogas. Si bien son varios los mecanismos de resistencia a las sulfamidas que actualmente se conocen, podemos decir que la hiper-producción de Para-amino-acido benzoico (PABA) fue el primero en determinarse, siendo el más conocido. Además de la hiper-producción metabólica, otros mecanismos incluyen:

- **Inactivación enzimática de los antibióticos**, como es el caso de las enzimas beta lactamasas. En este caso la enzima, elaborada por la bacteria, inactiva a la molécula de la droga volviéndola incapaz de actuar. Hay que tener presente que este mecanismo es el único capaz de inactivar a la molécula de antimicrobiano.
- **Impermeabilidad de la membrana o pared celular**. Por ejemplo modificaciones en las porinas, lo que repercutirá en resistencias de bajo nivel a diversos antimicrobianos.
- **Expulsión por mecanismos activos del antibiótico**. Las resistencias a las tetraciclinas pueden ser debidas a este tipo de mecanismos.
- **Modificación del sitio blanco del antibiótico en la bacteria**. En algunos casos hay una reducción de la afinidad del receptor por la molécula de antimicrobiano. Una mutación de la girasa de ADN, por ejemplo, puede dar lugar a una menor afinidad de las Quinolonas por la citada enzima. Otro ejemplo es el cambio de las enzimas involucradas en la síntesis de ácido para-amino benzoico, lo que da lugar a resistencias a sulfamidas y trimetoprim, mecanismo que se suma al mencionado en primer lugar.

1.22 Resistencia a antimicrobianos en México.

El Laboratorio Nacional de Referencia para patógenos entéricos es parte del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE), organismo que forma parte de la Secretaría de Salud. Los 31 laboratorios estatales de salud pública son parte de la red y envían las muestras al InDRE para confirmación de su identificación bioquímica, serológica y la realización del antibiograma. Todos los estados participan de la vigilancia de la resistencia (InDRE, 2014).

La resistencia antimicrobiana en países como México, resulta tan apremiante como otras enfermedades prioritarias tales como la malaria, la tuberculosis, el cáncer o el SIDA. Algunos factores que deben tenerse en cuenta para abordar el grave problema de salud pública que representa la resistencia antimicrobiana en México son: la ausencia de un cuerpo regulatorio que controle eficazmente el uso y la venta de antimicrobianos; la prescripción inadecuada y la automedicación con estos medicamentos; y la escasa información disponible sobre resistencia

antimicrobiana (incluyendo los reportes errados o poco confiables de identificación y susceptibilidad bacteriana).

La investigación realizada por nuestro grupo de trabajo tiene como objetivo principal contribuir a la vigilancia epidemiológica y molecular de la resistencia bacteriana en México, con el fin de apoyar la prescripción y las políticas sobre antibióticos. Trabajamos en más de 20 de hospitales en la República y alrededor de 8 laboratorios extranjeros, y colaboramos con diversas redes internacionales de vigilancia, tales como SIREVA y SENTRY (INSP, 2015).

1.23 Índice de Multirresistencia a Antibióticos (MAR índice).

La resistencia múltiple a antibióticos (MDR) se define como resistencia a todos los antibióticos probados en al menos dos de las tres clases siguientes: β -Lactámicos, amino glucósidos y Quinolonas. El carácter de MDR de los aislamientos se identificó observando el patrón de resistencia de los aislamientos a los antibióticos. Estudio de Índice MAR índice: El índice MAR de un aislado se define como a / b , donde a representa el número de antibióticos a los que el aislamiento era resistente y b representa el número de antibióticos a los que se sometió el aislado. El análisis MAR Índice revela que los cuatro aislamientos tenían un valor de índice MAR muy alto ($> 0,2$). Las bacterias con índice $MAR > 0,2$ proceden de un entorno en el que se utilizan varios antibióticos (Subramani & Vignesh, 2012). Si MAR va a ser calculado a partir de un sitio de muestra, de donde tomamos muchos aislamientos, entonces se cambia esta fórmula. En tal caso, tomamos una fórmula de $a / (b.c)$ para calcular el índice MAR.

En este caso, (a) representa la resistencia agregada de los antibióticos a todos los aislamientos, mientras que (b) representa el número total de antibióticos y (c) representa el número de aislamientos del sitio de la muestra. El segundo caso se utiliza generalmente en el muestreo ambiental (Riaz, Faisal *et al*, 2011).

Los valores del índice MAR superiores a 0,2 indican una fuente de contaminación de alto riesgo en la que se utilizan a menudo antibióticos (Osundiya *et al*, 2013).

Medir el tipo de riesgo que generan estas bacterias con resistencia múltiple a antibióticos es de suma importancia para este trabajo ya que la mayoría de estas bacterias como fue mencionado con anterioridad tienen contacto directo e indirecto con la población expuesta en las diferentes zonas donde esta agua de carácter recreacional es utilizada.

$$MAR\ index = a/b$$

Figura 2. Fórmula para el cálculo del índice de resistencia antimicrobiana múltiple, donde: (a) representa la resistencia agregada de los antibióticos a todos los aislamientos, mientras que (b) representa el número total de

1.24 Potencial riesgo en salud pública.

La evaluación del riesgo para la salud humana (HHRA, por sus siglas en inglés) es el proceso usado para estimar la naturaleza y probabilidad de efectos adversos para la salud en seres humanos que pueden estar expuestos a peligros en medios ambientales contaminados con bacterias de carácter patógeno, ahora o en el futuro. La HHRA al riesgo de infecciones con ARB patógena porque son una causa creciente de morbilidad y mortalidad, particularmente en las regiones en desarrollo un microorganismo resistente a los antimicrobianos tiene la capacidad de multiplicar o sobrevivir en presencia de concentraciones altas del antimicrobiano en comparación con aquellas bacterias que son susceptibles de la misma especie (Ashbolt et al., 2013)

La relevancia que los medicamentos tienen para la salud de la población depende de su buena calidad, accesibilidad y uso adecuado. Sin embargo, se estima que, globalmente, la mitad de los medicamentos se prescriben, se dispensan y se consumen de forma inadecuada. El uso inapropiado de medicamentos tiene importantes consecuencias adversas tanto para la salud de los individuos como para la economía de las familias y de los servicios de salud.

El uso inadecuado de antibióticos es particularmente importante, pues contribuye al desarrollo de resistencia bacteriana, la cual reduce la efectividad de tratamientos establecidos e incrementa los gastos y la mortalidad por enfermedades infecciosas, por lo que se considera un grave problema de salud pública que demanda respuestas en los planos local, nacional y global. A pesar de que el uso de antibióticos ha sido foco de variada investigación en México, es poca la información publicada que resuma la situación actual en el país, o bien que describa la respuesta que, desde los sistemas y políticas de salud, se ha dado a esta situación. Este tipo de evidencias es primordial para la formulación y evaluación de políticas.

El primer objetivo de este trabajo es caracterizar los problemas que se han documentado sobre el uso de antibióticos en México, así como señalar los vacíos de información existentes, con el fin de identificar necesidades de investigación. El segundo objetivo es analizar el tipo de respuesta que se ha dado a los problemas identificados, y proponer líneas de acción dirigidas a mejorar el uso de antibióticos en la nación (Dresler *et al*, 2008).

II. JUSTIFICACIÓN

Es importante el estudio de la resistencia antimicrobiana en muestras ambientales para detectar bacterias resistentes a antibióticos y la capacidad de transferencia genética de manera horizontal a bacterias patógenas en humanos (Lösch & Merino, 2012).

Algunos estudios sugieren que los mismos perfiles de resistencia a antimicrobianos encontrados en muestras clínicas están asociados a mecanismos encontrados en bacterias ambientales (Sidrach-cardona et al, 2014).

Esta podría ser la fuente natural de las bacterias multirresistentes que se encuentran en su ecosistema, considerado como un reservorio y una fuente potencial de alto riesgo patógeno para los consumidores, las bacterias además de poseer sus propiedades patógenas también presentan la propiedad de resistencia a antibióticos, un ineficiente tratamiento de agua favorece la re-contaminación del agua permitiendo la trasmisión de estos patógenos al hombre (Vaz-moreira & Nunes, 2014).

Las plantas de tratamiento de agua residual urbana están designadas para remover materia orgánica tales como nutrientes, Microbiota y bacterias patógenos, sin embargo, estos métodos no pueden eliminar completamente los residuos de antibióticos y algunas bacterias con potencial resistencia a antibióticos (Narciso-da-Rocha et al, 2014).

Para el control de bacterias resistentes a antibióticos es importante estudiar su ecología, incluyendo sus orígenes, evolución, selección y diseminación (Marti et al, 2013).

También es importante estudiar el impacto de la relación huésped-hospedero cuando este último se trata de bacterias resistentes a antibióticos y así entender sus implicaciones en la salud del hombre (Ramírez Castillo et al., 2013).

Los mecanismos de incorporación de productos farmacéuticos son los que incluyen a los cuerpos de agua natural, los procesos de eliminación fisiológica de humanos y animales, los vertidos de la industria farmacéutica, residuos hospitalarios y la disposición inadecuada de fármacos caducados (Jimenez Cartagena, 2011).

El proceso del tratamiento biológico del agua crea un ambiente adecuado para el desarrollo y propagación de las bacterias resistentes, ya que estas se mezclan con antibióticos a concentraciones sub-inhibidoras (Rizzo et al., 2013).

La vigilancia es fundamental como estrategia para el control de la resistencia antimicrobiana en ambientes acuíferos con el fin de detectar posibles cambios en los patrones de resistencia.

Es importante promover medidas de control de uso y disposición de antimicrobianos, dar indicios sobre la importancia de prevenir la diseminación de bacterias indicadoras de contaminación fecal con características de resistencia y conocer el impacto ambiental que genera la diseminación de estas bacterias a los cuerpos de agua y su rehusó en áreas recreacionales expuestas a la población (Lösch & Merino, 2012).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las últimas décadas la resistencia antimicrobiana ha disminuido la efectividad de los tratamientos que incrementa las infecciones causadas por bacterias, parásitos, virus y hongos. Aún no se ha estudiado la interrelación entre la magnitud del problema mundial y el impacto de la resistencia antimicrobiana en la salud humana, los costos por el sector salud y el impacto social (OMS, 2014).

El fenómeno de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos ha incrementado de manera alarmante, reflejando un gran problema actual en salud pública ya que una de las principales herramientas para tratar y controlar las infecciones bacterianas son estos compuestos (Torres, 2012).

En Europa el problema de resistencia antimicrobiana se evalúa mediante el monitoreo de los costos de cuidado de la salud, tratamientos fallidos y muertes. (EARS-Net, 2012).

En India, un aproximado de 58,000 infantes mueren en un año como resultado de infección con bacterias multirresistentes usualmente transmitidas por las madres, en la unión Europea, la resistencia a antibióticos causa 25,000 muertes por año y 2.5 muertes extra por día en hospitales, en EU la resistencia a antibióticos causa más de 23,000 muertes (OMS, 2014).

En América Latina la red de información sobre la resistencia a antibióticos fue creada en 1996 por una oficina regional de la OMS en las Américas, colaborando con la OPS, los países estuvieron de acuerdo con mantener y soportar los laboratorios nacionales de referencia para recopilar la información sobre la identificación de especies bacterianas y su susceptibilidad antimicrobiana (OMS/OPS, 2014).

Se ha estudiado la presencia de bacterias resistentes a antimicrobianos en aguas en todo el mundo. Los organismos resistentes puede ser resultado de la producción natural de antibióticos por sedimentos orgánicos, tratamiento en la ganadería y veterinaria o productos de desecho por animales y humanos (Stewart & Costerton, 2001).

La OMS considera que es nocivo exponerse a microorganismos patógenos en aguas residuales, aún más, si hay posibilidad de que estos porten o trasmitan resistencia a los antimicrobianos. La calidad sanitaria de aguas, frecuentemente se basa solo en la cuantificación de las bacterias indicadoras (coliformes totales y coliformes fecales) sin incluir los ensayos del espectro de resistencia a antibióticos, a pesar de su importancia en la salud pública (OMS, 2012).

Uno de los principales hábitats de bacterias en la tierra es el agua. Por lo tanto representa una de las mayores vías de diseminación de microorganismos entre diferentes compartimientos ambientales (Vaz-moreira & Nunes, 2014).

El flujo del agua urbana representa un reservorio natural de resistencia a antibióticos, que podría proveer una fuente de elementos de transferencia genética hacia bacterias comensales en humanos (Kappell *et al*, 2015).

El uso de antibióticos en la agricultura ha sido descrito como una de las mayores contribuciones al problema de enfermedades clínicas asociadas a resistencia en la medicina humana (Chang *et al*, 2014).

Los tres procesos que determinan la evolución ecológica de la resistencia a antibióticos incluyen, la emergencia, invasión, y ocupación por genes de resistencia a antibióticos de ambientes significativos para la salud humana (Coque *et al*, 2014).

Durante las últimas décadas en México el agua tratada y no tratada ha sido descargada hacia fuentes de agua natural, llevando a una posible diseminación de las bacterias resistentes a antibióticos, dando como resultado la aparición de enfermedades de etiología bacteriana por el uso de agua no segura para el riego de sitios de uso recreativo (Ramírez Castillo et al., 2013). El agua constituye una de las formas más importantes de diseminación de las bacterias multirresistentes hacia las poblaciones, la contaminación hoy en día es uno de los temas de atención y discusión, convirtiéndose no solo en un problema sanitario si no también ecológico y económico (Maroneze *et al*, 2014).

IV. OBJETIVO GENERAL

Detectar bacterias resistentes a antibióticos aisladas de aguas tratadas, mediante la técnica de Kirby Bauer y concentración mínima inhibitoria, para evaluar el riesgo de infecto contagiosidad en la población expuesta de Tijuana y Rosarito Baja California.

V. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1) Tomar muestras de agua tratada mediante la metodología establecida en la NMX-AA-42-1987 en los proceso de tratamiento de aguas residuales y en los sitios de salida del agua tratada para evaluar la calidad microbiológica del agua.
- 2) Aislar las bacterias indicadoras de contaminación fecal mediante el la técnica de diluciones seriadas en medios específicos, para su posterior identificación Biotipica.
- 3) Identificar el espectro de sensibilidad antimicrobiana en bacterias indicadoras de contaminación fecal, mediante la técnica de Kirby Bauer y CMI, para seleccionar las bacterias con una perfil de resistencia a antibióticos.
- 4) Determinar la prevalencia de bacterias resistentes a antibióticos mediante el análisis de los resultados por métodos estadísticos, para establecer el riesgo potencial de Infectocontagiosidad en la población de Tijuana y Rosarito B.C.

VI. HIPOTESIS

Las aguas tratadas en la región de Tijuana y Rosarito, Baja California contienen al menos 70% de bacterias resistentes antibióticos, consideradas como un riesgo potencial de infecto contagiosidad en la población expuesta.

