

Universidad de El Salvador
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
Escuela de Biología



Tema de trabajo de grado para optar al grado de licenciado en Biología:

Evaluación de la calidad microbiológica y presencia de microorganismos multidrogosresistentes del agua del río El Tixcuco y la red de agua que abastece a la Colonia Prados de San Miguel, Municipio de San Miguel, El Salvador

Presentado por:

Br. Ana Patricia Rodríguez Beltrán
Br. Liliana Argentina Guevara Franco

Para optar al grado de:

Licenciada en Biología.

Docente asesora:

MSc. Ángela Gudelia Portillo Zelaya

Asesora externa:

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

Ciudad Universitaria, octubre del 2024

Universidad de El Salvador
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
Escuela de Biología



Evaluación de la calidad microbiológica y presencia de microorganismos multidrogosresistentes del agua del río El Tixcuco y la red de agua que abastece a la Colonia Prados de San Miguel, Municipio de San Miguel, El Salvador.

Presentado por:

Br. Ana Patricia Rodríguez Beltrán
Br. Liliana Argentina Guevara Franco

Para optar al grado de:

Licenciada en Biología.

Docente asesora:

MSc. Ángela Gudelia Portillo de Pérez

Asesora externa:

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

Ciudad Universitaria, octubre del 2024.

Universidad de El Salvador
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
Escuela de Biología

**Evaluación de la calidad microbiológica y presencia de microorganismos
multidrogorresistentes del agua del río El Tixcuco y la red de agua que abastece a
la Colonia Prados de San Miguel, Municipio de San Miguel, El Salvador.**

Presentado por:

Br. Ana Patricia Rodríguez Beltrán
Br. Liliana Argentina Guevara Franco

Para optar al grado de:

Licenciada en Biología

Tribunal evaluador:

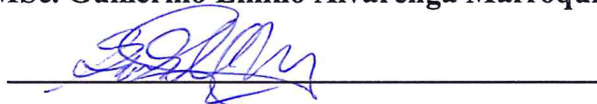
MSc. Ángela Gudelia Portillo de Pérez



Dra. Marcia Lizeth Barrera de Calderón



MSc. Guillermo Emilio Alvarenga Marroquín



Ciudad Universitaria, octubre del 2024

Rector:

M.Sc Juan Rosa Quintanilla

Vicerrector Académico:

Dra. Evelyn Beatriz Farfán

Secretario General:

Lic. Pedro Rosalio Escobar Castaneda

Fiscal General:

Lic. Carlos Amílcar Serrano Rivera

Facultad De Ciencias Naturales Y Matemática Decano:

Dr. Luis Gilberto Parada Gómez

Vicedecano:

Dr. José Nerys Funes Torres

Secretaria:

Mstra. Ángela Gudelia Portillo De Pérez

Directora Escuela De Biología

Licda. Milagro Elizabeth Salinas Delgado

Agradecimientos

A mi familia: agradezco a mi familia por su apoyo a lo largo de mi formación académica. A mis asesoras de tesis: agradezco el conocimiento, la paciencia, el apoyo y la guía que brindaron para que esta investigación pudiera llevarse a cabo, además de agradecer el ser una inspiración y ejemplo a seguir para mí.

A CENSALUD: por permitir que esta investigación se llevara a cabo en sus instalaciones y apoyarla con diversos recursos, sin los cuales este proyecto no podría haber sido posible.

A la Universidad de El Salvador: por abastecerme con conocimientos y darme un sentido de pertenencia.

A mis docentes: por haber nutrido mi vida no solo con conocimiento, sino también con cariño. A mis amigos: por todo su apoyo, no solo de manera intelectual y académica, también de manera emocional, por hacer este camino más ameno y mi vida más feliz.

A mis mascotas: por su compañía, amor incondicional y desvelarse conmigo haciendo mis trabajos, además de darme fuerzas para dar lo mejor de mí siempre. A mis predecesoras: por abrir el camino de las mujeres en la ciencia. A los artistas: por hacerme sentir acompañada y ayudarme a gestionar mis emociones lo cual fue vital a lo largo de este camino.

Con cariño Ana Patricia Rodríguez Beltrán.

Primeramente agradezco a Dios por permitirme culminar este proyecto; por darme la sabiduría, inteligencia y fuerza cada día. Gracias a mis padres por el apoyo incondicional, por su comprensión y por siempre darme palabras de aliento y creer en mí. A Alcides Zelaya, a mis hermanos Blanca, Carlos, Wilber y a mi madrina Leonor Castillo. Sin ustedes, nada hubiera sido posible.

A mis asesoras, por motivarme a lograr mis objetivos, por enseñarme e instruirme, pero sobre todo por su compromiso y dedicación.

A CENSALUD por abrirme las puertas y brindarme los recursos necesarios para desarrollarme académica y profesionalmente.

A mis amigos y compañeros Alex, Fer, Oscar; Douglas, Joseline, Ricardo, René, Paty, Andrea, Omar y Fer M. por apoyarme, orientarme y escucharme. A Tommy, gracias por nunca dejarme sola.

Liliana Guevara

Índice

| | |
|---|----|
| I. Resumen | I |
| II. Introducción | II |
| III. Objetivos de la investigación | 16 |
| Objetivo general | 16 |
| Objetivos específicos | 16 |
| IV. Marco de referencia..... | 17 |
| 4.1. Antecedentes de <i>Klebsiella</i> spp. | 17 |
| 4.2. Antecedentes de <i>Pseudomonas</i> spp. | 19 |
| V. Fundamento teórico | 21 |
| 5.1. El agua..... | 21 |
| 5.2. Contaminación biológica de las aguas lógicas | 21 |
| 5.3. Bacterias coliformes..... | 21 |
| 5.3.1. <i>Klebsiella</i> spp..... | 22 |
| 5.4. <i>Pseudomonas</i> spp..... | 24 |
| 5.4.1. Habitat y distribución de <i>Pseudomonas</i> spp. | 24 |
| 5.4.2. <i>Pseudomonas</i> spp. en agua | 25 |
| 5.5. Resistencia antimicrobiana..... | 25 |
| 5.5.1. Tipos de resistencia bacteriana | 26 |
| 5.5.2. Mecanismos de resistencia bacteriana..... | 26 |
| 5.5.3. Multirresistencia a los antibióticos..... | 27 |
| 5.6. Antibióticos | 28 |
| 5.6.1. Mecanismos de acción de los antibióticos..... | 29 |
| 5.6.2. Uso de los antibióticos | 30 |
| VI. Metodología..... | 31 |

| | |
|--|----|
| 6.1. Ubicación geográfica del sitio de estudio | 31 |
| 6.1.1. Río El Tixcuco | 31 |
| 6.1.2. Colonia Prados de San Miguel..... | 31 |
| 6.2. Tipo de muestreo | 32 |
| 6.3. Fase de campo | 32 |
| 6.3.1. Muestreo de agua de río | 33 |
| 6.3.2 Muestreo de la red de agua de la Colonia Prados de San Miguel..... | 33 |
| 6.4. Fase de laboratorio..... | 34 |
| 6.4.1. Determinación de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i> | 34 |
| 6.5. Aislamiento y determinación de <i>Klebsiella</i> spp. | 36 |
| 6.5.1. Pruebas rápidas API | 38 |
| 6.5.2. Pruebas VITEK..... | 38 |
| 6.6. Aislamiento de <i>Pseudomonas</i> spp. | 38 |
| 6.7. Antibiograma (Método Kirby-Bauer) | 38 |
| 6.8. Análisis de datos | 39 |
| 6.8.1. Análisis estadístico..... | 39 |
| VII. Resultados | 40 |
| 7.1. Agua de río | 40 |
| 7.1.1. Coliformes totales | 40 |
| 7.1.2. Coliformes fecales..... | 40 |
| 7.1.3. <i>Escherichia coli</i> | 40 |
| 7.2. Análisis estadístico para agua de río | 40 |
| 7.3. Agua de red (chorro)..... | 44 |
| 7.3.1. Coliformes totales | 44 |