VII. METODOLOGÍA

Es un estudio transversal en plantas tratadoras de agua residual de la ciudad de Tijuana y Rosarito, Baja California. Con el objetivo de aislar bacterias indicadoras de contaminación fecal con características de resistencia a antibióticos, durante su proceso de tratamiento biológico para su posterior rehusó en la comunidad.



Figura 3. Posición geográfica de las PTAR en Tijuana y Rosarito B.C.

VII.1 Materiales y equipo.

VII.1.1 Tratamiento Pre-analítico.

Se analiza el sitio de muestreo mediante la medición de pH con tiras reactivas, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) con Medidor de oxígeno disuelto y la temperatura con termómetro Fro-Temp, HB Instrumens (EU). Estos datos se utilizan como mediciones de control en la calidad del proceso de tratamiento y como datos de identificación de la muestra.

VII.1.2 Toma de muestra.

Las muestras serán tomadas de acuerdo a la NOM-003-SEMARNAT-1997, los frascos muestreadores para la toma se esterilizan en autoclave All american (EU) a 120°C y 15 psi por 15 min. Se toman 2/3 partes del frasco muestreador, la muestra se homogeniza y se toman 90 mL para el análisis de NMP.



Figura 4. Muestreo en las PTAR de Tijuana y Rosarito B.C.

VII 1.3. Variables.

Las variables independientes consideradas en este estudio son, pH, DBO, temperatura y tiempo atmosférico, se consideran variables dependientes la concentración bacteriana, la sensibilidad microbiana, los indicadores de contaminación fecal resistentes a antibióticos y el riesgo de infecto contagiosidad. El muestreo está sujeto a los criterios de aceptación o rechazo, se considera muestra de agua residual aquella que se toma antes, dentro del proceso y en la salida después del tratamiento (criterios de inclusión), se consideran criterios de exclusión, las muestras que no pertenecen al proceso del tratamiento de agua.

VII 1.4 Tratamiento analítico.

Las muestras serán analizadas de acuerdo a la NOM-003-SEMARNAT-1997, para el análisis del número más probable (NMP) las muestras se manipularan dentro de

una campana de flujo laminar Enviroco (EU) de bioseguridad tipo 2 y se incuban a 35°C en una incubadora Quincy Lab (EU) a temperatura controlada. Las bacterias indicadoras de contaminación fecal se aíslan e identifican en medios de cultivo diferenciales Becton Dickinson (EU) en caja Petri de 100x15 mm VWR (EU) mediante la técnica de difusión en disco Becton Dickinson (EU) o Kirby Bauer y utilizando micro diluciones Microscan (EU) que identifica los perfiles de resistencia mediante la concentración mínima inhibitoria.



Figura 5. Diluciones de las muestras analizadas para la determinación de NMP

VII 1.5 Análisis de resultados.

El riesgo de infecto contagiosidad se evalúa mediante el cálculo de la prevalencia (Software estadístico: SPSS y Sigma Plot) de las bacterias con perfil de resistencia aisladas de las aguas tratadas, para su comparación, con los datos epidemiológicos mundiales de los perfiles de resistencia de la etiología que causa infecciones en la población cercana a las plantas tratadoras de agua residual.

PROCEDIMIENTO

VIII 1. Tratamiento pre-analítico en la toma de muestras en plantas tratadoras de agua residual.

Las muestras fueron tomadas de acuerdo a la NMX-003-SEMARNAT-1993, se tomó una muestra al mes en día sábado seleccionado al azar. Las muestras se conservaron a una temperatura controlada de 4°C con un mínimo de dos horas para su análisis microbiológico.

Las muestras para el análisis bacteriológico, se deben tomar en frascos muestreadores estériles. Cada frasco debe contener en su interior previo a la esterilización, 0.1 cm³ de solución de tiosulfato de sodio al 1% con el propósito de inhibir la acción del cloro que pudiera contener la muestra, cubriendo además el tapón del frasco hasta el cuello con papel aluminio.

Durante la toma de muestra, es necesario llenar 2/3 partes de la capacidad total del frasco; una cantidad menor no serviría como una muestra representativa de cuerpo de agua, si fuera mayor, disminuiría el oxígeno disponible para la muestra.

La toma de muestra es superficial bajo el siguiente procedimiento:

1. Introducir el frasco aproximadamente 30 cm bajo la superficie del agua.
2. Destapar el frasco dentro del agua. La boca debe quedar a contracorriente al flujo del agua.
3. Una vez que la muestra ocupe el volumen correspondiente del frasco, tapar sin sacarlo del agua.

VIII 2. Tratamiento analítico para el conteo de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* presuntiva.

El método se basa en la inoculación de las alícuotas de las muestras, realizando diluciones seriadas en tubos con caldo lauril triptosa. Los tubos se observan a las 24 y 48 horas de incubación a 35°C o 37°C. Al término de la incubación, los tubos que mostraron turbidez con producción de gas se resiembra en un medio selectivo (caldo de bilis lactosa verde brillante) para confirmar el crecimiento coliformes totales y cuando se busca *E. coli* presuntiva, se cultiva en un medio donde se

observe la producción de indol. La incubación es hasta por 48 horas ya sea a 35°C o 37°C para la detección de organismos coliformes y a 44°C para organismos termo tolerantes y *E. coli*.

Mediante tablas estadísticas se calcula el número más probable (NMP) de organismos coliformes, organismos coliformes termo tolerantes y *E. coli* que puedan estar presente en 100 cm³ de muestra.

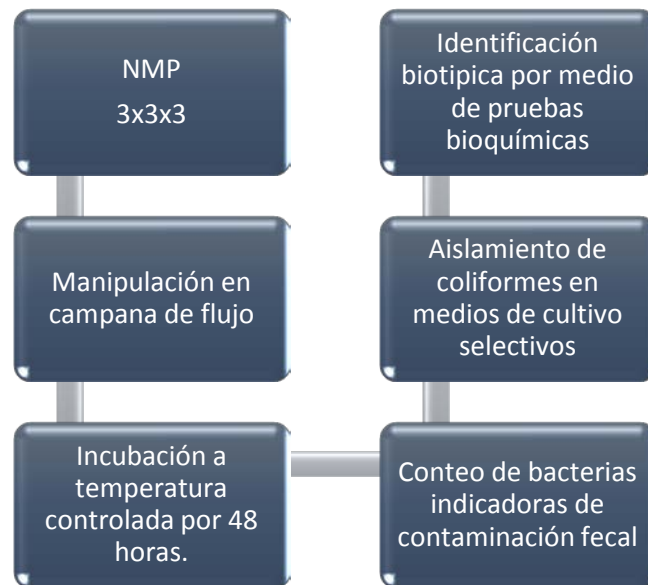


Figura 6. Esquema de tratamiento analítico de las muestras de agua residual.

VIII 3. Aislamiento e identificación de bacterias indicadoras de contaminación fecal (familia *Enterobacteriaceae*)

Para el aislamiento de Enterobacterias, se llevó a cabo una resiembra del tubo positivo con menor dilución utilizado en el conteo de coliformes en medios selectivos y diferenciales tales como McConkey, RVBA y Agar sangre. Posteriormente se realizó un cultivo puro de las bacterias aisladas y se procedió a su identificación presuntiva para la familia de Enterobacterias; para esto se utilizó catalasa, oxidasa, nitritos, MR-VP como tamizaje, las colonias aisladas que coincidieran con el perfil se les realizó un biotipado completo con la batería de

pruebas bioquímicas completas para la identificación del género y especie respectivamente. Para su identificación final y confirmatoria se utilizó en sistema de micro dilución MicroScan que cuenta con una batería más amplia de identificación.

VIII 4. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Micro dilución (CMI).

La metodología consiste en micro diluciones en diferentes concentraciones de antibióticos para obtener el perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos, así como interpretar la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico en cada bacteria asilada, la pila de antibióticos que se utilizados en el panel Neg combo 44 de MicroScan (Tabla X) fueron los siguientes:

Tabla 2. Antibióticos dentro del Panel Neg combo 44 de Microscan.

Antibiótico	Abreviatura	Antibiótico	Abreviatura
Amikacina	Ak	Confirmacion BLEEa	Cft/CA
Amoxicilina/ac. Clavulanico	Aug	Confirmación BLEEb	Caz/CA
Ampicilina	Am	Gentamicina	Gm
Ampicilina/Sulbactam	A/S	Imipenem	Imp
Aztreonam	Azt	Levofloxacino	Lvx
Cefazolina	Cfz	Meropenem	Mer
Cefepime	Cpe	Moxifloxacino	Mxf
Ceftazidima	Caz	Piperacilina	Pi
Cefotetan	Ctn	Piperacilina/Tazobactam	P/T
Cefotaxima	Cfx	Tetraciclina	Te
Ceftriaxona	Cax	Ticarcilina/Ac. Clavulánico	Tim
Cefuroxima	Crm	Tigeciclina	Tgc
Cefalotina	Cf	Tobramicina	To
Ciprofloxacino	Cp	Ertapenem	Etp

Con sus respectivas diluciones establecidas en el CLSI 2017 para la detección de perfiles de resistencia en las diferentes familias de antibióticos.

El sistema de inoculación Prompt-D (Microscan) se emplea para la estandarizar el inóculo empleado en el estudio de sensibilidad a antimicrobianos por la

metodología de micro dilución antes mencionada. Un requisito importante del procedimiento en la determinación de la CIM es conseguir un inóculo bacteriano ajustado dentro de unos límites fijados, lo cual se logra de dos formas:

- 1) Mediante un ajuste manual del inóculo hasta alcanzar la turbidez estándar 0.5 de la escala de Mc Farland, seguido por la dilución apropiada.
- 2) Mediante la incubación hasta la fase estacionaria del caldo de cultivo, seguida por la dilución apropiada.

El sistema consiste en una varilla de inoculación y una botella de líquido de dilución. La varilla es de polipropileno, lleva un anillo de seguridad que sirve para secarla y va unida al tapón. La punta de la varilla tiene una hendidura diseñada para contener un determinado número de bacterias. La botella contiene 30 mL de líquido de dilución. La varilla se pone en contacto con diversas Unidad formadora de colonias (UFC) bacterianas en una placa primaria de aislamiento, luego se seca con el anillo, posteriormente se introduce en la botella de plástico. Las bacterias se disuelven al agitar la botella y esta suspensión bacteriana permanece estable durante cuatro horas.

Obtención y preparación de las muestras

Las muestras a procesar deben ser recibidas en una placa de cultivo primario (nutritivo). Para poder llevar a cabo la inoculación con el sistema se necesitan 3 colonias aisladas de un tamaño mayor al de la punta de la varilla, de un cultivo de 18-24 horas.

A. Preparación de la suspensión bacteriana

1. Extraer la cantidad de botellas de inoculación y varillas que se necesite.
2. Mantener la punta de la varilla de manera perpendicular a la superficie del agar y toque con ella 3 UFC aisladas cuyo tamaño sea al menos tan grande como la punta de la varilla. No perforar el agar. No raspe ni arrastre el extremo de la varilla por las UFC.
3. Sujetar la varilla por el tapón y desliar el anillo con firmeza para romper la unión entre el anillo y la varilla. No retorcer ni doblar el anillo.
4. Sujetar la varilla de inoculación con una mano e introducirla dentro de la botella de inoculación con un movimiento giratorio para asegurarse que quede bien cerrado.

5. Agitar la botella durante 8-10 minutos para que las UFC se desprendan del extremo de la varilla, si no se desprenden se deja reposar la solución durante 5 minutos y se agita de nuevo.
6. La suspensión bacteriana debe emplearse dentro de un plano no mayor a 4 horas después de su preparación, si no se utiliza inmediatamente deberá agitarse bien antes de usar, con el fin de re suspender las bacterias.

B. colocación de la suspensión en el inoculador

1. Sacar la varilla de inoculación de la botella y desechar.
2. Verter la suspensión en el inoculador, presionando suavemente la botella.
3. Proceder a determinar la CMI mediante un procedimiento de micro dilución apropiada.



Figura 7. Panel Negativo 44 MicroScan por CMI (Beckman Coulter, 2017)

Las CMI obtenidas con inóculos preparados con este sistema demuestran una coincidencia superior al 97% con los obtenidos preparados siguiendo el procedimiento establecidos por el CLSI 2017.

VIII 5. Detección de BLEE: Método Jarlier (Comité de la sociedad francesa de microbiología)

El método que se utiliza para esta prueba es la de difusión en disco (Kirby Bauer), se inocula la cepa con sospecha de resistencia a β - Lactámicos en placas de agar Mueller Hinton con una turbidez 0.5 en la escala de McFarland. Se coloca en el

centro de la placa un disco de Amoxicilina/ Ac. Clavulánico (Aug) (20/10 µg) y alrededor de él a una distancia de 25-30 mm, discos de Caz (30µg), CTX (30µg). La presencia de BLEE se logra observar por el efecto sinergismo del inhibidor y los discos de antibióticos, se observa efecto de huevo o cola de pez.

VIII 6. Método modificado para la inactivación de carbapenemes (mCIM CLSI, 2017)

Se realiza mediante la prueba de difusión en disco para la detección de la resistencia a carbapenemes mediante los siguientes pasos:

1. Para cada asilamiento a evaluar, disolver una asada de 1µl de un cultivo fresco proveniente de agar sangre, en 2 mL de Caldo soya tripticasa (TSB).
2. Mezclar con vortex 10-15 segundos.
3. Agregar al tubo de TSB un disco de meropenem, asegúrese que todo el disco quede sumergido en la suspensión.
4. Incubar a 35 C \pm 2 °C, en aerobiosis, durante 4 horas \pm 15 min.
5. Justo antes o inmediatamente de la incubación de la suspensión con el disco de Meropenem, preparar una suspensión de 0.5 Mc Farland de *E. coli* ATCC 25922 en caldo nutritivo o solución fisiológica.
6. Inocular una placa con agar MH con la suspensión de *E. coli* ATCC 25922, de la misma manera que en las pruebas de rutina de susceptibilidad, asegurarse que tanto la preparación del inóculo, como la inoculación de la placa, se realicen en no más de 15 min. Dejar secar las placas por 3-10 min antes de agregar el disco de Meropenem.
7. Remover el disco de Meropenem de la suspensión de la cepa a evaluar utilizando un aza de 10 µL y ayudándose con las paredes del tubo para remover el exceso de líquido del disco. Colocar el disco en la placa de MH previamente inoculada con la cepa ATCC. No colocar más de 4 discos de meropenem en las placas de 100 mm y 8 en las placas de 150 mm.
8. Invertir la placa e incubarla a 35 °C \pm 2, en aerobiosis 18-24 horas.

9. Luego de la incubación, medir la zona de inhibición como en la rutina de las pruebas de susceptibilidad.

VIII 7. Datos

De las muestras.

Se procedió a la toma de muestras de aguas en las plantas tratadoras de agua residual en Tijuana y Rosarito, Baja California, (Tabla 3) conforme a una calendarización para su posterior análisis.

Tabla 3. Distribución de muestras en las PTAR.

No. muestra	Lugar	2016			
		Periodo	Periodo	Periodo	Periodo
		#1	#2	#3	#4
1	MOE	✓	✓		✓
2	MOS	✓	✓		✓
3	LME	✓	✓		✓
4	LMS	✓	✓		✓
5	R1E	✓		✓	
6	R1S	✓		✓	
7	RNE	✓		✓	
8	RNS	✓		✓	

MOE: Monte de los olivos entrada, MOS: Monte de los olivos salida, LME: La morita entrada, LMS: La morita salida, R1E: Rosarito 1 entrada, R1S: Rosarito 1 salida, RNE: Rosarito norte entrada, RNS: Rosarito norte salida.

VIII. RESULTADOS

IX 1. Análisis de puntos críticos para la toma de muestra en las plantas tratadoras de agua residual (PTAR).

Mediante el análisis observacional de los diferentes puntos del tratamiento de agua residual se observa que existe diferencia en el contenido de indicadores de contaminación fecal en los puntos de toma de muestra (Tabla 4), lo anterior indica el impacto espacio-temporal que tienen estos puntos en la toma de muestra.

Tabla 4. Análisis de puntos críticos para la toma de muestras en las plantas tratadoras de agua residual en Tijuana y Rosarito, Baja California

Punto Crítico de muestreo	Descripción	Hallazgo	Punto critico
1	Entrada de flujo de agua residual, que es la mezcla de agua residual municipal e industrial.	Concentración alta de microorganismos por la mezcla de agua.	✓
2	Salida del agua Residual tratada, que es el agua reutilizable para el efluente.	Baja concentración de microorganismo por el tratamiento al que fue sometido.	✓
3	Etapas del tratamiento de PTAR	Las concentraciones cambian de acuerdo al tipo de tratamiento y la etapa del mismo.	X

De acuerdo a los hallazgos en los puntos críticos durante el tratamiento, se seleccionaron los siguientes puntos, considerando la eficiencia del tratamiento de agua residual empleado.

Tabla 5. Selección de puntos críticos.

I.D. Punto Crítico	Descripción
1	Entrada de agua residual a la PTAR
2	Salida del agua después del tratamiento hacia el efluente

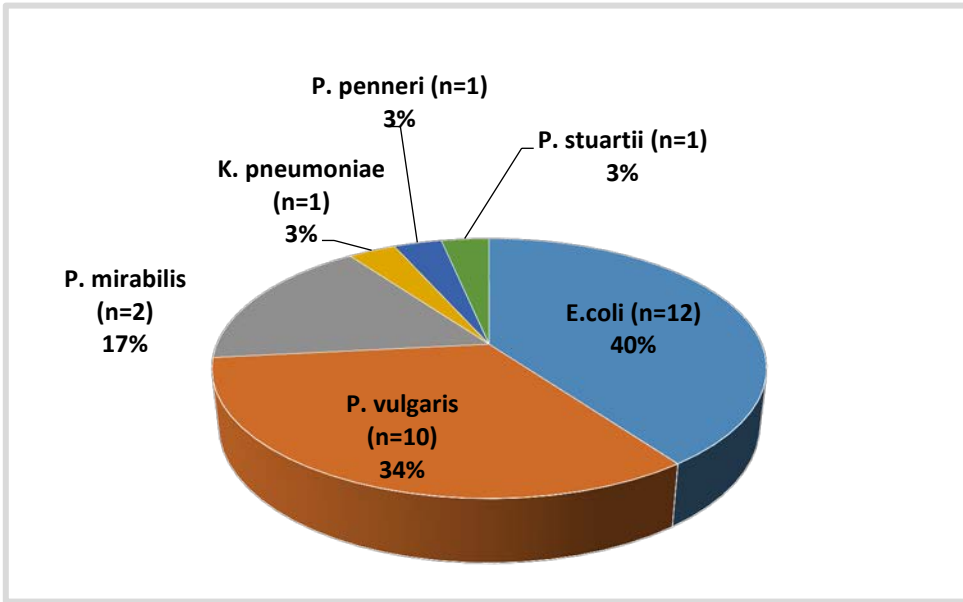
Para calcular los indicadores de contaminación fecal, se caracterizaron las muestras de agua residual en los puntos críticos establecidos. Se determinó la concentración de coliformes totales, el muestreo se realizó en distintas épocas del año para comparar el comportamiento del crecimiento celular de acuerdo a las condiciones fisicoquímicas de la época de muestreo (Tabla 6), los sitios muestreados fueron, el flujo de entrada a la planta y el flujo de salida del agua tratada.

Tabla 6. Concentración de coliformes totales (NMP/100 m/L) en las muestras de PTAR de Tijuana y Rosarito, Baja California.

PTAR	2016							
	Periodo #1		Periodo #2		Periodo #3		Periodo #4	
	E	S	E	S	E	S	E	S
MO	I	I	I	I	N/A	N/A	I	I
LM	I	I	I	I	N/A	N/A	I	300
R1	I	I	N/A	N/A	I	I	N/A	N/A
RN	I	I	N/A	N/A	I	79	N/A	N/A

MO: Monte de los olivos, LM: La morita, R1: Rosarito 1, RN: Rosarito norte, E: entrada, S: salida, I: Incontables >2,400 NMP/100 ml.

Se determinó la prevalencia (n=30) por género de Enterobacterias en las PTAR de Tijuana y Rosarito B.C. (Grafica 1)



Grafica 1. Distribución de Enterobacterias aisladas en las PTAR (n=30).

Para observar de mejor manera la distribución de los géneros bacterianos se clasificaron en dos grupos, los aislados que fermentan la lactosa y los que no (Tabla 7).

Tabla 7. Distribución de grupos bacterianos aislados en PTAR (n=30).

Enterobacterias (n=30)	%
Lactosa positivo (n=13)	43.3
Lactosa negativo (n=17)	56.7
Total	100.0

n=número de muestras; %=porcentaje.

Para la distribución de las Enterobacterias aisladas en las diferentes PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Distribución de Enterobacterias por PTAR (n=30).

Enterobacterias (n=30)	%
La Morita (n=9)	30.0
Monte de los olivos (n=7)	23.3
Rosarito 1 (n=9)	30.0
Rosarito Norte (n=5)	16.7
Total	100.0

n=número de muestras; %=porcentaje.

Se determinó la prevalencia, así como la diferencia en el contenido microbiano (Tabla 9) antes y después del tratamiento en las PTAR de Tijuana y Rosarito. Se identificaron los agentes etiológicos de la Microbiota en cada uno de los puntos críticos.

Tabla 9. Aislamiento y etiología bacteriana por muestra en las PTAR.

PTAR	Punto crítico	Asilamientos	Etiología bacteriana	Prevalencia total (%)
MO	Entrada	3	<i>Escherichia coli.</i> <i>Klebsiella pneumoniae.</i>	10
	Salida	5	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Providencia stuartii</i> <i>Escherichia coli</i>	16.6
LM	Entrada	5	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i>	16.6
	Salida	2	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus vulgaris</i>	6.6

R1	Entrada	4	<i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli.</i>	13.3
	Salida	5	<i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus penneri</i> <i>Proteus mirabilis.</i>	16.6
RN	Entrada	3	<i>Escherichia coli.</i>	10
	Salida	2	<i>Escherichia coli.</i>	6.6
Total de cepas		30		

Prueba de tamizaje de para la detección de BLEE

Para identificar si las cepas obtenidas cuentan con un perfil de resistencia β -lactamasa de espectro extendido (BLEE), se realizó una prueba de tamizaje mediante la técnica de difusión en disco (Figura 6).

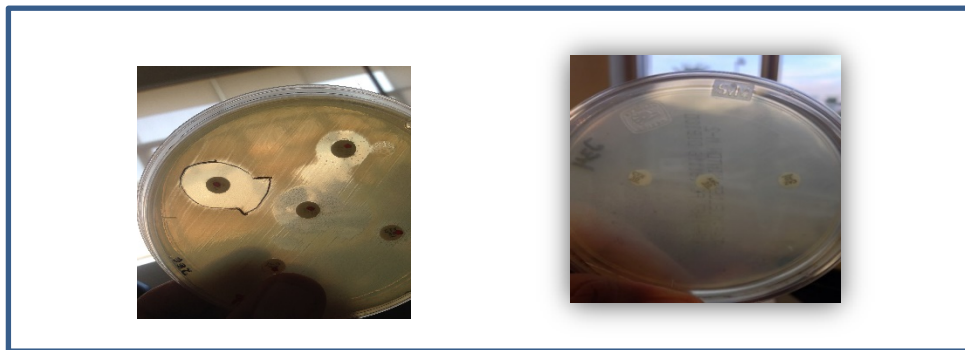
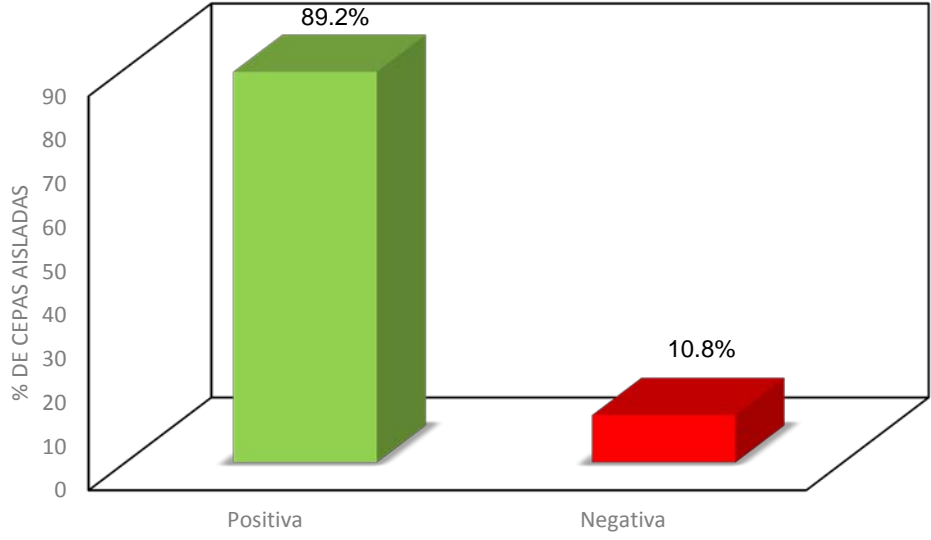


Figura 8. Prueba de tamizaje para β -lactamasas espectro extendido (Amoxicilina/Ac. Clavulanico (AmC), Ceftazidima (CAZ), Cefotaxima (CTX), Efecto de sinergismo del inhibidor con los discos (efecto huevo).

Obteniendo como resultados los siguientes porcentajes (Gráfica 2), los aislamientos muestran un alto porcentaje de resistencia a β -Lactámicos, permitiendo observar que la resistencia a BLEE esta expresada en la mayoría de las cepas aisladas independientemente del sitio de muestreo.



Gráfica 2. Resultados de la prueba de tamizaje de Jarlier por cada aislamiento.

Prueba de tamizaje para detección de carbapenemasas.

Método modificado para la inactivación de carbapenemes (mCIM CLSI, 2017)

Para detectar si las cepas aisladas cuentan con un perfil de resistencia a carbapenemes se realizó un aprueba por difusión en disco (figura 7).

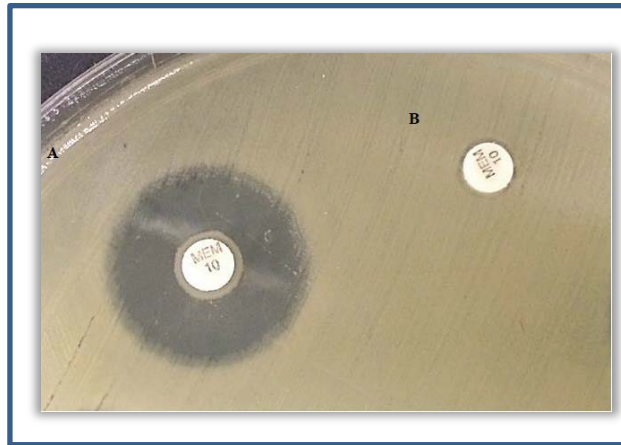
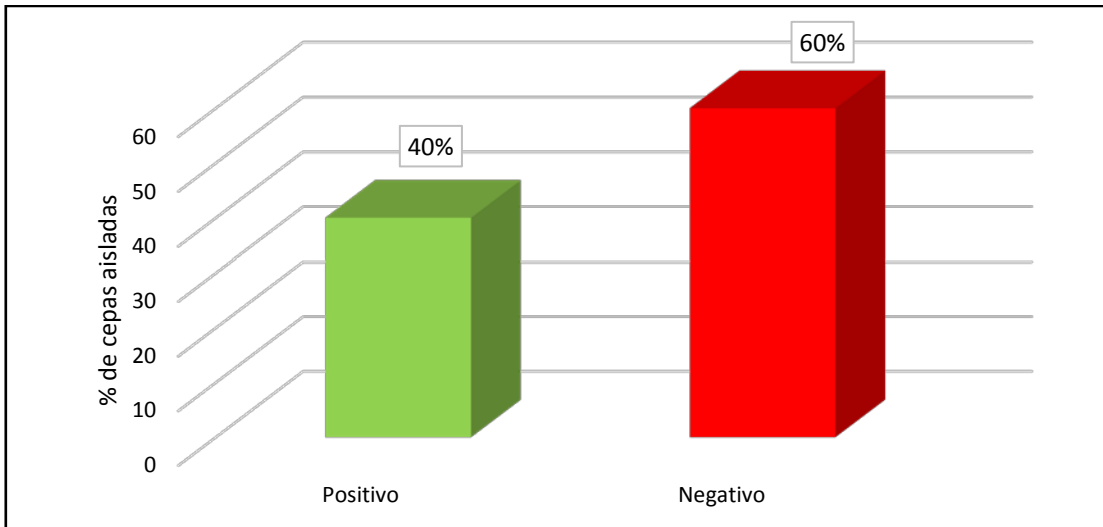


Figura 9. Método modificado para la inactivación de carbapenemes. A) Control negativo, B) control positivo. Meropenem (MEM) (tomada del CLSI 2017).

Como resultados se obtuvieron los siguientes porcentajes (Grafica 3), los aislamientos muestran un porcentaje significativo de resistencia a carbapenemes, permitiendo observar que la resistencia está presente en las cepas aisladas independientemente del sitio de muestreo.