| | |
|---|----|
| 7.3.2. Coliformes fecales..... | 45 |
| 7.3.3. <i>E. coli</i> | 45 |
| 7.4. Análisis estadístico para el agua de red (chorro)..... | 45 |
| 7.5. Aislamiento de <i>Klebsiella spp.</i> | 49 |
| 7.6. Aislamiento de <i>Pseudomonas spp.</i> | 49 |
| 7.7. Resistencia antimicrobiana..... | 50 |
| 7.7.1. <i>Klebsiella spp.</i> | 50 |
| 7.7.2. <i>Pseudomonas spp.</i> | 53 |
| VIII. Discusión..... | 56 |
| IX. Conclusiones..... | 61 |
| X. Recomendaciones..... | 62 |
| XI. Bibliografía..... | 63 |
| XII. Anexos | 80 |
| XIII. Glorario..... | 88 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1: Puntos muestreados en río El Tixcuco y agua de red (chorro)..... | 32 |
| Figura 2: Diagrama general de la metodología de laboratorio (elaboración propia)..... | 34 |
| Figura 3: Comparación de coliformes totales cuantificadas en agua de río..... | 43 |
| Figura 4: Comparación de coliformes fecales cuantificadas en agua de río..... | 43 |
| Figura 5: Comparación de <i>E. coli</i> cuantificadas en agua de río..... | 44 |
| Figura 6: Comparación de coliformes totales cuantificadas en agua de la red..... | 47 |
| Figura 7: Comparación de coliformes fecales cuantificadas en agua de la red..... | 48 |
| Figura 8: Comparación de <i>E. coli</i> cuantificadas en agua de la red..... | 48 |
| Figura 9: Resistencia antimicrobiana de <i>Klebsiella pneumoniae</i> presentado en porcentajes..... | 52 |
| Figura 10: Resistencia antimicrobiana de <i>Klebsiella oxytoca</i> presentado en porcentajes..... | 52 |
| Figura 11: Resistencia antimicrobiana de <i>Pseudomonas</i> spp. presentado en porcentajes..... | 55 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Pruebas para identificación de <i>Klebsiella</i> spp. | 23 |
| Tabla 2: División de los antibióticos por familia. | 28 |
| Tabla 3: Determinación de coliformes totales, coliformes fecales y <i>E. coli</i> para agua de río. | 41 |
| Tabla 4: Medidas para análisis estadístico para muestras de agua de río. | 42 |
| Tabla 5: Determinación de coliformes totales, coliformes fecales y <i>E. coli</i> para agua de red (chorro)..... | 45 |
| Tabla 6: Medidas para análisis estadístico para muestras de agua de red (chorro). | 46 |
| Tabla 7: <i>Klebsiella</i> spp. aisladas en muestras de agua de río y agua de red (chorro)..... | 49 |
| Tabla 8: <i>Pseudomonas</i> spp. aisladas en muestras de agua de río y agua de red (chorro). | 49 |
| Tabla 9: Resultados de antibiogramas para <i>K. pneumoniae</i> y <i>K. oxytoca</i> | 50 |
| Tabla 10: Categorías interpretativas para antibiogramas de <i>Klebsiella</i> spp | 51 |
| Tabla 11: Resultados de antibiogramas de <i>Pseudomonas</i> spp. | 53 |
| Tabla 12: Categorías interpretativas para antibiogramas de <i>Pseudomonas</i> spp..... | 54 |

Índice de anexos

| | |
|---|----|
| Anexo 1: Pruebas para la identificación de <i>Klebsiella spp.</i> | 80 |
| Anexo 2: Esquemas de marcha. | 80 |
| Anexo 3: Valores registrados de pH y temperatura al momento de la toma de muestra en el agua de río..... | 85 |
| Anexo 4: Valores registrados de pH y temperatura al momento de la toma de muestra en el agua de red..... | 85 |
| Anexo 5: Diámetro (en milímetros) de los halos de inhibición de los antibiogramas de <i>Klebsiella spp.</i> | 86 |
| Anexo 6: Diámetro (en milímetros) de los halos de inhibición de los antibiogramas realizados a <i>Pseudomonas spp.</i> | 87 |

Listado de abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

CDC: Disease Control and Prevention (Centro para el Control y Prevención de Enfermedades)

CCME WQI: Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life (Calidad del agua canadiense directrices para la protección de la vida acuática)

CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas clínicas y Laboratorio)

CMI: Concentración mínima inhibitoria

ECDC: European Center for Disease Prevention and Control (Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades)

EMB: Agar Eosina y Azul de Metileno

H₂S: Ácido sulfhídrico

MARN: Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales

NMP: Número más probable

pH: Potencial de hidrógeno

R: Resistente

RI: Resistencia intermedia

RM–VP: Rojo de Metilo y Voges Proskauer

S: Sensible

TSI: Triple Sugar Iron Agar (Agar hierro triple azúcar)

I. Resumen

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar la calidad microbiológica y determinar la presencia de microorganismos multidrogorresistentes en el agua del río El Tixcuco y la red que abastece a la Colonia Prados de San Miguel, Municipio de San Miguel, El Salvador. La fase experimental se dividió en 2 etapas. Primero, la fase de campo en la cual se recolectaron las muestras de agua y se tomaron parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH y cloro residual). Segundo, la fase de laboratorio. El análisis de microorganismos se realizó mediante la técnica de tubos múltiples para determinar el número más probable de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*. Posteriormente se aislaron e identificaron cepas de *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp. a las cuales se les realizó pruebas de antibiogramas por el método de Kirby Bauer para determinar si las bacterias aisladas presentaban susceptibilidad o resistencia a una serie de antibióticos seleccionados.

Se encontraron altas concentraciones de bacterias coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* para ambos sitios de estudio. El río el Tixcuco presentó dichas bacterias en todos sus puntos, mientras que el agua de la red presentó bacterias solamente en algunos puntos de muestreo; en los dos sitios, la cantidad de bacterias superó los límites microbiológicos permitidos. Se aplicaron ANOVA's y pruebas de Tukey para conocer si existieron diferencias significativas entre las concentraciones de bacterias de cada muestreo y sitios de estudio. Además, se comprobó la presencia de cepas de *Klebsiella* spp. y de *Pseudomonas* spp. con resistencia no intrínseca a los antibióticos y multidrogorresistentes.

II. Introducción

El agua es un recurso que cubre más del 70 % de la superficie del planeta y es indispensable para cualquier actividad relacionada con los seres vivos; por ello, la calidad del agua es fundamental (Fernández Cirelli, 2012). Sin embargo, el agua superficial es propensa a contaminarse por los desechos que llegan a ella en forma de escorrentía o que son vertidos directamente en ella, producto de la actividad antrópogenica, industria, ganadería y agricultura (Corona-Lisboa, 2013; Dubey, 2021; Fernández Cirelli, 2012).

La contaminación del agua tiene repercusión sobre la salud del medio ambiente, la fauna y los seres humanos y es amplia la diversidad de patógenos que se aíslan ya que el ambiente acuático es el hábitat natural de un gran número de microorganismos, incluyendo bacterias resistentes a los antibióticos (Martínez Parra, 2007; Luzardo *et al.*, 2014; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, y Gutiérrez-Buile, 2017; Corral Zambrano *et al.*, 2021, Rodríguez y Jiménez-Quinceno, 2023). Este es considerado como el principal receptor de antimicrobianos, bacterias resistentes y genes de resistencia a los antibióticos. Especies como *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp son consideradas de gran preocupación por la elevada resistencia que presentan (Figuroa Mery, 2004; San Martín Bravo y Bori, 2005; Bush & Vásquez-Pertejo, 2022).

La resistencia bacteriana a los antibióticos, es uno de los problemas de salud pública más relevantes de los últimos tiempos por ser uno de los principales causantes de muerte a nivel mundial. Por lo tanto, la presencia de estas bacterias en el ambiente representa un riesgo para la población (Villatoro *et al.*, 2018; Xu, Sun & Ma, 2017).

El río El Tixcuco está ubicado en el municipio de San Miguel y presenta serios problemas de contaminación. Los habitantes de las zonas aleñadas han reportado que, desde hace años, en él se encuentran cadáveres de animales, desechos sólidos, partes de autos, aguas evidentemente contaminadas por detergentes, aguas residuales domésticas y residuos provenientes del rastro Municipal de San Miguel. Además, este río atraviesa diversas colonias y fluye cerca del pozo que abastece la Colonia Prados de San Miguel (Cruz Lazo y Gonzáles de Cruz, 2015)

El objetivo principal de esta investigación fue determinar la calidad microbiológica y la presencia de microorganismos multidrogosresistentes en el agua del río El Tixcuco y la red de agua de la Colonia Prados de San Miguel, en el Municipio de San Miguel, El Salvador. El estudio se delimitó a la detección y cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* y al aislamiento de *Pseudomonas* spp. y *Klebsiella* spp debido a los múltiples reportes de resistencias que dichos microorganismos desarrollan. Una vez se obtuvieron dichos aislados, estos fueron sometidos a un análisis de sensibilidad a los antibióticos con el método de Kirby-Bauer.

Mediante la cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* se determinó que el agua del río y algunos puntos de la red de la colonia Prados no cumplen con los parámetros microbiológicos establecidos por las normativas que rigen a El Salvador. Además, se aislaron bacterias con resistencia a los antibióticos en ambos sitios de muestreo, de las cuales, las bacterias del género *Klebsiella* spp. presentaron resistencia a 1 o 2 antibióticos y las especies del género *Pseudomonas* spp. presentaron resistencia a más de dos antibióticos, siendo estas, catalogadas como cepas multidrogosresistentes.

III. Objetivos de la investigación

Objetivo general

Evaluar la calidad microbiológica y la presencia de microorganismos multidrogosresistentes del agua del río El Tixcuco y la red que abastece a la Colonia Prados de San Miguel, Municipio de San Miguel, El Salvador.

Objetivos específicos

1. Identificar la presencia de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en muestras de agua de la cuenca media y cuenca final del río El Tixcuco y la red de agua de la colonia Prados de San Miguel.
2. Aislar *Klebsiella* spp y *Pseudomonas* spp en las muestras de agua del río El Tixcuco y la red de agua de la colonia Prados de San Miguel.
3. Determinar la resistencia antimicrobiana de *Klebsiella* spp y *Pseudomonas* spp ante diversos antibióticos.

IV. Marco de referencia

4.1. Antecedentes de *Klebsiella* spp.

Klebsiella spp., es uno de los coliformes aislados frecuentemente en muestras de agua superficiales, aguas para consumo humano, agua utilizada para fines recreativos y en sistemas de aguas negras o contaminadas. Este microorganismo a menudo se encuentra en redes de distribución de agua potable debido a que puede colonizar los empaques de hule de las llaves (Duncan, 1988; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, y Gutiérrez-Buile, 2017)

En el 2019, en Nepal, Ghartimagar *et al.*, 2020 realizaron una investigación donde se encontró *Klebsiella* spp. en muestras de agua subterránea perforada y muestras de agua de pozo; estos aislados fueron sometidos a pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Las especies de *Klebsiella* spp aisladas del agua de pozo presentaron resistencia a imipenem 22,2% y meropenem 16,7%; además presentaron resistencia a cefalotina 38.9%, cefepime 5,6% y cloranfenicol 16.7%. Por el contrario, los aislamientos provenientes del agua perforada no presentaron resistencia a imipenem solamente a cefepime y meropenem 11,1%, cefalotina 44,4% y cloranfenicol 5.6%.

En un estudio realizado en Tanzania por Ripanda *et al.*, 2023 llevaron a cabo el análisis de 57 muestras de agua provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales y encontraron cepas de *Klebsiella* spp. resistentes a las sulfonamidas, tetraciclinas y β -lactamasas.

Mirzaie y Ranjbar, 2021 aislaron 100 cepas de *Klebsiella pneumoniae* a partir de muestras clínicas como orina, sangre y esputo. El 75% de las bacterias presentó resistencia a ciprofloxacina, el 73% a trimetoprima-sulfametoxazol y el 68% a nitrofurantoína, mientras que el 28% fueron sensibles a estreptomicina y el 52% a imipenem. Esta especie es considerada uno de los patógenos oportunistas nosocomiales debido a los diversos mecanismos de resistencia que desarrolla.

En 2021, Jindal *et al.*, realizaron una investigación en la que se aisló a *Klebsiella* spp. de agua de granja. A dichos aislados se les realizó una prueba de susceptibilidad a los antibióticos. En el caso de *K. pneumoniae*, se encontró en un 20.2% de las muestras de agua para animales y un 5.8% del agua para consumo humano. Esta especie presentó resistencia a oxitetraciclina, sulfadizina y enrofloxacin.

En el 2019, realizaron un metaanálisis sobre la resistencia bacteriana de las enterobacterias en Latinoamérica frente al grupo de quinolonas de amplio espectro. En este estudio se analizaron un total de 240 artículos y se determinó que 2 de las especies más reportadas por haber desarrollado multiresistencia a los antibióticos fueron *Klebsiella pneumoniae*, (estando presente en un 39.3% de los reportes) y *Klebsiella oxytoca* (habiendo sido reportada en un 13.1%) (Vieira, Lima & de Paiva, 2020).

En Colombia aislaron a *Klebsiella* spp. productoras de betalactamasas en muestras de agua provenientes de diversos efluentes de aguas residuales hospitalarias. Estas bacterias presentaron resistencia a ampicilina, cefazolina, cefepime, ceftriaxona, meropenem, amikacina, gentamicina y ciprofloxacina (Tellez-Carrasquilla, Rodríguez y Jiménez, 2023).

En El Salvador, el Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) se encarga del monitoreo permanente de la calidad del agua superficial. En abril del 2012 realizaron un muestreo de 122 sitios distribuidos en 55 ríos del territorio nacional y determinaron que la calidad de agua era “regular” ya que aislaron diversos microorganismos patógenos (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2013).

Acosta Orellana, realizó una investigación sobre la calidad del agua del río San Sebastián, en La Unión y determinó que el agua se encontraba contaminada con bacterias coliformes y sobrepasaba los límites microbiológicos permitidos en la normal salvadoreña; esto, resultado de diversos aspectos ambientales como uso del suelo, manejo de aguas residuales y tipo de servicios sanitarios en las viviendas aledañas, siendo este último, uno de los principales factores que contribuyen a la contaminación (Acosta Orellana, 2015).

En el año 2020, en Nueva Trinidad, Chalatenango, Menjívar Pineda realizó un análisis microbiológico de agua proveniente de pozos y ríos de la zona y encontró altas concentraciones de bacterias en el agua; en cuanto al agua de los ríos analizados, los puntos muestreados en el río Gualsinga tenían mayor concentración de bacterias que el río Guayampoque; en ambos ríos se encontraron coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* (Menjívar Pineda, 2020)

Actualmente en el país se han realizado investigaciones en las que se aísla a *Klebsiella* spp. de diferentes tipos de aguas superficiales como ríos y agua de estanques piscícolas, pero a dichos aislados no se les realizó pruebas para conocer si son resistentes a los antibióticos (Alonso Ruano, 2017). Las investigaciones más relevantes sobre la resistencia de *Klebsiella* spp. a los antibióticos se han realizado en muestras provenientes de hospitales. En el 2018, Villatoro *et al.*, analizaron la base de datos del Laboratorio Nacional de Referencia con los resultados de los aislamientos bacterianos sometidos a confirmación de multiresistencia entre el 2014 y 2016 con un total de 1446 muestras.

Las bacterias fueron aisladas de muestras de sangre, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, líquido ascítico, orina y lavado bronquial en los diversos hospitales del país. *Klebsiella pneumoniae* fue aislada en 97 muestras (10%) y presentó resistencia no solo a los antibióticos betalactámicos sino también a los aminoglucósidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, nitrofuranos, inhibidores de la vía del fosfato y tetraciclinas (Villatoro *et al.*, 2018).

4.2. Antecedentes de *Pseudomonas* spp.

En Ghana, se realizó un estudio donde analizaron 524 muestras de agua considerada potable. Las muestras provenían de perforaciones, pozos excavados a mano, agua superficial, agua del grifo, bolsas y agua potable embotellada. Se aislaron *Pseudomonas* spp. con resistencia a aztreonam y ciprofloxacina tanto en agua tratada como en agua no tratada (Ahmed *et al.*, 2022)

En la India se llevó a cabo una investigación en la que analizaron muestras de agua del río Gomti antes y después del proceso de cloración (para ser potabilizada); en ambas muestras aislaron bacterias del género *Pseudomonas* spp. las cuales fueron sometidas a pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Los aislados obtenidos del agua previa a la cloración fueron sensibles a cefotaxima, ciprofloxacina, norfloxacina, amikacina y gentamicina, mientras que los aislados del agua clorada eran resistentes a todos los antibióticos mencionados, por ello, los investigadores concluyeron que una cloración ineficiente fomenta el desarrollo de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente (Shrivastava *et al.*, 2024)

En Brasil, Santana Ramos *et al.*, 2020 aislaron a *Pseudomonas* spp. multidrogorresistentes de muestras de agua de río, lagos, arroyos y agua para potabilizar. Entre los aislados, el 87%

presentaron resistencia o resistencia intermedia a tetraciclina, 78% a ceftriaxona y cefotaxima, 74% a cloranfenicol, 62% a piperacilina y tazobactam, 61% a ceftazidima, 52% a aztreonam, 30% a ciprofloxacino, levofloxacino y norfloxacino, 26% a cefepima, 13% a imipenem y meropenem y 9% a gentamicina y tobramicina.

En Argentina, Sabathier analizó el agua del río Limay y obtuvo un total de 20 aislados de cepas de *Pseudomonas* spp. a los cuales se les hizo antibiograma y determinó que el 50% de las cepas aisladas presentaban resistencia a imipenem mientras que el 20% presentaron resistencia a meropenem (Sabathier, 2019).

Andreas Toba *et al.*, 2018, llevaron a cabo una investigación en la que analizaron el agua del embalse Pao Cachinche, en Venezuela, el cual es utilizado para actividades agrícolas y para suministrar agua potable a las ciudades cercanas. Aislaron *Pseudomonas* spp. resistente a ampicilina, ácido nalidíxico, estreptomycin, tetraciclina, cefonicida y cefalotina.

En El Salvador, Hernández Fernández y Romero Monge, 2024 aislaron a *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de agua y superficies de dispensadores; dichos aislados fueron sometidos a pruebas de sensibilidad a antibióticos y presentaron resistencia a cloranfenicol, ampicilina, amoxicilina/clavulánico, kanamicina, ciprofloxacina, cefalexina y gentamicina.

Villatoro *et al.*, 2018 realizó pruebas de sensibilidad a *Pseudomonas aeruginosa* de muestras provenientes de entornos clínicos/hospitalarios y dichos aislados presentaron resistencia a los antibióticos carbapenémicos.

V. Fundamento teórico

5.1. El agua

El agua es un recurso indispensable para la vida que cubre más del 70 % de la superficie del planeta. Normalmente los recursos hídricos para uso humano se obtienen de aguas superficiales o de aguas subterráneas y por ello, la calidad del agua es fundamental (Fernández Cirelli, 2012).