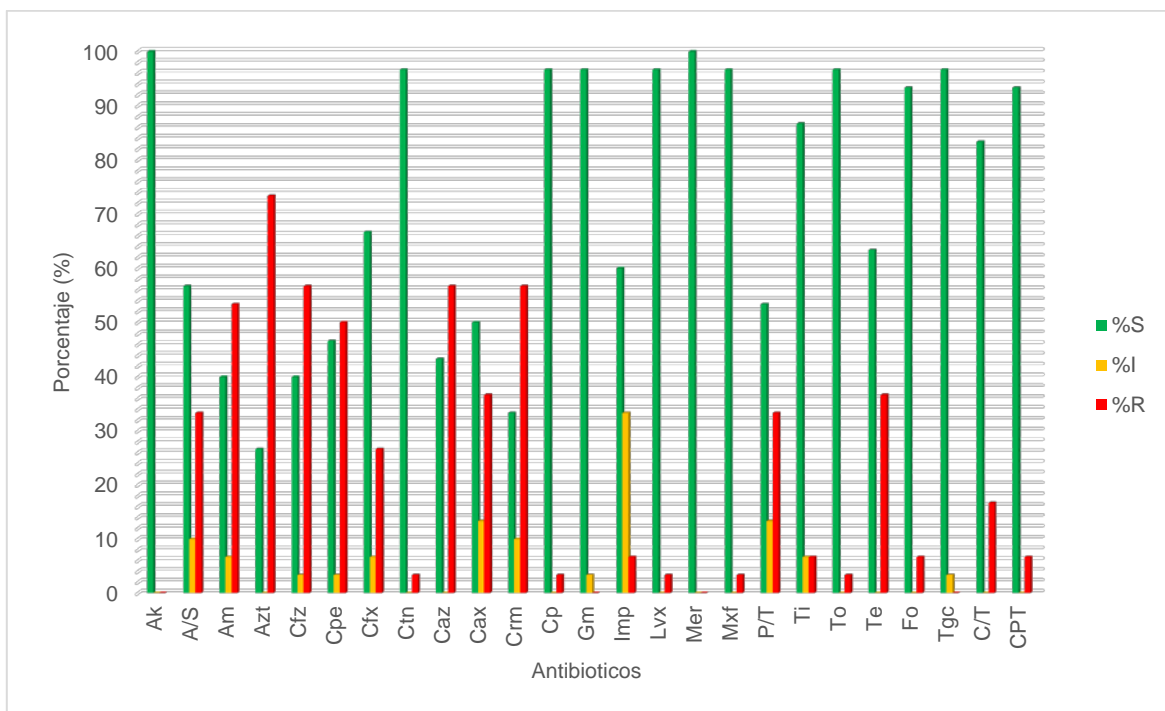


Gráfica 3. Resultados de la prueba de tamizaje de mCIM por cada aislamiento.

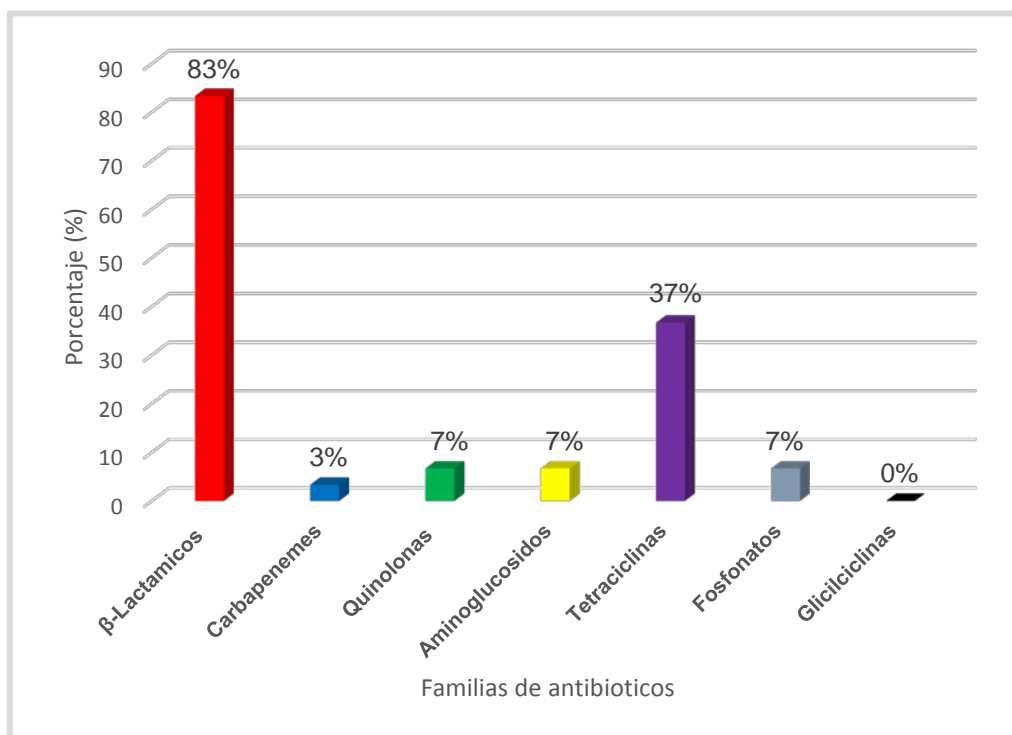
Susceptibilidad antimicrobiana por concentración mínima inhibitoria

Se determinó la susceptibilidad a los antibióticos seleccionados con el panel Negativo Combo 44 de Microscan (Gráfica 4). Se observó que los antibióticos con mayor resistencia fueron Aztreonam (Azt) con un 73% seguido de Ampicilina (Am) con 53%, Cefazolina (Cfz), Ceftazidima (Caz) y Cefuroxima (Crm) con 57%; en cuanto a los antibióticos con mayor sensibilidad observamos que amikacina (Ak) y Meropenem (Mer) con 100%, Cefotetan (Ctn), Ciprofloxacino (Cp), Levofloxacino (Lvx), Moxifloxacino (Mxf), Gentamicina (Gm) y Tigeciclina (Tgc) con 97% respectivamente.

Grafica 4. Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana por antibióticos analizados por el método semi automatizado MicroScan



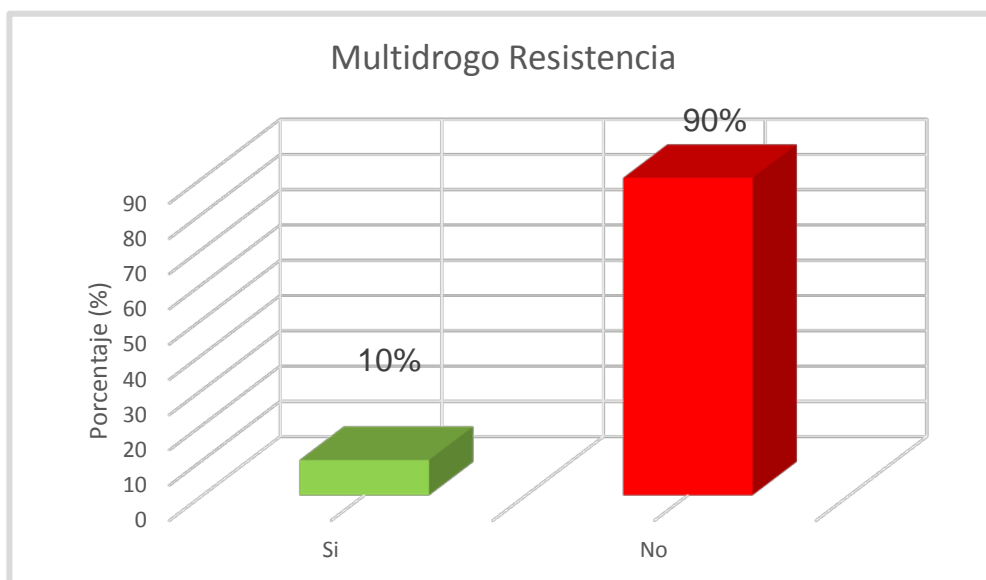
Se realizó la agrupación de los antibióticos analizado en las diferentes familias (Gráfica 5), las cuales mostraron los siguientes resultados; la familia con mayor resistencia fue la de β -Lactámicos con 83% seguido de las Tetraciclinas con un 37%; así mismo las demás familias mostraron resistencia pero en menor porcentaje como lo fue con las Glicilcilcinas que no mostraron resistencia para ningún aislamiento.



Gráfica 5. Resultados de porcentaje de resistencia en las cepas a las diferentes familias de antibióticos analizadas.

Se realizó el análisis de multidrogo resistencia (MDR) para las cepas de Enterobacterias identificadas (n=30), para detectar el porcentaje total de cepas

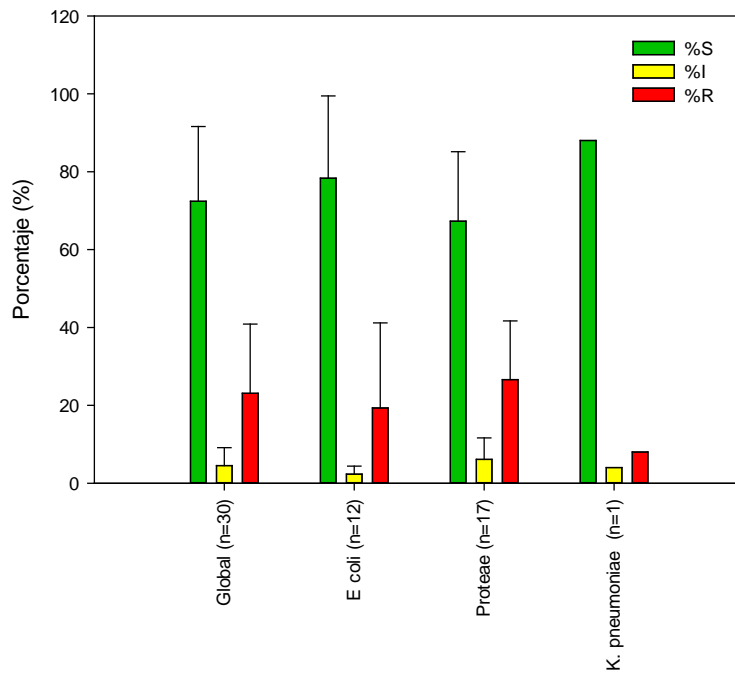
que presentan esta característica (Gráfica 6), se observó que solo el 10% (n=3) mostraron este perfil y que el 90% (n=27) no lo presentaron.



Grafica 6. Resultados del análisis de multidrogo resistencia para las cepas aisladas

Se analizaron los resultados mediante la agrupación de los aislados en 3 géneros diferentes de Enterobacterias mostrando los siguientes resultados (Gráfica 7), del total de las cepas aisladas (n=30) se distribuyeron los siguientes porcentajes, el 72.4% de las Enterobacterias fueron sensibles (S) a los antibióticos probados, 4.53% de carácter intermedio (I), 23.07% resistentes (R), como consecuencia el total de las cepas muestra que para el análisis del MAR índice la media fue de 0.23 lo cual indica que algunas cepas tiene un riesgo de contagio elevado para aquellas personas que tengan contacto con ellas.

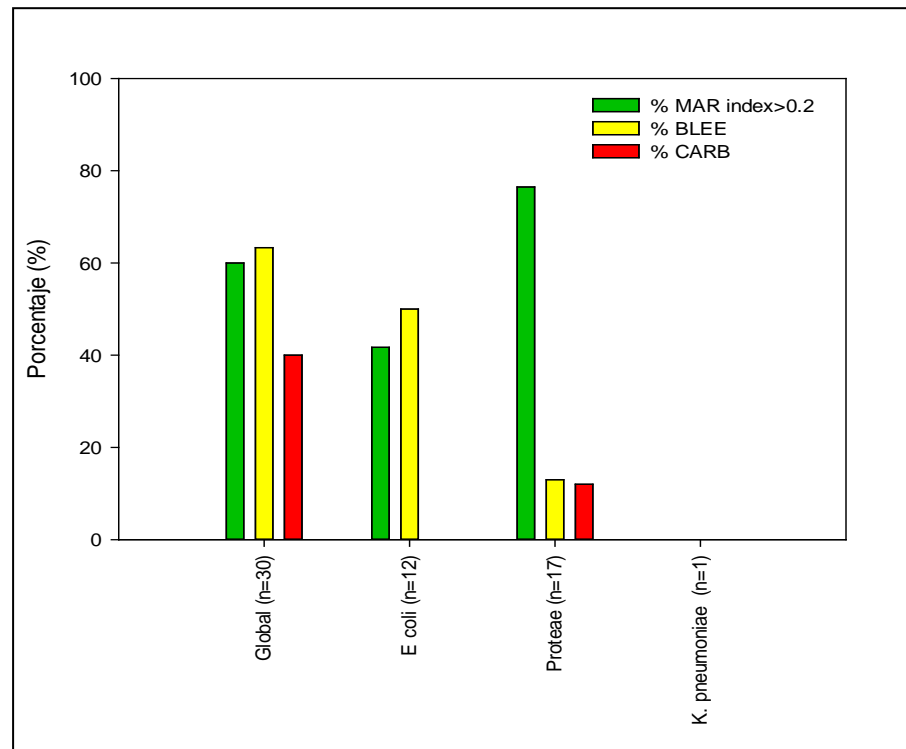
Para *E.coli* (n=12) asiladas el 78.33% fue S, 2.33% fue I, 19.33% R y una media de 0.19 para MAR índice. El género *Proteae spp* (n=17) mostró que el 67.29% fue S, 6.12% fue I, 26.59% mostro R y una media de 0.27 de MAR índice. Por ultimo *K. pneumoniae* (n=1) mostró: 88% de S, 4% fue I, 8% de resistencia.



Grafica 7. Resultados del porcentaje susceptibilidad antimicrobiana a los grupos de bacterias aislados.