El agua potable es “aquella apta para el consumo humano, que cumple con los parámetros físicos, químicos y microbiológicos establecidos” (Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica, 2018). El deterioro y la contaminación de dicho recurso es un problema que va en aumento y se ha considerado como uno de los principales problemas ambientales ya que representa un riesgo para la población y el medio ambiente (Fernández Cirelli, 2012).

5.2. Contaminación biológica de las aguas lólicas

Uno de los principales procesos de contaminación de los cuerpos de agua lólicas es la eutrofización, la cual consiste en un aumento de los nutrientes que llegan al cuerpo de agua y sobrepasan la capacidad del mismo para mantener su equilibrio ecológico, promoviendo el crecimiento de ciertos organismos. Este proceso de contaminación del agua deteriora su calidad y entre los factores que lo causan están: la actividad humana, ganadería, agricultura, industria, vertidos municipales, entre otros (Dubey, 2021; Martínez Parra, 2007; Luzardo *et al.*, 2014; Ríos, Aguledo y Gutiérrez, 2017; Corral Zambrano *et al.*, 2021).

La contaminación del agua tiene repercusión sobre la salud del medio ambiente, la fauna y los seres humanos y es amplia la diversidad de patógenos que se pueden aislar. Entre ellos se encuentran especies del género *Pseudomonas* spp., sin embargo, la mayoría son bacterias entéricas provenientes del tracto gastrointestinal de animales y humanos, denominadas bacterias coliformes (Martínez Parra, 2007; Luzardo *et al.*, 2014; Ríos, Aguledo y Gutiérrez, 2017; Corral Zambrano *et al.*, 2021).

5.3. Bacterias coliformes

Los microorganismos coliformes son un grupo bastante grande y heterogéneo en términos de género y especie. Todos los coliformes pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y constituyen alrededor del 10% del microbiota intestinal.

Se encuentran en el tracto gastrointestinal de los animales (incluidos los humanos), en materia vegetal y en el suelo. Son anaerobias facultativas, no formadoras de esporas, inmóviles y móviles, con forma de bastón, que fermentan la lactosa con formación de ácido y gas cuando se incuban a 35–37 °C. (Ramos-Ortega *et al.*, 2008; Larrea-Murrel *et al.*, 2013; Edén, 2014; Maza Marcatoma y Clavijo Paltin, 2017; Some *et al.*, 2021)

Son muy comunes en el agua y generalmente se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial o en los sedimentos del fondo. Han sido denominados como "organismos indicadores" debido a que indican la presencia potencial de bacterias que causan enfermedades. Dentro de este grupo se encuentran: *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* spp. (Ramos Ortega *et al.*, 2008; Larrea-Murrel *et al.*, 2013; Edén., 2014; Some *et al.*, 2021).

5.3.1. *Klebsiella* spp.

Klebsiella spp. es una bacteria gramnegativa que pertenece a la familia de las enterobacterias; son bacilos rectos gramnegativos inmóviles encapsulados, anaerobias facultativas, fermentadores de glucosa y lactosa (Maza Marcatoma y Clavijo Paltin, 2017; Sierra Atanacio, 2016).

5.3.1.1. Hábitad y distribución de *Klebsiella* spp.

El hábitad natural de *Klebsiella* spp. es el tracto digestivo de humanos y animales, también se ha encontrado en una gran variedad de frotis de quemaduras, heridas, infecciones respiratorias, infecciones del tracto urinario y bacteriemia. Las especies más importantes desde el punto de vista clínico es *K. pneumoniae* por ser una de las mayores causantes de infecciones nosocomiales y por ser una bacteria oportunista con una alta mortalidad si no se da tratamiento (Bagley, 1985).

5.3.1.2. *Klebsiella* spp en agua

Klebsiella spp. es una bacteria ubicua de la naturaleza, que con frecuencia se encuentra en grandes cantidades en los cuerpos naturales de agua, ya que tiene la capacidad de crecer y desarrollarse en presencia de nutrientes en dicho ambiente.

La presencia de este microorganismo en sistemas de agua potable también es bastante frecuente y representa un riesgo para la salud debido a que indica la poca eficacia en los

tratamientos de desinfección y distribución del agua (Cádiz, Heredia y Sánchez, 2018; Iñiguez-Muñoz *et al.*, 2022; Martins *et al.*, 2019; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, y Gutiérrez-Buile, 2017).

5.3.1.3. Pruebas para identificar a *Klebsiella* spp.

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias (Fernández Olmos *et al.*, 2010; Olmos *et al.*, 2010; Bou *et al.*, 2011; Massé, Dufour & Archambault, 2020). El conjunto de pruebas para identificar a *Klebsiella* spp se presentan en el cuadro #1.

Tabla 1: Pruebas para identificación de *Klebsiella* spp.

| Prueba | Fundamento | Resultado para <i>Klebsiella</i> spp |
|--|---|--|
| Tinción Gram. | Permite observar las características morfológicas de las bacterias y conocer la composición química de la pared bacteriana (Rodríguez y Arenas, 2018). | Bacilo gramnegativo con coloración rosada. |
| Fermentación de lactosa en agar MacConkey. | La lactosa es fermentada y libera productos ácidos que generan una disminución del pH alrededor de la colonia, lo cual produce el viraje de color (Calderón <i>et al</i> 2017). | Positivo: colonias de color rosado-rojizo con aspecto lechoso. |
| Prueba de oxidasa. | Permite determinar la presencia de la enzima oxidasa y la reacción se debe a la presencia de un sistema citocromo-oxidasa que activa la oxidación del citocromo y el oxígeno actúa como aceptor final de electrones (Lopardo, Predari & Vay, 2016). | Negativo: sin viraje de color, debido a que este microorganismo no utiliza el oxígeno en la cadena de transferencia de electrones. |
| Prueba de motilidad. | Determina si un organismo es móvil ya que el crecimiento se propaga desde la línea de inoculación por todo el tubo y (López Pezantes y Samaniego Jara, 2016). | Negativa: carece de flagelos y sólo se observa crecimiento sobre la línea de inoculación. |
| Prueba de producción de ureasa. | Permite determinar la capacidad de un microorganismo para hidrolizar la urea (por medio de la enzima ureasa) liberando dióxido de carbono y amoníaco, lo cual ocasiona una reacción alcalina en el medio (Fernández Olmos <i>et al.</i> , 2010). | Positiva: se observa el color rojo en el bisel y gradualmente se extiende en todo el tubo. |
| Prueba de citrato. | Microorganismos capaces de utilizar fosfato de amonio y citrato de sodio como única fuente de nitrógeno y carbono crecen en el medio citrato de Simmons produciendo una reacción alcalina y evidenciando un cambio de color bromotimol (Magni <i>et al.</i> , 2008) | Positivo: se produce un cambio de color en el medio de verde a azul ya que cataliza el citrato por acción del complejo enzimático citrato liasa. |

| Prueba | Fundamento | Resultado para <i>Klebsiella</i> spp |
|------------------------|--|---|
| Prueba del indol. | Determina la capacidad de una bacteria para producir indol a partir del triptófano. Dicha producción se debe a la degradación del aminoácido triptófano mediante la enzima triptofanasa (Bou <i>et al.</i> , 2011; Muso y Acosta Hurtado, 2017). | Negativa: al agregar el reactivo de Kovac´s este debe permanecer sin color debido a que el microorganismo carece de la enzima triptofanasa. |
| Prueba rojo de metilo. | Permite determinar si un microorganismo fermenta la glucosa por medio de la vía ácido mixta, si la prueba es positiva se produce un cambio de color del medio de cultivo MR-VP de ámbar claro a rojo con pH menor a 4.5 (Fernández Olmos <i>et al.</i> , 2010). | Negativa: el medio se mantiene de color ámbar claro. |
| Voges Proskauer. | Detecta la producción de acetoina ya que el microorganismo fermenta la glucosa por la vía butanodiólica (American Society for Microbiology, 2009). | Positiva: se observa una coloración rojiza en el medio. |
| Prueba TSI. | Esta prueba es utilizada para la diferenciación de enterobacterias, basándose en la fermentación de los carbohidratos (glucosa, lactosa y sacarosa) y la producción de ácido sulfhídrico. Cuando los microorganismos fermentan o degradan el azúcar con formación de ácido se presenta un cambio de color de rojizo a amarillo y hay un cambio de color a rojo intenso en caso de alcalinización (Fernández Olmos <i>et al.</i> , 2010). | Positiva: viraje de color amarillo/amarillo más formación de gas. |

5.4. *Pseudomonas* spp.

Son bacterias gram negativas, quimioheterótrofas, móviles con forma de bacilos rectos o ligeramente curvados, oxidasa positiva, aeróbicos estrictos (aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones). Algunos miembros del género son psicrófilos y otros sintetizan sideróforos fluorescentes de color amarillo-verdoso con gran valor taxonómico, no forman esporas y es común la presencia de plásmidos. Pertenecen a la familia *Pseudomonadaceae* que contiene aproximadamente 191 especies diferentes (Slabbinck *et al.*, 2010).

5.4.1. Hábitad y distribución de *Pseudomonas* spp.

Debido a su versatilidad metabólica *Pseudomonas* está distribuida en la naturaleza y habitan en el agua, suelos, las plantas, materia orgánica y aguas negras. Crecen en áreas húmedas,

tales como fregaderos, lavabos, piscinas inadecuadamente cloradas y en soluciones antisépticas caducadas o inactivadas. Además, residen en reservorios húmedos de los ambientes hospitalarios (Ruiz Martínez, 2007; Bush & Vásquez-Pertejo, 2022).

Pseudomonas aeruginosa es una de las principales especies representantes del género, y uno de los microorganismos de mayor frecuencia causante de diversas infecciones como otitis, foliculitis, infecciones oculares, infecciones de tejidos blandos, neumonías, infecciones en vías urinarias, infecciones del torrente sanguíneo, bacteriemias, entre otras y afectan principalmente a personas con enfermedades como diabetes y fibrosis quística, o a personas hospitalizadas (Ruiz Martínez, 2007; Bush & Vásquez-Pertejo, 2022).

5.4.2. *Pseudomonas* spp. en agua

Pseudomonas spp es un microorganismo ubicuo del ambiente que está presente en los cuerpos de agua superficiales como ríos y lagos de forma natural. También puede estar presente en cuerpos de agua que no han pasado por un proceso de potabilización (pozos). Coloniza superficies inertes y forma biopelículas que facilitan su crecimiento en el medio acuoso (González Gonzáles, García Melián y Mariné Alonso, 2014; Rodríguez *et al.*, 2018).

5.5. Resistencia antimicrobiana

La resistencia a los antibióticos es “*la capacidad de un microorganismo de resistir los efectos de un antimicrobiano*” (Calderón Rojas y Aguilar Ulate, 2016). Es uno de los problemas más serios de salud pública y ocurre cuando una bacteria tiene la capacidad de sobrevivir ante la exposición de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cualquier tipo de antibiótico, que inhibe/mata a otras de la misma especie y por esto, los antimicrobianos dejan de ser efectivos para combatir las infecciones (Calderón Rojas y Aguilar Ulate, 2016).

La propagación de los mecanismos de resistencia puede provocar que los patógenos sean más letales en el futuro que en la actualidad ya que a medida pasa el tiempo van desarrollando nuevos procesos o mecanismos más difíciles de combatir como resultado de mutaciones cromosomales e intercambio de material genético entre bacterias (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022; Organización Mundial de la Salud, 2021).

5.5.1. Tipos de resistencia bacteriana

Resistencia natural (intrínseca): ocurre antes del uso de los antibióticos y todas las cepas son resistentes al fármaco (Calderón Rojas y Aguilar Ulate, 2016; Serra, 2017; Camacho Silvas, 2023).

Resistencia adquirida: se produce cuando hay un cambio en la composición genética de la bacteria debido a la exposición constante a antibióticos. Puede resultar por mecanismos como: transferencia de genes de resistencia, transferencia de ADN y transposición de ADN (Sanz, 2020, Lirola-Andreu, *et al.* 2022).

Resistencia fenotípica: también es denominada adaptativa o transitoria y sucede cuando la sensibilidad de un antibiótico disminuye ante una bacteria producto de una modificación temporal de la fisiología bacteriana debido a factores ambientales; esta no conlleva cambios genéticos y por ello no es heredable (Baene Férrez, 1998; Calderón Rojas y Aguilar Ulate, 2016).

5.5.2. Mecanismos de resistencia bacteriana

- ✓ Bombas de flujo o expulsión del antibiótico de la célula bacteriana: La bacteria transporta o expulsa el antimicrobiano hacia el exterior de la célula mediante bombas de expulsión a base de energía (Lirola-Andreu *et al.*, 2022).
- ✓ Modificación o inactivación del antibiótico mediante enzimas hidrolíticas: Es uno de los mecanismos más comunes que ocurren de la resistencia adquirida donde las bacterias sintetizan enzimas que hidrolizan al antibiótico y bloquean su acción antimicrobiana (Moreno, Gonzales y Beltrán, 2009).
- ✓ Bloqueo de la penetración del antibacteriano mediante modificación del sitio activo: Ocurre la modificación de un aminoácido para disminuir la acción del antimicrobiano (Calderón Rojas y Aguilar Ulate, 2016).
- ✓ Alteración o disminución de la permeabilidad de la membrana celular bacteriana: ocurren cambios en la membrana celular que bloquean el ingreso del antimicrobiano a la bacteria, evitando la penetración del antibiótico y evitando que alcance el núcleo. Es un mecanismo común en bacterias gramnegativas, ya que poseen canales proteicos denominados porinas que permiten o impiden el paso de moléculas hidrofóbicas (Tafur, Torres y Villegas, 2008).

5.5.3. Multirresistencia a los antibióticos

La multirresistencia que las bacterias han desarrollado se debe a varios factores; principalmente al uso indiscriminado de los antibióticos y a la transferencia de genes resistentes, los cuales se localizan en los plásmidos y/o transposones de las bacterias y que pueden transferirse entre cepas y especies bacterianas. Dicha transferencia también puede darse por medio de los integrones los cuales acumulan genes que les permiten alcanzar la multirresistencia a los fármacos (Figuroa Mery, 2004).

Especies de enterobacterias como *Klebsiella* spp. son consideradas de gran preocupación, por la elevada resistencia que presentan a las cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas y carbapenemos (Figuroa Mery, 2004; San Martín Bravo y Bori, 2005; Melgarejo Anamaría, 2018). A estas bacterias, se agregan también especies de *Pseudomonas* spp. debido a que son resistentes a la mayoría de los antibióticos gracias a su capacidad de desarrollar resistencia adquirida (Bush & Vásquez-Pertejo, 2022).

Ambas bacterias poseen resistencia natural a varios antibióticos; *Klebsiella* spp. posee la enzima penicilinasa que le da resistencia natural a algunas penicilinas (Cavaliere *et al.*, 2005; Maguiña-Vargas, Ugarte-Gil y Montiel, 2006; Navarro, Miró Y Mirelis, 2010; Ortega-Cisneros *et al.*, 2022) y *Pseudomonas* spp. es naturalmente resistente a la amoxicilina con ácido clavulánico y tetraciclina (Espinoza Pesantez y Esparza Sánchez, 2021, Chen & Duan, 2016).

Es importante tener claro el término “multidrogorresistente” ya que aún existen diferencias en la terminología y son causadas debido a que no existe una definición universalmente aplicable (Magiorakos *et al.*, 2012; Jiménez Pearson *et al.*, 2019).

Según Camacho Silvas la multirresistencia ha sido definida como “*la ausencia de sensibilidad al menos a un antibiótico de tres o más familias consideradas de utilidad para el tratamiento de las infecciones producidas por cada una de las especies bacterianas consideradas*”. Estos autores han tomado la sensibilidad intermedia (como resistencia) pero excluyen las resistencias naturales para catalogar un aislado como multidrogorresistente. Por ello, en esta investigación también se excluyeron las resistencias naturales (Camacho Silvas, 2023).

Esta definición fue tomada en la reunión de un grupo de expertos internacionales en una iniciativa conjunta del European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) y Centers for Disease Control and Prevention (CDC), buscando crear una terminología internacional normalizada aplicable (Camacho Silvas, 2023).

5.6. Antibióticos

Un antibiótico es “una sustancia natural o sintética que mata o inhibe las actividades metabólicas de bacterias y otros microorganismos” (Lirola-Andreu *et al.*, 2022). Están divididos en diversas familias de acuerdo a su origen y composición química (Alvo *et al.*, 2016). En el cuadro #2 se presentan los antibióticos utilizados en la investigación.

Tabla 2: División de los antibióticos por familia. (De León-Rosales, Arredondo-Hernández y López-Vidal, 2015; Alvo *et al.*, 2016).

| Familia | Descripción | Ejemplos |
|------------------|---|---|
| Betalactámicos | Son un grupo de antibióticos que poseen un anillo betalactámico. Poseen actividad bactericida lenta. Son indicados para tratar organismos grampositivos y gramnegativos. El anillo betalactámico se une con otros anillos o distintos sustituyentes y da lugar a otras agrupaciones de antibióticos. Es el grupo más grande y de mayor uso clínico (Calvo y Martínez-Martínez, 2009; Cruz Cruz y Díaz Ramón, 2010). | <u>Penicilinas</u> Naturales: Penicilina* Aminopenicilinas: amoxicilina* <u>Cefalosporinas</u> Primera generación: cefalotina Segunda generación: cefaclor Tercera generación: ceftriaxona Cuarta generación: cefepime* <u>Carbapenémicos</u> Imipenem* <u>Monobactámicos</u> Aztreonam <u>Inhibidores de betalactamasas</u> *Ácido clavulánico |
| Aminoglucósidos: | Son compuestos naturales obtenidos de actinomicetos (del género <i>Streptomyces</i> y del género <i>Micromonospora</i>) del suelo o productos semisintéticos derivados de ellos. Son bactericidas y actúan interfiriendo en la síntesis proteica bacteriana (Velandia Castellanos, 2008; Calvo y Martínez-Martínez 2009). | Gentamicina*, amikacina* |

| Familia | Descripción | Ejemplos |
|---------------|--|--|
| Quinolonas | Bactericidas de amplio espectro. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la topoisomerasa II, una enzima relacionada con la síntesis y reparación del ADN (Chávez-Jacobo <i>et al.</i> , 2015). | Segunda generación Ciprofloxacina* |
| | | Tercera generación Moxifloxacino |
| Tetraciclinas | Antibióticos naturales y semisintéticos derivados de diferentes especies de <i>Streptomyces</i> . Inhiben la síntesis proteica bacteriana y tienen un núcleo de estructura tetracíclica lineal compuesta de 4 anillos fusionados que forman complejos quelantes con distintos cationes, como calcio, magnesio o hierro, razón por la cual son insolubles en agua y se dificulta su absorción (Calvo y Martínez-Martínez, 2009; Vicente y Pérez-Trallero, 2010) | Doxiciclina * |
| Fosfonatos | Son antibióticos de amplio espectro con acción bacteriostática que actúan inhibiendo uno de los primeros pasos de la síntesis de los peptidoglicanos, inactivando de forma irreversible la enzima bacteriana enolpiruvato-transferasa ocupando el lugar del fosfoenolpiruvato. | Fosfomicina* |