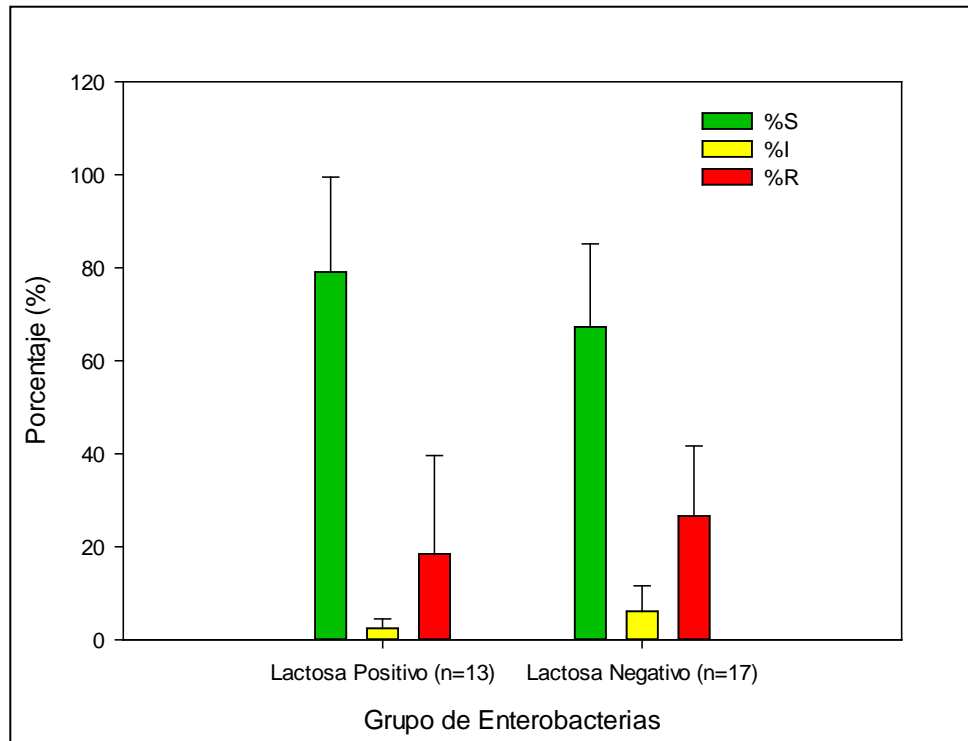
Así mismo se analizaron los perfiles de resistencia en las cepas aisladas para β -Lactámicos y Carbapenemes, mediante la pruebas de tamizaje (Jarlier y mCIM) se observaron los siguientes resultados (Gráfica 8) para la determinación de perfiles fenotípicos de resistencia a antimicrobianos como β -Lactámicos y Carbapenemes. El global de las cepas (n=30) fue de 63.33% positivo a BLEE, 40% fueron positivos para el fenotipo de carbapenemasas. Se analizaron todas aquellas cepas que dieron un resultado por arriba de >0.2 para Índice MAR y se observó que el 60% de ellas están por arriba del rango, lo cual indica que las cepas tiene un alto riesgo de contagio para la población expuesta a las mismas, de manera que también se analizó los resultados por genero bacteriano lo cual mostro que para *E.coli* (n=12) el 50% fue positivo para BLEE, para la detección ce carbapenemasas ninguna aislado de *E.coli* fue positivo, mientras que para el

análisis del índice MAR 41.7% estuvo por arriba de rango de riesgo. Para el género *Proteae* spp (n=17) la producción de BLEE fue positivo en un 76.47%, con un 70.59% para la confirmación de resistencia a carbapenemes, mientras que para el índice MAR por arriba del rango se mostró que el 76.47% tiene un riesgo. Para *K. pneumoniae* (n=1) no mostro resistencia a ninguno de los dos fenotipos ni un riesgo por parte del índice MAR.



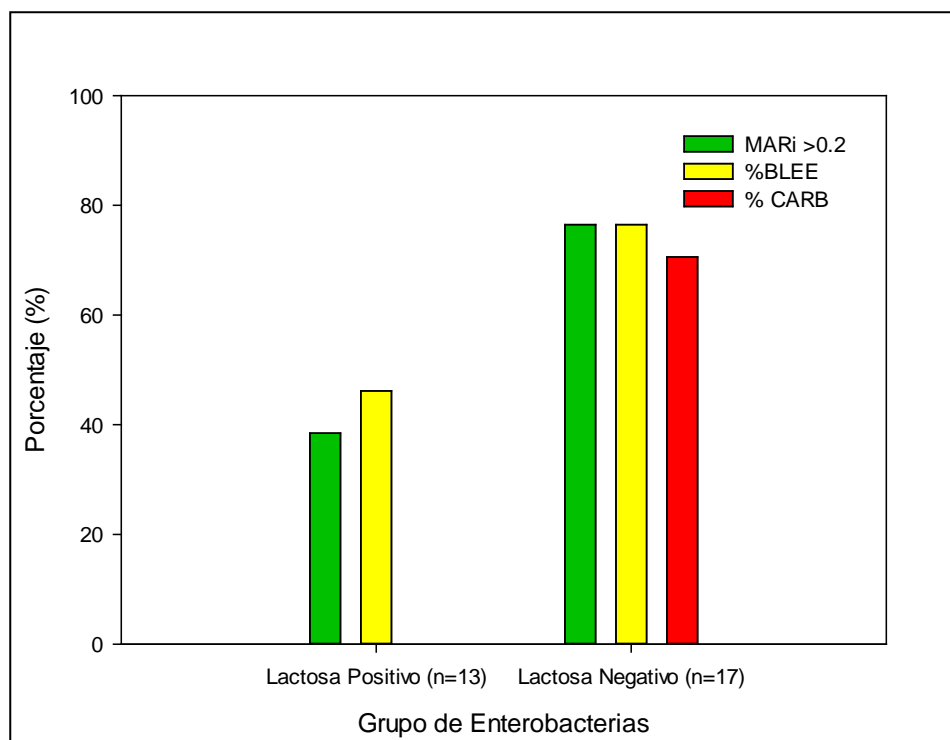
Grafica 8. Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR >0.2 los grupos de bacterias aislados.

Así mismo se hizo el análisis de la susceptibilidad microbiana por grupo de Enterobacterias separándolas en dos: las que son lactosa positiva (n=13) y lactosa negativo (n=17). Se observaron los siguientes resultados (Gráfica 9), para el grupo de lactosa positivos el 79.08% fue S, con 2.46% fue I, 18.46% de R y para el índice MAR se mostró una media de 0.18 para este grupo; mientras que el grupo de lactosa negativo se observó que el 67.29% fue S, 6.12% fue I, 26.59% mostró R y el índice MAR mostro una media de 0.27.



Gráfica 9. Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana para los grupos de bacterias lactosa positivos y lactosa negativos

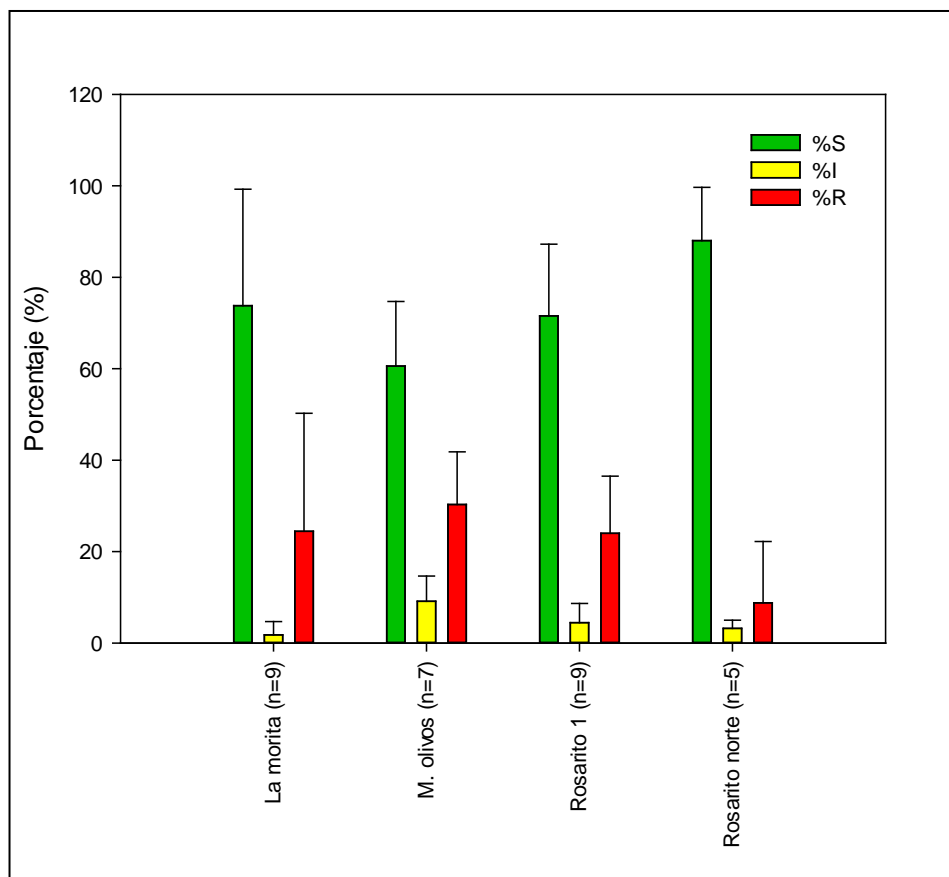
Así mismo para la detección de fenotipos de resistencia y riesgo por índice MAR se analizaron para cada grupo bacteriano, lo cual mostró (Gráfica 10) para los lactosa positivo que el 46.15% fue positivo para la prueba de BLEE, para la prueba de carbapenemasas ninguna cepa mostró resistencia y el análisis del índice MAR arrojó que el 38.46% de las cepas de aisladas de este grupo presentó un rango arriba de >0.2 como un riesgo.



Grafica 10. Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR >0.2 los grupos bacterianos

Posteriormente se realizó el análisis de los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana por PTAR en los dos municipios estudiados (Gráfica 11), para el municipio de Tijuana se analizó Monte de los olivos (MO) de las cuales se observó n=7 aislamientos, se observó que el 60.57% fue S, 9.14% fue I, así como el 24.44% mostró R y como promedio de índice MAR se obtuvo 0.3. Para la PTAR La morita (LM) en la cual se tuvieron n=9 aislamientos, se observó lo siguiente, 73.78% fue S, 1.78% fue I, 24.44% mostró R, el promedio de índice MAR fue de 0.24.

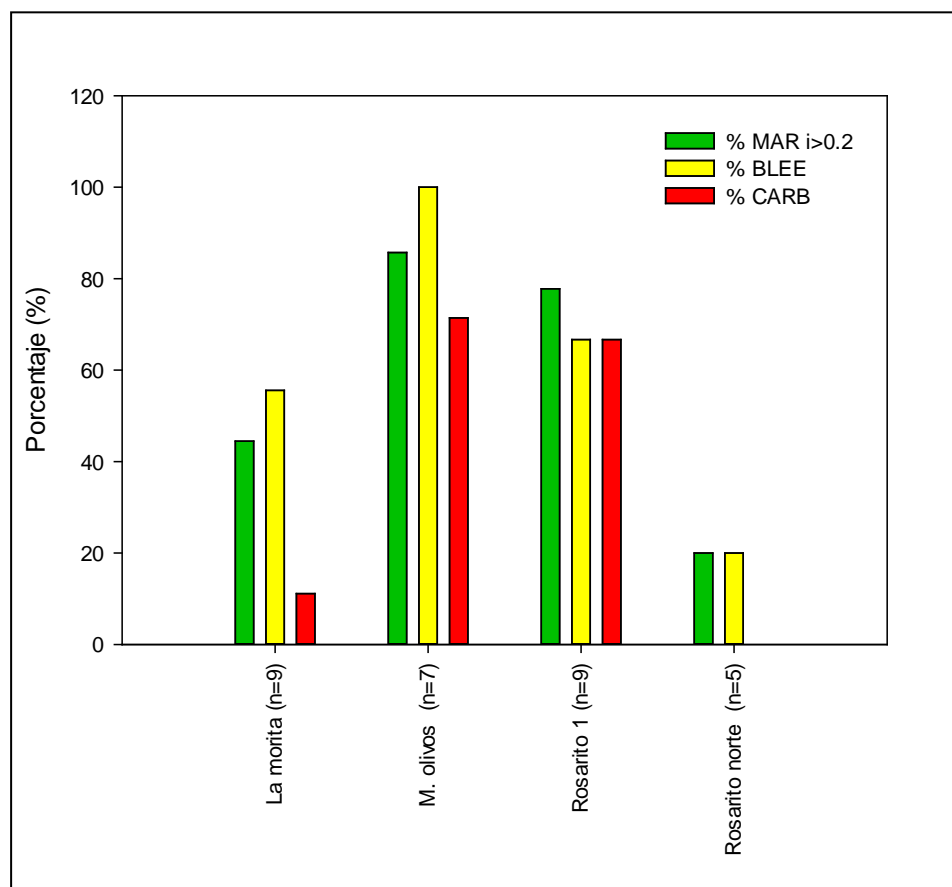
En el municipio de Rosarito se analizó Rosarito 1 (R1) es la cual hubo n=9 aislamientos, los cuales mostraron que el 71.56% fue S, 4.44% fue I, 24% mostró R y como promedio para el índice MAR se obtuvo 0.24. Para la PTAR Rosarito norte (RN) donde se aislaron n=5 mostraron que el 88% fue S, 3.20% fue I, así como el 8.88% mostró R y el promedio para el índice MAR fue 0.09.



Grafica 11. Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana para para las diferentes PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.

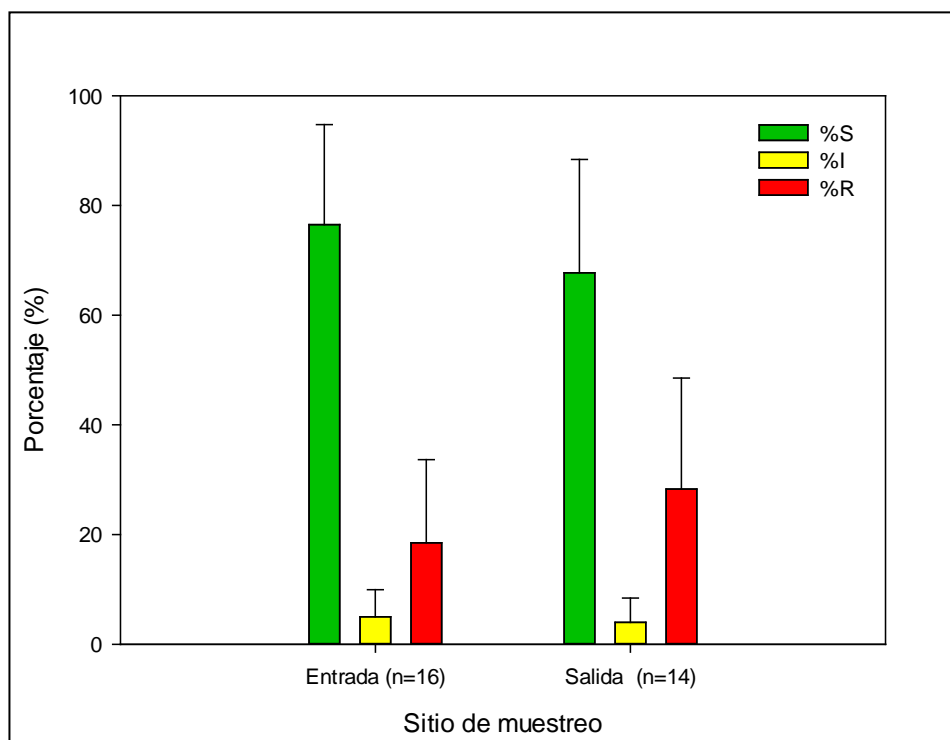
Se llevó acabo el análisis de los fenotipos de resistencia a β -Lactámicos, carbapenemes y el índice MAR por arriba del rango de riesgo (>0.2) de igual manera se analizó por PTAR (Gráfica 12) de los dos municipios lo cual arrojó los siguientes resultados: para MO el 100% mostró un perfil positivo para BLEE, 71.43% fue positivo para carbapenemasas y el 85.71% estuvo por arriba del rango

de riesgo para el índice MAR. En cuanto a LM el 55.56% fue positivo para BLEE, 11.11% fue positivo para carbapenemasas y el 44.44% mostró un índice MAR por arriba del rango de riesgo de contagio. En cuanto a las PTAR R1 se observó que el 66.67% fue positivo para BLEE, así como el 66.67% dio positivo para carbapenemasas y el 77.78% estuvo por arriba del índice MAR con riesgo de contagio. En cuanto la PTAR RN el 20% fue positivo para BLEE, mientras que ninguna cepa mostro un fenotipo positivo para carbapenemasas. El 0.09% estuvo por arriba del rango de riesgo para las cepas aisladas.



Grafica 12. Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR > 0.2 para las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.

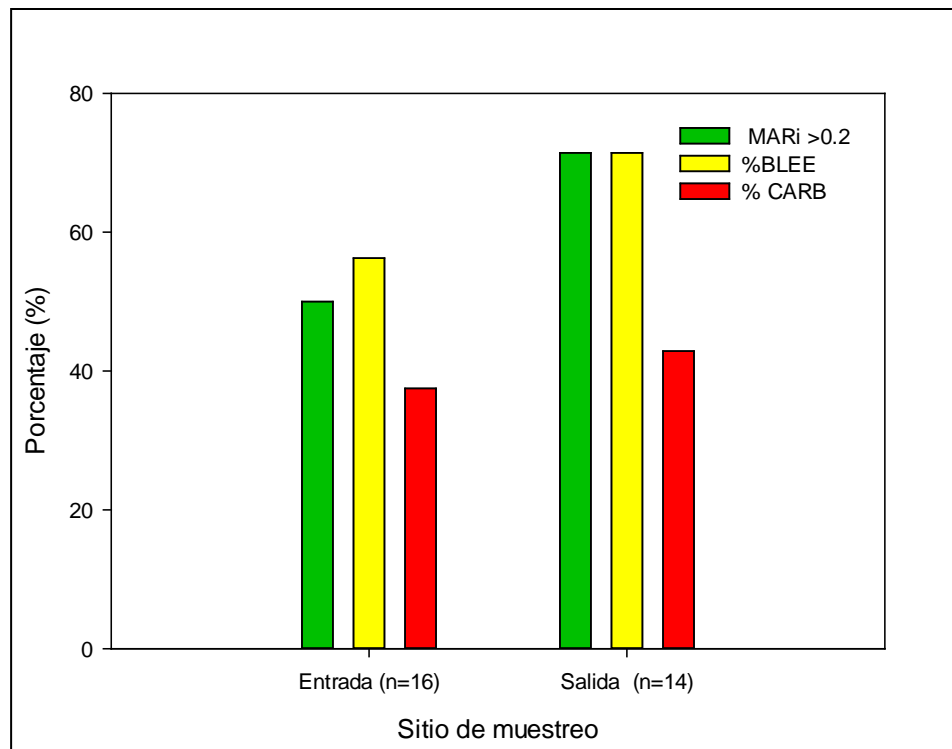
De igual manera se analizó la relación de susceptibilidad antimicrobiana comparando la entrada y salida de las PTAR (Gráfica 13) lo cual arrojó los siguientes resultados: en la entrada (n=16) se observó que 76.50% fue S, 5% fue I, 18.50% mostró R. Mientras que el promedio para el índice MAR fue de 0.19. En cuanto a la salida (n=14) el 67.71% fue S, 4% fue I, el 28.29% mostró R, el promedio para el índice MAR fue 0.28.



Gráfica 13. Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana para la entrada y salida de las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.

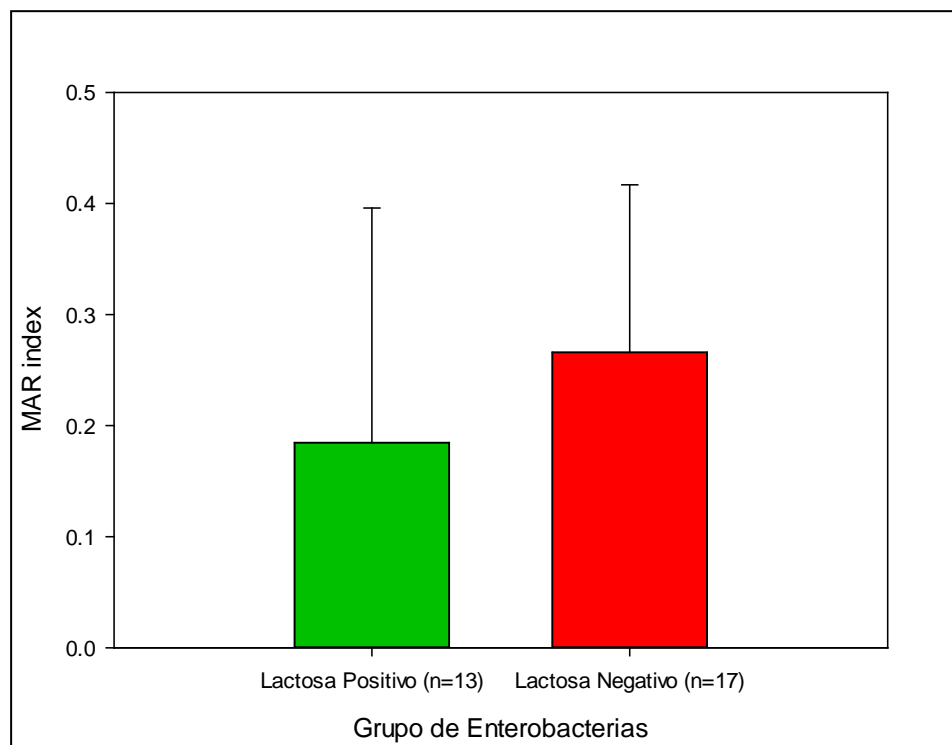
Para el análisis de los fenotipos de resistencia también se analizaron en los dos sitios de muestreo, lo cual nos mostró los siguientes resultados (Gráfica 14): para la entrada se observó que el 56.25% fue positivo para BLEE, 37.5% dio positivo

para la prueba de carbapenemasas, mientras que el 50% mostró un rango >0.2 lo cual indica un riesgo de contagio alto. En cuanto a la salida el 71.43% fue positivo para BLEE, 42.86% fue positivo para la detección de carbapenemasas, se observó que el 71.43% muestra una rango >0.2 para el análisis de riesgo de contagio.



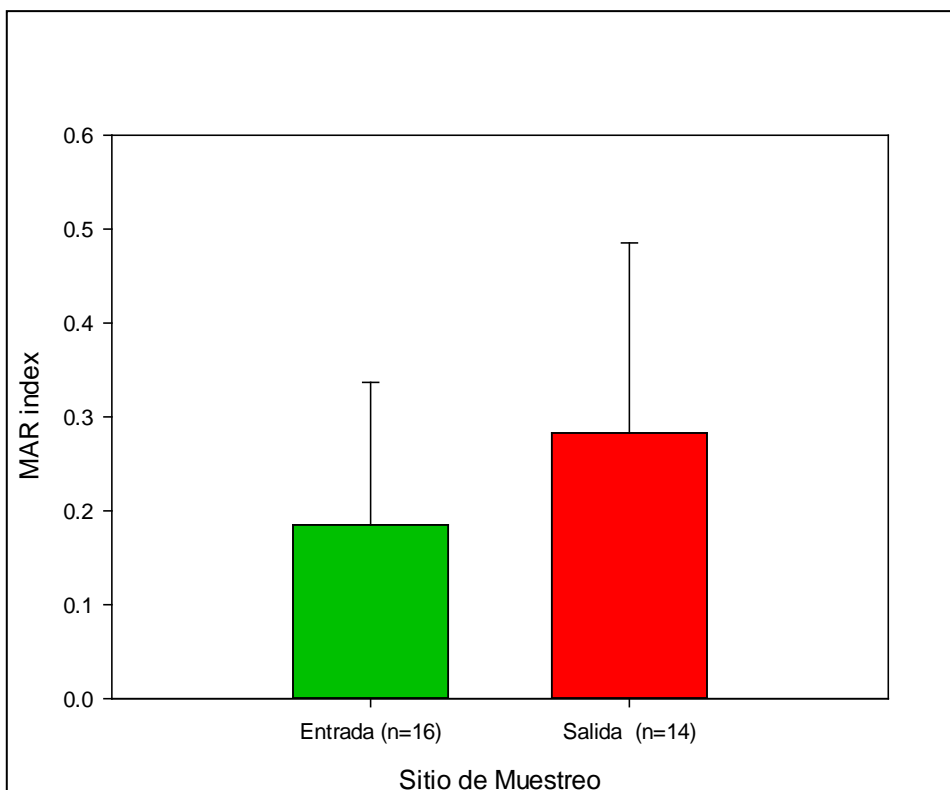
Grafica 14. Resultados de las pruebas fenotípicas de Jarlier, mCIM e índice MAR >0.2 para la entrada y salida de las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.

Para el análisis de riesgo de Infectocontagiosidad se tomó en cuenta el rango de riesgo de contagio para Índice MAR (>0.2) se agruparon los resultados en dos diferentes escenarios, el primero es por grupo de Enterobacterias (Gráfica 15) en el cual se observó que el grupo de Enterobacterias lactosa negativo tienen más riesgo ya que sobrepasa el rango (línea punteada) analizado con anterioridad, sin embargo aunque las Enterobacterias lactosa positivos no sobrepasan el rango de riesgo de contagio, están muy cerca del límite.



Grafica 15. Resultados del índice MAR >0.2 para los grupos de Enterobacterias aisladas en las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.

El segundo escenario es por sitio de muestreo dentro de las PTAR (Gráfica 16) lo que nos dió como resultados que las cepas aisladas de la salida de las PTAR están por arriba del rango de riesgo de contagio que menciona el índice MAR (línea punteada), mientras que en la entrada están al límite superior sin sobrepasar el rango de riesgo.



Gráfica 16. . Resultados del índice MAR >0.2 para la entrada y salida de las PTAR de los municipios de Tijuana y Rosarito B.C.

IX. DISCUSIÓN

Para fijar los diferentes puntos críticos en la toma de muestra, se seleccionaron las zonas con mayor carga microbiana, en la evaluación de los puntos críticos se tomó en cuenta las diferentes etapas en el proceso, el flujo de agua residual y la capacidad de la planta tratadora.

De acuerdo a los criterios para elegir los puntos críticos para este estudio, se seleccionaron la entrada y la salida de flujo debido a que fueron los puntos con mayor carga microbiana $CM >2400$ NMP/100mL en contraste con los estudios realizado por (Biswal *et al*, 2014) que seleccionaron tres puntos críticos con la mayor carga microbiana aunque en sus plantas tratadoras de agua en cualquiera de los puntos se determinó una carga microbiana dentro de los límites permisibles que marca su normatividad ($CM >1500$ NMP/100mL) además ellos determinaron que los cambios de parámetros fisicoquímicos podrían cambiar la dinámica del proceso viéndose reflejado en el impacto del análisis. Considerando en las dos investigaciones que existe mayor probabilidad de aislar bacterias resistentes a β -Lactámicos cuando la concentración de bacterias aisladas es mayor.

De acuerdo a la reproducibilidad de los resultados y a la eficiencia del tratamiento entre las PTAR analizadas en los dos estudios (Andersen *et al*, 1993) se seleccionaron 2 puntos críticos, la entrada de agua residual a la planta tratadora con la concentración total de indicadores de contaminación fecal en el agua antes de entrar al proceso y la salida al efluente como resultado final del tratamiento del agua para su reusó, el criterio de selección de los puntos críticos fueron semejantes y los resultados mantienen el mismo comportamiento en los dos estudios, Andersen observa que la eficiencia del Tratamiento de Agua Residual (TAR) es baja, y considera al igual que en este estudio con los resultados bajos en eficiencia, que el punto crítico al final del TAR controla la eficiencia y la definición de la diversidad de la carga microbiana.

Los periodos de toma de muestra en las PTAR se realizaron el mismo día para no cambiar la constante de flujo de agua en el proceso de tratamiento y la hora del día, también se muestreo sabiendo que el agua residual provenía de diferentes puntos de origen (aguas residuales de la ciudad, aguas residuales de los mataderos, y efluentes tratados liberados en el río) (Diallo et al., 2013), se sabe que algunos de los sitios de muestras venían con un pre tratamiento. Este estudio revela que en los diferentes periodos de muestreo no existe una diferencia significativa en cuanto al tratamiento ya que como resultado tuvimos resultados por arriba de los límites permisibles por la NOM-003-SEMARNAT-1997, en comparación con (Pillay *et al*, 2016), que tomaron en un periodo parecido y en diferentes PTAR igual que este trabajo, la diferencia es que ellos tomaron muestras después del proceso a diferentes distancias de la descarga original para ver la calidad del tratamiento y ver el flujo de la carga microbiana en las distancias analizadas.

La concentración permitida por la norma NOM-003-SEMARNAT-1997 permitió analizar 4 diferentes PTAR tanto en el municipio de Tijuana así como en Rosarito, donde se observaron pequeñas fluctuaciones en la carga microbiana en los dos últimos periodos de muestreo lo que nos permite identificar que un alto porcentaje de nuestras muestras analizadas no cumplen con los dichos límites ni para uso indirecto y directo. La remoción de indicadores de contaminación fecal es de suma importancia ya que nos indican lo segura que puede ser el agua después del tratamiento para el reusó de la misma, en comparación con (Zanotto et al, 2016), donde se demuestra que el tratamiento es eficiente removiendo el 98% de la carga total de microorganismos totales aislados. De acuerdo con (Contreras et al., 2017) la supervivencia de las bacterias entéricas en ecosistemas acuáticos tiene una importancia considerable ya que muchos miembros de este grupo causan infecciones en el humano.

La etiología de mayor prevalencia de esta investigación fue *E. coli* con un 40%, seguida de otros géneros de Enterobacterias como *Proteae spp* con importancia

clínica, en comparación con (Ojer-Usoz *et al*, 2014), donde ellos encuentran que la *E.coli* esta en mayor proporción (73%), diseminación de estos géneros así como de *E. coli* representan una alarma para el medio ambiente así como para el contacto con la población que está expuesta. La cloración es el principal método para la desinfección del agua tratada, se sabe que las bacterias resisten a este método de manera alarmante, (Pillay & Olaniran, 2016), también se utilizó la desinfección por UV que tiene mayor eficiencia al momento de la desinfección, sin embargo depende del flujo de agua tratado así como del tiempo de residencia, algunos estudios han demostrado que *E.coli* es más susceptible al UV que en otros coliformes. (Quezada *et al.*, 2016), sin embargo (Fahrenfeld *et al*, 2013) han demostrado en un estudio de laboratorio controlado que el UV típico utilizado en las PTAR si reduce las bacterias resistentes a antibióticos pero no a los genes de resistencia, por lo que el proceso de tratamiento no es el adecuado para mejorar la calidad microbiológica del agua.