***Antibióticos utilizados en esta investigación.**

5.6.1. Mecanismos de acción de los antibióticos

Los antibióticos han sido clasificados como bacteriostáticos (inhiben el crecimiento de la bacteria) o bactericidas (causan la muerte de las bacterias). Actúan por diferentes mecanismos atacando a puntos diana ubicados en diferentes regiones de la célula. Los antibióticos ejercen acción ya sea inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana, alterando la integridad de la membrana citoplásmica, impidiendo la síntesis proteica o bloqueando la síntesis de ácidos nucleicos (Errecalde, 2004; Calvo y Martínez-Martínez, 2009).

Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana: Los antibióticos inhiben las fases finales de la síntesis del peptidoglucano e interrumpen la síntesis de la pared celular; al mismo tiempo permiten la activación de enzimas líticas que llevan a la muerte bacteriana (Cavalieri *et al.*, 2005).

Debido a que la pared celular protege la anatomía y fisiología de algunas bacterias, las gramnegativas ofrecen mayor resistencia que las grampositivas a la entrada de antimicrobianos, pues poseen una membrana celular externa. Este mecanismo es utilizado principalmente por los antibióticos betalactámicos (Calvo y Martínez-Martínez, 2009).

Acción sobre la membrana citoplásmica: Los antibióticos afectan la membrana celular y modifican la permeabilidad lo que provoca la salida de electrolitos. Con este cambio se altera la composición del medio intracelular lo que conlleva a la muerte bacteriana. Algunos antibióticos que ejercen este mecanismo de acción son las polimixinas (Treviño y Molina, 2022).

Inhibición de la síntesis proteica: este tipo de inhibición ocurre en los ribosomas bacterianos (ribosoma 30s) los cuales sirven como sitio de unión con los antibióticos y actúan sobre las diferentes fases de la síntesis proteica. Entre los antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas están los macrólidos y tetraciclinas (Hilal-Dandan & Brunton, 2014).

Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos: En este mecanismo, los antibióticos se unen a enzimas que participan en las etapas de transcripción y replicación del ADN impidiendo que el proceso continúe o finalice y produciendo daño al ADN (Calvo y Martínez-Martínez, 2009).

5.6.2. Uso de los antibióticos

El uso de los antibióticos en medicina humana ha representado un éxito en el tratamiento de enfermedades infecciosas de alta morbilidad y mortalidad a lo largo de los años, por ello, en la actualidad son fármacos utilizados en diversas áreas y evolucionaron su uso fuera de los ambientes clínicos. Actualmente son empleados en veterinaria, ganadería, acuicultura y agricultura, como preservantes alimenticios, en biotecnología, entre otros.

Dichos compuestos son utilizados con diversos fines; ya sea para contrarrestar enfermedades producidas por bacterias, prevenir infecciones y para favorecer o promover el crecimiento de determinadas especies animales. Sin embargo, su uso indiscriminado, representa un problema para la población, los animales y el medio ambiente (Santiago, Espinosa y Bermúdez, 2009; Muñoz Arranz, 2017; Martínez-Alcalá, Soto y Lahora, 2020 Barrantes Jiménez, Chacón Jiménez y Arias Andrés, 2021; Busani *et al.*, 2004; Llanos-Soto *et al.*, 2021).

VI. Metodología

6.1. Ubicación geográfica del sitio de estudio

6.1.1. Río El Tixcuco

El río El Tixcuco es un río intermitente que nace cerca del estadio Juan Francisco Barraza y desemboca en el Río Grande de San Miguel, cerca de la Colonia Prados de San Miguel. Se encuentra a una altitud de 93 metros sobre el nivel del mar y sus coordenadas son: 13°28'25" N y 88°9'34" W en formato DMS (grados, minutos, segundos) o 13.4736 y 88.1594 (en grados decimales). Su posición UTM es CV78 y su referencia Joint Operation Graphics es ND16-10. (Avila, 2022; Get a Map, 2022) (figura 1).

La cuenca alta del río El Tixcuco se ubica en una zona privada cubierta por planchas de cemento, sin embargo en algunas partes del trayecto se vierten residuos del Rastro Municipal de San Miguel. La cuenca media fluye entre colonias densamente pobladas como Las Águilas y Jardines las Bolonias y la cuenca baja es una zona de difícil acceso y a pesar de ello, se depositan directamente residuos de los habitantes de las zonas cercanas al río (Àvila, 2018; Millàn Araujo, 2020).

Desde hace varios años tiene problemas de contaminación ya que en este se encuentran cadáveres de animales, desechos sólidos, partes de autos, aguas evidentemente contaminadas por diversos residuos, aguas residuales domésticas y desechos del Rastro Municipal de San Miguel (Avila, 2018; Get a Map, 2022; Lazo, 2015; Membreño, 2019).

6.1.2. Colonia Prados de San Miguel

La Colonia Prados de San Miguel fue fundada en 1994 y tiene una superficie total de 231,460.52 m². Posee 1,595 casas, áreas de comercio y áreas recreativas (figura 1). Tiene un pozo de abastecimiento junto a la red de agua que fue inaugurado en julio de 1997. De este pozo se distribuye agua por la red de alcantarillado tres veces al día, en los horarios de 4 a.m, 11:00 a.m y 6:00 p.m. El pozo tiene 213.36 m de profundidad, 20.36 cm de diámetro, cañería de distribución de 20.36 cm de diámetro y 200m de extensión.

En las principales calles y avenidas el agua se distribuye en cañerías de 10.16 cm de diámetro mientras que cada senda tiene cañería de 5.08 cm y cada casa tiene una mecha de 2.54 cm de diámetro.

Anualmente se da mantenimiento preventivo al pozo, se limpia con máquinas y grúas y antes de distribuir el agua, esta es clorada (C. de Maltez, 2022). En la figura 1 se presenta la distribución de los puntos muestreados en el río y la red de agua de la colonia.

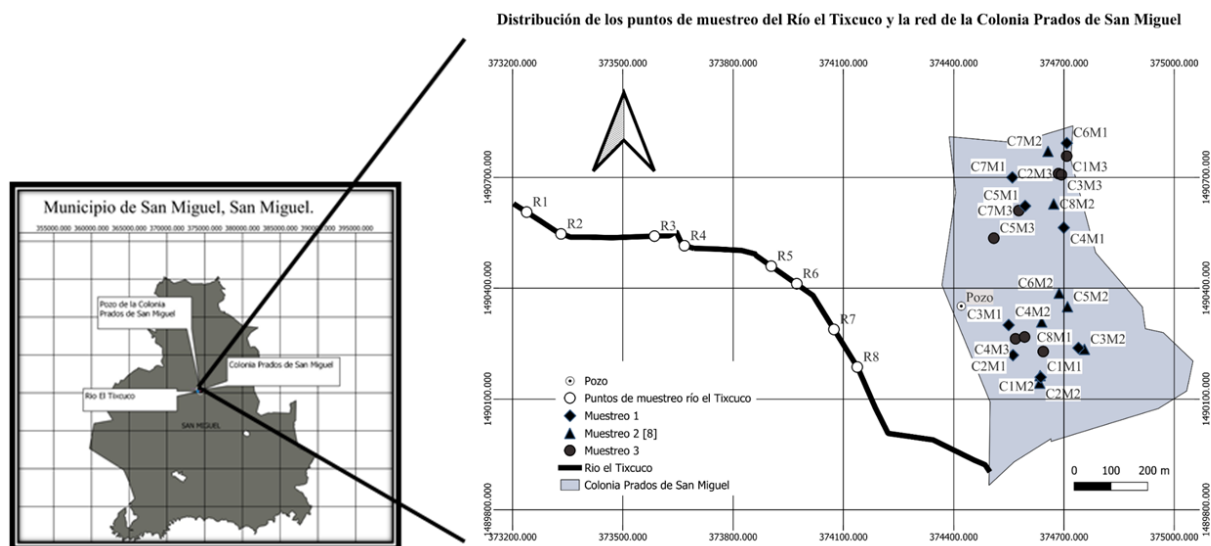


Figura 1: Puntos muestreados en río El Tixcuco y agua de red (chorro).

6.2. Tipo de muestreo

Se realizó un muestreo estratificado desproporcional en los 2 sitios de estudio (río El Tixcuco y la red de agua de la colonia Prados) y las muestras fueron elegidas aleatoriamente. Para el río, se eligieron zonas accesibles a lo largo de todo el curso, donde se pudiera coleccionar el agua de forma directa o con una cuerda, estas zonas no fueron homogéneas, pero compartían características entre sí. Una de ellas es que el río no estaba cubierto en esas zonas y, además, los puntos estaban ubicados cerca de basureros municipales, viviendas, parques, establecimientos comerciales, entre otros. Para la red de agua, se eligieron casas al azar, distribuidas en las 13 sendas de la colonia. Se llegó a las sendas, se seleccionaron las casas (donde se encontraban sus habitantes y permitieran realizar la recolección de agua) y se realizó la toma de muestra.

6.3. Fase de campo

Se realizaron 3 muestreos con intervalos de tiempo de 21 días entre cada uno. Se tomaron 8 muestras en cada sitio de estudio por muestreo, resultando un total de 24 muestras del río El Tixcuco y 24 muestras de la red de agua de la colonia.

6.3.1. Muestreo de agua de río

Para la colecta de muestras de agua de río se utilizaron los procedimientos descritos en: “*Proceso de cumplimiento ambiental, procedimiento cooperativo, código: CAM-000-PO-01*” y “*Manual para la toma y transporte de muestras de agua de la GCA*” del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2013; Villegas, 2022). Las muestras se colectaron en frascos estériles de polietileno de alta densidad, lo más cercano al centro del río, procurando no remover el fondo y evitando zonas de estancamiento.

Primero, en la zona de recolección del agua (centro del río) se midieron los parámetros: temperatura y pH (Anexo 3). Posteriormente, se realizó la toma de muestra de 100mL; se sujetó el frasco por el fondo en posición invertida, sumergiéndolo hasta una profundidad de aproximadamente veinte centímetros y dándole la vuelta en sentido contrario a la corriente del río; se sellaron los frascos y se rotularon con los datos del muestreo. Luego, se colocaron en hieleras con gel refrigerante (Laboratorio Nacional de Referencia, 2013; MARN, 2013; Villegas, 2022).

6.3.2 Muestreo de la red de agua de la Colonia Prados de San Miguel

Para coleccionar las muestras de la red de agua, se utilizó el “*Manual de procedimientos técnicos para la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano*”, del Ministerio de Salud (Ministerio de Salud, 2008). Primero, se midieron los parámetros de temperatura, pH y cloro residual (Anexo 4), para ello, se tomó una muestra de agua en un recipiente (no estéril). Luego, se limpió el grifo con un algodón, se abrió y se dejó drenar el agua por 1 minuto, se cerró el grifo y posteriormente se frotó con una torunda de algodón con alcohol y nuevamente se abrió hasta que cayera un flujo suave y uniforme por 1 minuto, se acercó el frasco de polietileno estéril (con triosulfato de sodio) y se tomó la muestra de 100 mL. Una vez envasada la muestra, se sellaron los frascos, se identificaron con las etiquetas y se colocaron en una hielera con gel refrigerante.

Todas las muestras fueron trasladadas (en un tiempo menor a 24 horas después de haber sido tomadas) al Laboratorio de Microbiología y Biotecnología ubicado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), campus Central de la Universidad de El Salvador, San Salvador. Se midió la temperatura de la hielera y de una muestra testigo por lo menos 2 veces a lo largo del camino.

6.4. Fase de laboratorio

A cada una de las muestras, tanto agua de red como agua de río se les realizó la determinación de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*, también el aislamiento e identificación de *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp. y posteriormente se realizó la prueba del antibiograma (Ver figura 2).

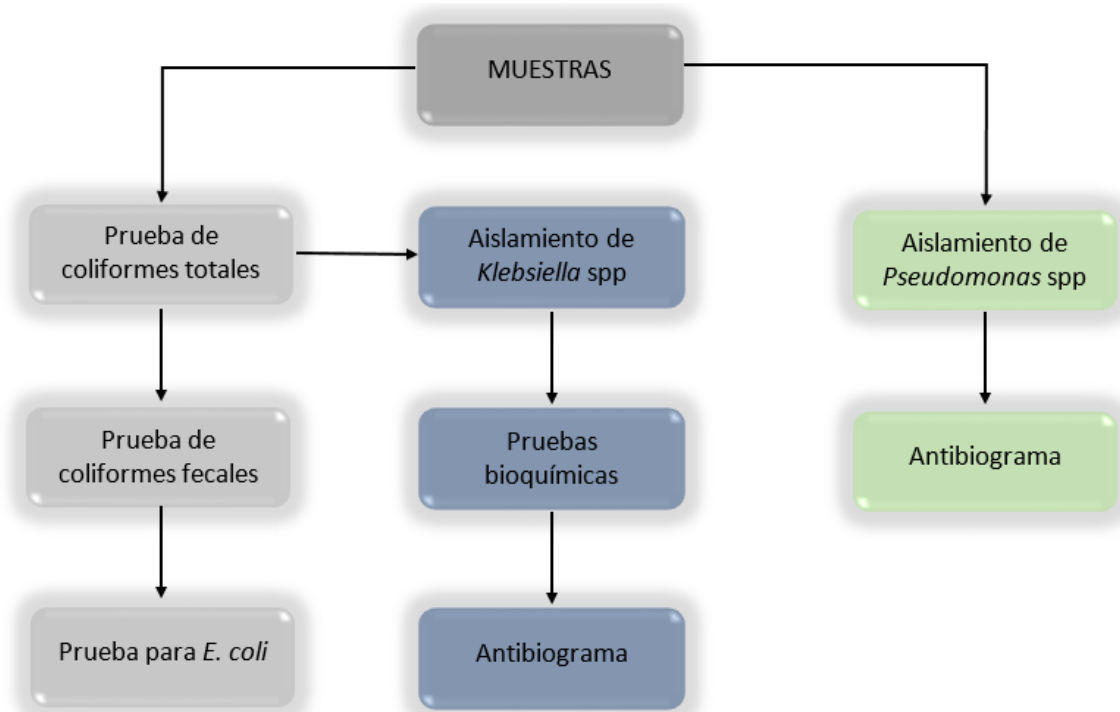


Figura 2: Diagrama general de la metodología de laboratorio (elaboración propia).

6.4.1. Determinación de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*

Para determinar la presencia de coliformes totales, fecales y *E. coli*. se utilizó la técnica de tubos múltiples (NMP) utilizando el sustrato cromogénico y fluorogénico (Fluorocult caldo LMX) (Lipps WC, Braun-Howland EB & Baxter TE, 2023; Cabrera Aguilar *et al.* 2008, Guevara Surio, 2015; Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica, 2018).

6.4.1.1. Prueba de coliformes totales

Agua de río.

Se agitó la muestra para lograr la homogenización y se realizaron seis diluciones seriadas. Se seleccionó la dilución (10^{-6}) y se inoculó 10 mL de la dilución en 5 tubos con 10 mL de caldo

LMX doble concentración, luego, se inoculó 1 mL de la dilución en 5 tubos con 10 mL de caldo LMX y finalmente se inoculó 0.1mL de la dilución en 5 tubos con 10 mL de caldo LMX. Se pusieron a incubar los tubos a 37°C durante 24-48 horas para determinar la presencia de coliformes totales mediante la producción de coloración verdosa en los tubos inoculados (Lipps WC, Braun-Howland EB & Baxter TE, 2023; Cabrera Aguilar *et al.* 2008).

Agua de red (chorro).

Se tomaron 10 mL de la muestra y se inocularon en 10 tubos de ensayo con 10 mL de caldo LMX con doble concentración; Todos los tubos se incubaron a 37 °C durante 24-48 horas para determinar la presencia de bacterias coliformes mediante la producción de coloración verdosa en cada uno de los tubos inoculados (Lipps WC, Braun-Howland EB & Baxter TE, 2023; Cabrera Aguilar *et al.* 2008).

6.4.1.2. Prueba de coliformes fecales

A cada uno de los tubos con resultados positivos en la cuantificación de coliformes totales, se realizó una resiembra con micropipeta, inoculando 50µl en tubos con caldo EC con campana de Durham invertido. Luego se incubaron a 44.5±0.5 °C en baño de maría con circulación durante 24-48 horas. Los tubos con producción de gas y turbidez en la campana de Durham, indicaron un resultado positivo (Medeiros *et al.*, 2024).

6.4.1.3. Prueba para *Escherichia coli*

Para esta prueba todos los tubos positivos de la prueba de coliformes totales se observaron con una lámpara de luz ultravioleta con una longitud de 365 nm con lo cual se pudo observar si el fluorógeno 4-metilumbiferil-β-D-glucoronido (MUG), presente en el caldo LMX fue hidrolizado por la enzima β-glucuronidasa que es producida por la bacteria *Escherichia coli*, causando fluorescencia.

Posteriormente se les agregó 3 gotas del reactivo de Kovac para detectar la enzima triptofanasa presente en *E. coli*. La formación de un anillo indólico, color púrpura en la interface y los tubos que presentaron fluorescencia indicaron la prueba positiva (Beloti *et al.*, 2002; Porres Osant & Ruiz Ruiz, 2018). Además, para realizar una fase confirmatoria, todos los tubos positivos de caldo EC se resembraron en agar EMB.