El análisis de los perfiles de resistencia nos permitieron observar que en el estudio es muy alto para β -Lactámicos lo que conlleva una resistencia a ampicilinas, cefalosporinas de 1, 2,3 generación y Monobactámicos, esto nos podría indicar que las Enterobacterias asiladas de las PTAR tienen contacto con estos antibióticos de manera frecuente como para adquirir la resistencia. En comparación con (Osińska *et al*, 2017) donde el porcentaje de cepas resistentes después del tratamiento de agua residual bajo de 91.12% a 99.99%. De igual manera las BLEE, constituyen un problema terapéutico y epidemiológico de gran magnitud, la presencia de estas cepas en las infecciones, así como en el ambiente conllevan a multiresistencia ya que son portadoras de otros genes que provocan resistencia cruzada a Quinolonas, amino-glucósidos; de ahí la gran importancia de una adecuada y oportuna identificación (Lezameta *et al*, 2010). La realización de estudios de vigilancia de Enterobacterias productoras de BLEE ha demostrado su utilidad en el estudio de brotes epidemiológicos y se considera una herramienta esencial en los programas de control y prevención de la infección por estos microorganismos (Iglesias, 2015).

En cambio el porcentaje encontrado para la prueba de carbapenemasas fue relativamente bajo ya que hubo algunas cepas que dieron positiva la prueba, en este estudio no enfocamos es detectar esta resistencia de cepas aisladas de PTAR con el fin de identificar si algunas de las Enterobacterias que salen en el agua para su reúso. Entonces, la rápida y eficaz detección de estas bacterias resulta crítica, no solo para la adecuada terapéutica del paciente, sino para instaurar medidas de control tendientes a evitar su diseminación (Nicola *et al*, 2012), sin embargo es otros estudios se ha detectado porcentajes bajos de resistencia a carbapenemes. (Azam *et al*, 2016) encontraron que al menos el 8% de sus aislados presentaros resistencia.

En cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana se analizaron un total de 25 antibióticos que pertenecen a 7 familias diferentes, teniendo a los β -Lactámicos (83%) y las tetraciclinas (37%) como las familias con mayor porcentaje de resistencia, en comparación con (Ramírez Castillo *et al.*, 2013) que solo analizó 13 antibióticos, ellos observan que de igual manera la resistencia a β -Lactámicos es elevada teniendo como resultado que le 39.3% son resistentes, en este estudio se observó que el 7% de las cepas aisladas son resistentes a la familia de Quinolonas mientras que Ramírez y colaboradores obtuvieron 4%, estos antibióticos son la primera línea para el tratamiento contra infecciones gastrointestinales y de tracto urinario. En cuanto al perfil de MDR solo se obtuvieron 3 aislamiento (10%) lo cual no es alarmante pero si genera duda sobre un futuro control de estas cepas, mientras que Ramírez observa que el 13% de sus cepas tienen este mismo perfil, esto nos indica que existe significancia epidemiológica lo cual podría generar un problema de salud pública, lo cual indica la resistencia a un simple agente en tres familias diferentes lo cual disminuye el tratamiento terapéutico dentro de la clínica (Magiorakos *et al.*, 2012).

En cuanto a los resultados de susceptibilidad obtenidos en las PTAR logramos observar primero que la resistencia se ve más marcada en el municipio de Tijuana, en especial en la PTAR MO, se sabe que esta planta tiene un flujo mayor que las

demás y que a su alrededor existe población y hospitales. En cuanto a Rosarito la resistencia es menor en comparación con el otro municipio, aunque estas también cuentan con población y hospitales pero son de menor flujo, en cuanto a los perfiles de resistencia también se observa que MO ya que el 100% de los aislados se mostraron positivos para BLEE, de igual manera (Ojer-Usoz et al., 2014) observan en su estudio del 100% de sus aislados muestran un perfil de BLEE y comparando con otras PTAR su porcentaje oscila entre 34-90%, Mientras que (Harnisz et al, 2013) observan que las bacterias con perfil de resistencia BLEE oscila entre 40-90% agua residual después del tratamiento. Para el perfil de resistencia a carbapenemes de igual manera se observó muy elevada con 71.43% lo cual es alarmante ya que la población de los alrededores está expuesta a esta agua de reúso, el estudio de (Ojer et al, 2014) muestra que solo el 6.5% demostró un perfil de resistencia a carbapenemes con puntos de corte evaluados por CMI. Las PTAR pueden proveer las condiciones adecuadas para la propagación y establecimiento de las Enterobacterias resistentes a antibióticos (Bouki et al, 2013).

El siguiente análisis fue comparando los resultados de las dos puntos de muestreo, la salida y entrada de la planta lo cual refleja el antes y después del tratamiento del agua residual para su reúso, se observa que es alto el porcentaje de sensibilidad de las Enterobacterias que entran con este perfil, sin embargo al compararlo con la salida la sensibilidad baja un 8-9%, hablando de resistencia se observa un aumento del 9-10% demostrando que la resistencia de la Enterobacterias aisladas no disminuye si no al contrario aumenta poniendo en duda el éxito del tratamiento de agua residual. (Al-Jassim et al, 2015) encontraron que el 20% las cepas que fueron aisladas antes de la cloración son resistentes al menos a 3 familias de antibióticos, sin embargo al pasar por la cloración el porcentaje aumenta hasta un 28% aumentando su resistencia de 3 a 5 familias de antibióticos. Lo cual indica de igual manera un ineficiente tratamiento. (Chagas et al, 2011) observaron que las Enterobacterias después de tener contacto con el proceso de cloración la resistencia incremento de manera significativa,

aumentando su resistencia de 2-3 antibióticos. En otras publicaciones también se ha demostrado que el tratamiento del agua residual no contribuye a reducir las fracciones de resistencia antimicrobiana en las bacterias, si no que a veces la incrementa en la salida al efluente (Vaz-Moreira *et al*, 2014).

Para analizar la MDR desde un panorama de riesgo de contagio se utilizó el índice MAR (MAR index) agrupándolos en dos escenarios como se menciona con anterioridad, las bacterias Lactosa negativas (n=17) son las que sobrepasan el índice MAR >0.2 dentro de este grupo el principal agente etiológico es *Proteus spp*, mientras que el grupo de bacterias lactosa positivas (n=13) no sobrepasan este límite, (Osundiya *et al.*, 2013) demuestran que para el género *Klebsiella spp.* que pertenece al grupo de bacterias lactosa positivas el 66.7% de los aislamientos estuvo por arriba del límite del índice, mientras que el 33.3% no paso este límite, en cambio segundo escenario (Korzeniewska *et al*, 2013) observan que el índice calculado para las muestras asiladas en la salida de la PTAR tuvo un rango de 0.43-0.56 para *E.coli*, mientras que en la entrada mostró un rango de 0.41-0.46 respectivamente. En este estudio se mostró que del total de aislamientos obtenidos, el índice >0.2 se observa en las salidas de las PTAR es asumiendo que es después del tratamiento cuando salen con un riesgo alto de exposición a antibióticos, otros estudios demuestran el mismo comportamiento (Chitanand *et al*, 2010) en el agua residual antes del tratamiento maneja índices de 0.15 mientras que al terminar el tratamiento maneja 0.43. En algunos caso se sabe que esta agua antes de entrar a tratamiento tuvo contacto con, diferentes zonas, como lo son agrícolas, ganadería y otros desecho humanos que tuvieron contacto con antibióticos de igual manera, esto aumentando el riesgo de contagio ya que alguna de ellas llegan a tener contacto con la población, sumado a su incremento en la resistencia pude ocasionar un problema de salud pública (Riaz *et al*, 2011).

X. CONCLUSIONES

Existe mayor probabilidad de aislar bacterias resistentes a β -Lactámicos cuando la concentración de bacterias aisladas en aguas residuales tratadas es mayor.

Se observa que la eficiencia de TAR es baja, por lo que la ineficiencia en el tratamiento es un punto crítico que controla la eficiencia y define la diversidad de la carga microbiana.

Se identificó que existe un problema en el tratamiento microbiológico de las aguas residuales, ya que al analizar los resultados de este estudio se identificó que no existe una disminución en el NPM del agua residual después del tratamiento por lo que no cumplen con los límites permisibles que la norma exige para ser reusada en la áreas de contacto con la población expuesta.

La remoción de los coliformes tiene que ser de suma importancia ya que si estos persisten después de un tratamiento de agua residual se pueden convertir en un riesgo si son expuestas de manera directa o indirecta la población, sabiendo que las bacterias que pertenecen al grupo de coliformes los cuales pueden llegar a causar infecciones en humanos.

Las Enterobacterias que logran sobrevivir al tratamiento se convierten en un riesgo por presentar una alta resistencia a los antimicrobianos, así mismo se logró identificar que las principales etiologías aisladas causan infecciones gastrointestinales e infecciones diversas, de igual manera el tratamiento no logra ser el adecuado para controlar la salida de las mismas, lo que genera nuevas alternativas de tratamiento.

La detección de perfiles de resistencia nos permite observar si las cepas aisladas de Enterobacterias son resistentes a una familia entera de antibióticos, lo cual nos

da un panorama de la resistencia en el agua tratada y las pautas para próximos estudios para mejorar la calidad de la misma.

La susceptibilidad es de suma importancia ya que nos permite observar el comportamiento de resistencia de las Enterobacterias, entre más antibióticos sean probados más sensible será el análisis de la resistencia múltiple, encontrar cepas MDR es alarmante ya que son cepas que además de resistir el tratamiento del agua residual, son de riesgo alto para aquella población que sea expuesta a esta agua tratada, pudiendo infectar y provocar una infección de difícil tratamiento.

Es de suma importancia en esta investigación el monitoreo de la calidad del agua tratada mediante los análisis de la resistencia de las Enterobacterias aisladas ya que como hemos observado en el presente trabajo la resistencia aumente de manera considerable al salir del tratamiento y dirigirse al efluente para su reuso posterior, sabemos que los antibióticos más usados en las infecciones de mayor prevalencia en la clínica son los β - Lactámicos y encontrar que la resistencia a ellos es muy elevada para todos los muestreos indica que es necesario un cambio en el tratamiento mediante mejoras de la misma, tener un control y monitoreo así como la evolución de estas bacterias multidrogo resistentes para evitar un desequilibrio ambiental y un problema de salud en la población que este expuesta a estas cepas resistentes.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Abia, A. L. K., Ubomba-Jaswa, E., Genthe, B., & Momba, M. N. B. (2016). Quantitative microbial risk assessment (QMRA) shows increased public health risk associated with exposure to river water under conditions of riverbed sediment resuspension. *Science of the Total Environment*, 566–567, 1143–1151. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.155>
- Al-Jassim, N., Ansari, M. I. kram, Harb, M., & Hong, P. Y. (2015). Removal of bacterial contaminants and antibiotic resistance genes by conventional wastewater treatment processes in Saudi Arabia: Is the treated wastewater safe to reuse for agricultural irrigation? *Water Research*, 73, 277–290. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.01.036>
- Andersen, S. R. (1993). Microbiology Effects of Waste Water Treatment on the Species Composition and Antibiotic Resistance of Coliform Bacteria, 26, 97–103. <https://doi.org/10.1007/BF01577343>
- Arcos, M., Ávila, S. L., Estupiñán, S. M., & Gómez, A. C. (2005a). Indicadores Microbiológicos de Contaminación de las Fuentes de Agua. *NOVA*, 3(4), 69–79. Retrieved from http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTREVIS2_4.pdf
- Arcos, M., Ávila, S. L., Estupiñán, S. M., & Gómez, A. C. (2005b). Indicadores Microbiológicos de Contaminación de las Fuentes de Agua. *NOVA*, 3(4), 69–79. Retrieved from http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTREVIS2_4.pdf
- Ashbolt, N. J., Amézquita, A., Backhaus, T., Borriello, P., Brandt, K. K., Collignon, P., ... Topp, E. (2013). Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. *Environmental Health Perspectives*. <https://doi.org/10.1289/ehp.1206316>
- Ayres, R. M., & Mara, D. D. (1996). *Analysis of wastewater for use in agriculture - A Laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques*. WHO. <https://doi.org/95/10419-WHO/GRA/Vammala-7000>
- Azam, M., Jan, A. T., & Haq, Q. M. R. (2016). blaCTX-M-152, a Novel Variant of

- CTX-M-group-25, Identified in a Study Performed on the Prevalence of Multidrug Resistance among Natural Inhabitants of River Yamuna, India. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00176>
- Biswal, B. K., Mazza, A., Masson, L., Gehr, R., & Frigon, D. (2014). Impact of wastewater treatment processes on antimicrobial resistance genes and their co-occurrence with virulence genes in *Escherichia coli*. *Water Research*, *50*, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.11.047>
- Bouki, C., Venieri, D., & Diamadopoulos, E. (2013). Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *91*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.016>
- Castro-Espinoza, L. (2009). Patógenos emergentes como restricción para el reuso de las aguas residuales municipales tratadas de Cd . Obregón , Sonora, *5*(1), 9–21.
- Chagas, T. P. G., Seki, L. M., Cury, J. C., Oliveira, J. A. L., D??vila, A. M. R., Silva, D. M., & Asensi, M. D. (2011). Multiresistance, beta-lactamase-encoding genes and bacterial diversity in hospital wastewater in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, *111*(3), 572–581. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05072.x>
- Chang, Q., Wang, W., Regev-yochay, G., Lipsitch, M., & Hanage, W. P. (2014). Antibiotics in agriculture and the risk to human health : how worried should we be ?, (Levy 1997). <https://doi.org/10.1111/eva.12185>
- Chitanand, M. P., Kadam, T. A., Gyananath, G., Totewad, N. D., & Balhal, D. K. (2010). Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian Journal of Microbiology*, *50*(2), 216–220. <https://doi.org/10.1007/s12088-010-0042-9>
- Contreras, J. D., Meza, R., Siebe, C., Rodríguez-Dozal, S., López-Vidal, Y. A., Castillo-Rojas, G., ... Eisenberg, J. N. S. (2017). Health risks from exposure to untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley, Mexico: A 25-year update. *Water Research*, *123*, 834–850. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.058>
- Coque, T. M., Baquero, F., & Lanza, V. F. (2014). Public health evolutionary

- biology of antimicrobial resistance: priorities for intervention. <https://doi.org/10.1111/eva.12235>
- Cortés, F. I. A., Moeller, G., Violeta, C., Estrada, E., & Hernández, A. R. (2011). El Reuso Del Agua En México.
- Cuido el agua. (2010). Aguas Residuales ::: Cuido el Agua. Retrieved February 1, 2018, from <http://www.cuidoelagua.org/empapate/aguaresiduales/aguasresiduales.html>
- De La Peña, M. E., Ducci, J., & Zamora, V. (2013). Tratamiento de aguas residuales en México. *Banco Internado de Desarrollo*, 42. <https://doi.org/IDB-TN-521>
- Diallo, A. A., Brugere, H., Kerouredan, M., Dupouy, V., Toutain, P. L., Bousquet-Melou, A., ... Bibbal, D. (2013). Persistence and prevalence of pathogenic and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in municipal wastewater treatment plant receiving slaughterhouse wastewater. *Water Research*, 47(13), 4719–4729. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.04.047>
- Dreser, A., Wirtz, V. J., Corbett, K. K., & Echániz, G. (2008). Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. *Salud Pública de México*, 50(2), S480–S487. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342008001000009>
- Fahrenfeld, N., Ma, Y., O'Brien, M., & Pruden, A. (2013). Reclaimed water as a reservoir of antibiotic resistance genes: Distribution system and irrigation implications. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00130>
- Garcia-Gomez C. Gortáres-moroyoqui P Drogui, Sonora, I. T. De, Sur, D. F., Centro, C., & Obregón, C. (2011). Contaminantes emergentes: efectos y tratamientos de remoción Emerging contaminants: effects and removal treatments. *Revista Química Viva*, 10, 96–105.
- Gorchev. (2004). Aspectos microbiológicos. *Guías Para La Calidad de Agua Potable de La Organización Mundial de La Salud*, 105–126. [https://doi.org/10.1016/S1578-1550\(05\)75110-X](https://doi.org/10.1016/S1578-1550(05)75110-X)
- Harnisz, M. (2013). Total resistance of native bacteria as an indicator of changes in the water environment. *Environmental Pollution*, 174, 85–92.

- <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.005>
- Iglesias, C. M. (2015). *Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes*. *Seimc* (Vol. 55). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.12.013>
- Jimenez Cartagena. (2011). Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: Productos farmaceuticos. *Revista Lasallista de Investigacion*, 8(2), 143–153.
- Kappell, A. D., De Nies, M. S., Ahuja, N. H., Ledebuer, N. A., Newton, R. J., & Hristova, K. R. (2015). Detection of multi-drug resistant *Escherichia coli* in the urban waterways of Milwaukee, WI. *Frontiers in Microbiology*, 6(APR), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00336>
- Korzeniewska, E., Korzeniewska, A., & Harnisz, M. (2013). Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 91, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.014>
- Lezameta, L., Gonzáles-Escalante, E., & Tamariz, J. H. (2010). COMPARACIÓN DE CUATRO MÉTODOS FENOTÍPICOS PARA LA DETECCIÓN DE bETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO COMPARISON OF FOUR PHENOTYPIC METHODS TO DETECT EXTENDED-SPECTRUM bETALACTAMASES. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 27(3), 345–51.
- Lösch, L. S., & Merino, L. A. (2012). Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Escherichia coli* provenientes de diversas fuentes de agua del Chaco (Argentina) ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM, 12(4), 913–917.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Maroneze, M. M., Zepka, L. Q., Vieira, J. G., Queiroz, M. I., & Jacob-Lopes, E. (2014). A tecnologia de remoção de fósforo: Gerenciamento do elemento em

- resíduos industriais. *Revista Ambiente E Agua*, 9(3), 445–458.
<https://doi.org/10.4136/1980-993X>
- Marti, E., Jofre, J., & Balcazar, J. L. (2013). Prevalence of Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community Composition in a River Influenced by a Wastewater Treatment Plant. *PLoS ONE*, 8(10), 1–8.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078906>
- Narciso-da-Rocha, C., Varela, A. R., Schwartz, T., Nunes, O. C., & Manaia, C. M. (2014). blaTEM and vanA as indicator genes of antibiotic resistance contamination in a hospital–urban wastewater treatment plant system. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(4), 309–315.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.10.001>
- Nicola, F. G., Nievas, J., & Smayevsky, J. (2012). Evaluación de diversos métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas KPC en *Klebsiella pneumoniae*, 290–302.
- O’Flaherty, E., & Cummins, E. (2017). Antibiotic resistance in surface water ecosystems: Presence in the aquatic environment, prevention strategies, and risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 23(2), 299–322. <https://doi.org/10.1080/10807039.2016.1247254>
- Ojer-Usoz, E., Gonzá Lez, D., García-Jalón, I., & Vitas, A. I. (2014). High dissemination of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in effluents from wastewater treatment plants. *Water Research*, 56, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.041>
- Osińska, A., Korzeniewska, E., Harnisz, M., & Niestępski, S. (2017). Impact of type of wastewater treatment process on the antibiotic resistance of bacterial populations. *E3S Web of Conferences*, 17.
<https://doi.org/10.1051/e3sconf/20171700070>
- Osundiya, O. O., Oladele, R. O., & Oduyebo, O. O. (2013). Multiple Antibiotic Resistance (Mar) Indices of *Pseudomonas* and *Klebsiella* Species Isolates in Lagos University Teaching Hospital. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 14(3), 164–168.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4314/ajcem.v14i3.8>

- Peña-Álvarez, A., & Castillo-Alanís, A. (2015). Identificación Y Cuantificación De Contaminantes Emergentes En Aguas Residuales Por Microextracción En Fase Sólida-Cromatografía De Gases-Espectrometría De Masas (Mefs-Cg-Em). *Tip*, 18(1), 29–42. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.05.003>
- Pérez- Parada, A., Niell, S., Colazzo, M., Besil, N., & Heinzen, H. (2012). Evaluación preliminar de la ocurrencia de contaminantes emergentes en aguas residuales de Montevideo, Uruguay.
- Pillay, L., & Olaniran, A. O. (2016). Assessment of physicochemical parameters and prevalence of virulent and multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* in treated effluent of two wastewater treatment plants and receiving aquatic milieu in Durban , South Africa. *Environmental Monitoring and Assessment*. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5232-4>
- Quezada, M., Rabbia, V., Bello-toledo, H., Calisto-ulloa, N., Domínguez, M., Vergara, L., ... Gonz, D. (2016). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from Antarctic bird feces , water from inside a wastewater treatment plant , and seawater samples collected in the Antarctic Treaty area n Jim e, 10, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.polar.2016.04.002>
- Ramírez-acosta, R. D. J. (2004). Factibilidad financiera del reúso de aguas residuales tratadas en Tijuana , Baja California , bajo el mecanismo del mercado : el caso del proyecto Monte de los Olivos.
- Ramírez Castillo, F. Y., Avelar González, F. J., Garneau, P., Díaz, F. M., Guerrero Barrera, A. L., & Harel, J. (2013). Presence of multi-drug resistant pathogenic *Escherichia coli* in the San Pedro River located in the State of Aguascalientes, Mexico. *Frontiers in Microbiology*, 4(JUN), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00147>
- Riaz, S., Faisal, M., & Hasnain, S. (2011). Antibiotic susceptibility pattern and multiple antibiotic resistances (MAR) calculation of extended spectrum - lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Pakistan. *African Journal of Biotechnology*, 10(33), 6325–6331. <https://doi.org/10.5897/AJB11.086>
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M. C., ... Fatta-

- kassinis, D. (2013). Science of the Total Environment Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Science of the Total Environment, The*, 447, 345–360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.032>
- SEMARNAT. (2013). Normas Oficiales Mexicanas Normas Oficiales Mexicanas NOM-003-SEMARNAT-1997. *Conagua*, 1–65. Retrieved from <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAA-15-13.pdf>
- Sidrach-cardona, R., Hijosa-valsero, M., Marti, E., Luis, J., & Becares, E. (2014). Science of the Total Environment Prevalence of antibiotic-resistant fecal bacteria in a river impacted by both an antibiotic production plant and urban treated discharges. *Science of the Total Environment, The*, 488–489, 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.100>
- Snary, E. L., Kelly, L. A., Davison, H. C., Teale, C. J., & Wooldridge, M. (2004). Antimicrobial resistance: A microbial risk assessment perspective. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(6), 906–917. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh182>
- Stewart, P. S., & Costerton, J. W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 358(9276), 135–138. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05321-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05321-1)
- Subramani, S., & Vignesh, S. (2012). MAR Index Study and MDR Character Analysis of a few Golden Staph Isolates. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, 2(151), 151–154.
- Torres, C. (2012). La resistencia bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming, 1–48.
- Vaz-moreira, I., & Nunes, O. C. (2014). Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: searching the links with the human microbiome, 38, 761–778. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12062>
- Vaz-Moreira, I., Nunes, O. C., & Manaia, C. M. (2014). Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: Searching the links with the human microbiome. *FEMS Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1111/1574->

6976.12062

World Health Organization. (2016). Quantitative Microbial Risk Assessment: Application for Water Safety Management. <https://doi.org/10.1002/9781118910030>

Zanotto, C., Bissa, M., Illiano, E., Mezzanotte, V., Marazzi, F., Turolla, A., ... Radaelli, A. (2016). Identification of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from a municipal wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 164, 627–633. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.040>

XII. ANEXOS

Anexo 1.

qual Variance Test: Passed (P = 0.179)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
La morita	9	0	24.444	25.803	8.601
M.olivos	7	0	30.286	11.514	4.352
Rosarito 1	9	0	24.000	12.490	4.163
Rosarito NTE	5	0	8.800	13.387	5.987

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	1407.416	469.139	1.508	0.236
Residual	26	8086.451	311.017		
Total	29	9493.867			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.236).

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
M.olivos vs. Rosarito NTE	21.486	4	2.942	0.186	No
M.olivos vs. Rosarito 1	6.286	4	1.000	0.893	Do Not Test
M.olivos vs. La morita	5.841	4	0.929	0.912	Do Not Test
La morita vs. Rosarito NTE	15.644	4	2.249	0.401	Do Not Test
La morita vs. Rosarito 1	0.444	4	0.0756	1.000	Do Not Test
Rosarito 1 vs. Rosarito NTE	15.200	4	2.185	0.426	Do Not Test

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a

Análisis estadístico ANOVA

Anexo 2.

Correlación de porcentaje vs índice MAR.

Correlación porcentaje de sensibilidad y MAR Index (n=30)

Grupo de Enterobacterias	r	r ²	r ² Ajust	D.E	F	P
Lactosa Positivo (n=13)	0.996	0.992	0.991	0.02	1321.313	<0.001
Lactosa Negativo (n=17)	0.958	0.918	0.912	0.045	167.057	<0.001

Anexo 3.

Correlación lineal de sensibilidad y resistencia vs índice MAR en Enterobacterias Lactosa positivas

Data source: Data 1 in Notebook2

$$\text{MAR index Lac+} = 1.000 - (0.0103 * \%S \text{ Lac+})$$

N = 13

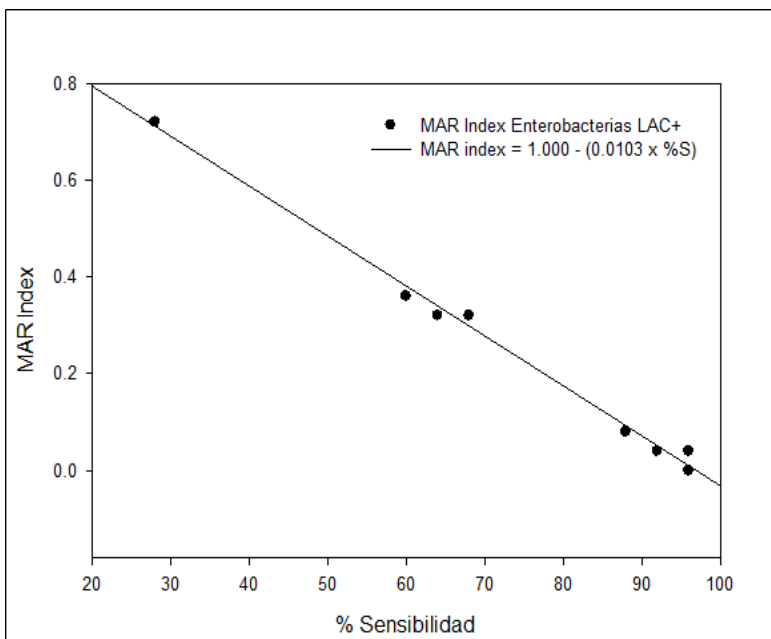
Rsqr =
 R = 0.996 0.992 Adj Rsqr = 0.991

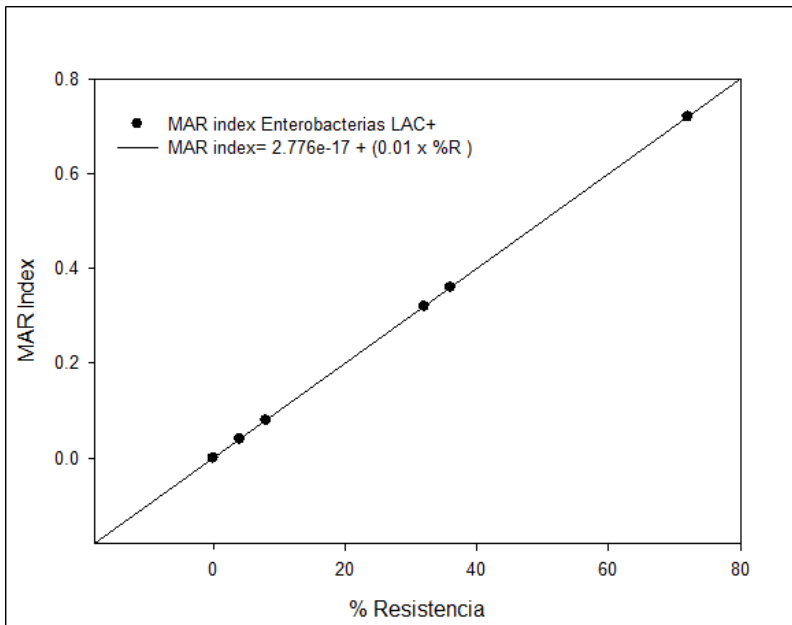
Standard Error of Estimate = 0.020

	Coefficient	Std. Error	t	P
Constant	1	0.0231	43.267	<0.001
%S Lac+	-0.0103	0.000284	-36.35	<0.001

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0.532	0.532	1321.313	<0.001
Residual	11	0.00443	0.000402		
Total	12	0.536	0.0447		





Correlación lineal de sensibilidad y resistencia vs índice MAR en Enterobacterias Lactosa negativas.

Data source: Data 1 in correlaciones tesis

$$\text{MAR index Lac-} = 0.811 - (0.00810 * \%S \text{ Lac-})$$

N = 17

R = 0.958 Rsqr = 0.918 Adj Rsqr = 0.912

Standard Error of Estimate = 0.045

	Coefficient	Std. Error	t	P
Constant	0.811	0.0436	18.621	<0.001
%S Lac-	-0.0081	0.000627	12.925	<0.001

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0.335	0.335	167.057	<0.001
Residual	15	0.03	0.002		
Total	16	0.365	0.0228		