El crecimiento de colonias verdes con brillo metálico confirmó la presencia de la bacteria *E. coli* (ver figura 3) (Horvath & Ropp, 1974; Medeiros *et al.*, 2024).

6.5. Aislamiento y determinación de *Klebsiella* spp.

Todos los tubos positivos de la prueba de coliformes totales se sembraron en placas con Agar MacConkey por medio de la técnica de estriado. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Se seleccionaron las colonias aisladas rosado-rojizas con precipitación biliar y de apariencia mucosa y luego se realizaron un conjunto de pruebas para la identificación de *Klebsiella* spp. (ver anexo 1) (Forbes, 2009; Hernández Páez, 2023).

Tinción Gram.

Con un asa bacteriológica, se tomó una colonia, se extendió en un portaobjetos con el fin de preparar un frotis bacteriano y se realizó la tinción. Se observó al microscopio y se realizó la identificación eligiendo los aislados gram negativos (López-Jácome *et al.*, 2014).

Fermentación de lactosa en agar MacConkey.

Se estrió en placas con agar MacConkey y se incubaron durante 18-24 horas a 37°C. Se observaron las colonias rosado-rojizas mucoides (López-Jácome *et al.*, 2014).

Prueba de oxidasa.

Se colocó un trozo de papel filtro sobre la tapadera de una placa petri. Luego se colocó una colonia sobre el papel y se agregó 3 gotas del reactivo NNN'N'tetrametil,1-4 fenilendiamina. Una reacción positiva la indicó un color azul-violeta intenso antes de 10 segundos. *Klebsiella* spp. tiene un resultado negativo y por ello el papel no se coloreó de azul (Román, 2002).

Prueba de motilidad.

Para esta prueba se utilizó el "Motility test medium". Con un asa en punta, se inoculó una colonia hasta la mitad del agar. Se incubaron los tubos a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia durante 18-24 horas. En el caso de *Klebsiella* spp., presentó motilidad negativa (López-Jácome *et al.*, 2014).

Prueba de ureasa.

Se tomó una colonia y se inoculó en el caldo Urea, luego se incubaron a 35 °C por 24-72 horas. El cambio de color de rosa pálido a fucsia indicó un resultado positivo de *Klebsiella* spp. ya que este microorganismo posee la enzima ureasa (Fernández Olmos *et al.*, 2010).

Prueba de citrato.

Se tomó una colonia y se estrió sobre un tubo inclinado con agar citrato de Simmons, se incubó a 37 °C durante 24 horas. El cambio de color de verde a azul intenso indicó que el aislado tiene la capacidad de usar el citrato como única fuente de carbono, siendo esto una prueba positiva para *Klebsiella* spp (Forbes, 2009).

Prueba de Indol.

Se tomó una colonia y se inoculó en el caldo triptófano, se incubaron los tubos durante 24 horas y posteriormente se le agregó 3 gotas de reactivo de Kovac por las paredes del tubo de ensayo. La creación de un anillo fucsia indicó un resultado positivo debido a que el aislado posee la enzima triptofanasa. Para *Klebsiella* spp no se observó la formación del anillo (Bou *et al.*, 2011; Muso y Acosta, 2017).

Prueba de Voges Proskauer.

En un tubo con medio RM–VP se inoculó una colonia y se incubó a 37° durante 48-72 horas. Luego, se añadieron 3 gotas de alfa naftol al 6% y 2 gotas de hidróxido de potasio al 40%. Se agitó el tubo vigorosamente y se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos. La aparición de una zona rojiza en la superficie del medio indicó una prueba positiva para *Klebsiella* spp (Muso y Acosta, 2017).

Prueba de Rojo de Metilo.

En un tubo con medio RM–VP se inoculó una colonia y se incubó a 37° durante 48-72 horas. Luego, se añadieron 3 gotas de solución de Rojo de Metilo. La prueba positiva la indicó una coloración roja. Para *Klebsiella* spp. no se observó cambio de color ya que es negativa (Muso y Acosta, 2017).

Prueba TSI.

En un tubo de agar TSI inclinado se inocularon las colonias (con un asa en punta) picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del medio. Luego se incubaron a 35°C por 24 horas. El cambio de color a amarillo únicamente en el fondo del tubo, indicó que el microorganismo solamente fermenta glucosa. El viraje de color en el bisel indicó la capacidad de la bacteria de metabolizar lactosa y/o sacarosa. El ennegrecimiento del medio indicó que el microorganismo produjo ácido sulfhídrico (H₂S) y la presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indicó que el microorganismo produce gas. En el caso de *Klebsiella* spp. se observó el viraje de color amarillo/amarillo más la formación de gas (Muso y Acosta, 2017).

6.5.1. Pruebas rápidas API

Posteriormente a las pruebas bioquímicas tradicionales, se eligieron las colonias sospechosas de *Klebsiella* spp, se aislaron y se prepararon suspensiones bacterianas con solución salina al 0.9%. Luego se realizaron las pruebas de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se realizaron las lecturas y se obtuvo el bionúmero. Se realizó la búsqueda en la base de datos para conocer la identidad de la bacteria aislada (BioMérieux, 2010; Sánchez *et al.*, 2005).

6.5.2. Pruebas VITEK

Se seleccionaron los aislados sospechosos para *Klebsiella* spp y se analizaron con el sistema automatizado para la identificación de bacterias usando múltiples pruebas bioquímicas VITEK. Estas pruebas se realizaron siguiendo las indicaciones del fabricante (BioMérieux, 2022).

6.6. Aislamiento de *Pseudomonas* spp.

Se tomaron 10 mL de la muestra y se inocularon en tubos de ensayo con 10 mL de caldo Tripticasa Soya. Luego se pusieron a incubar durante 24 horas. Transcurrido el periodo de incubación se tomó una asada, se estrió en Agar Cetrimide y se incubaron las placas durante 24 horas. Se observó el crecimiento en las placas con luz ultravioleta a 365 nm y el crecimiento de colonias verdes con fluorescencia indicó la presencia de *Pseudomonas* spp (ver figura 5) (Cabrera y Gutiérrez, 2023).

6.7. Antibiograma (Método Kirby-Bauer)

Se seleccionaron los aislados identificados como *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp., y con un asa microbiológica estéril se suspendieron de 3 a 5 colonias en solución salina al 0.9% ajustando la turbidez a un estándar de 0.5 en la escala de MacFarland. Para la siembra, se agitó el tubo, se humedeció un hisopo estéril, se le quitó el exceso de solución aplicando un poco de presión a las paredes y luego se estrió en la placa Petri con agar Mueller Hinton por medio de la técnica de estriado múltiple.

Posteriormente, con una pinza estéril se tomaron 8 discos de antibióticos para cada aislado y se colocaron en las placas con un poco de presión y con suficiente distancia entre sí para facilitar la lectura de los halos de inhibición.

Se incubaron durante 24 horas a 37 °C y luego se realizaron las lecturas de los halos de inhibición. Con la ayuda de una regla o pie de rey se midieron los diámetros del halo (Zimmer *et al* 2024; Bernal y Guzmán, 1984; Cavalieri *et al.*, 2005). La resistencia y sensibilidad antimicrobiana se determinó mediante la interpretación de los diámetros de los halos de inhibición con la ayuda de las tablas oficiales de Clinical & Laboratory Standards Institute (Zimmer *et al* 2024)

Algunos antibióticos fueron diferentes para *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp. debido a que en ambos casos se eligieron antibióticos a los que las bacterias son naturalmente resistentes para comprobar que cumplían con esa característica y los demás antibióticos se eligieron por ser usados para tratar las enfermedades que las bacterias ocasionan y por los reportes existentes de que dichas bacterias han generado resistencia a ellos.

6.8. Análisis de datos

El cálculo del NMP se llevó a cabo mediante el uso de tablas estadísticas para determinar los coliformes totales, fecales y *E. coli* que estaban presentes en 100 mL de muestras de agua (Lipps WC, Braun-Howland EB & Baxter TE, 2023).

6.8.1. Análisis estadístico

Se calculó la media, el error estándar, la varianza y la desviación estándar. También se realizó una prueba ANOVA y una prueba de Tukey, utilizando el programa Past (Amat, 2016; Lira, 2021).

VII. Resultados

Se obtuvo un total de 48 muestras; 24 provenientes del río El Tixcuco y 24 provenientes de la red de agua de la colonia Prados de San Miguel.

7.1. Agua de río

7.1.1. Coliformes totales

En el 100% de las muestras de agua de río se determinó la presencia de coliformes totales, sin embargo, la mayor concentración de bacterias se encontró en los puntos intermedios y finales del río (R4, R5, R7 y R8). El valor máximo obtenido fue de $>1,600,000,000$ NMP/100 mL.

7.1.2. Coliformes fecales

El 100% de las muestras de agua de río mantuvieron la presencia de coliformes fecales. Los puntos intermedios y finales del río (R4, R5, R6, R7 y R8) presentaron mayor concentración de bacterias en los 3 muestreos. Se obtuvo un valor máximo de $1,600,000,000$ NMP/100mL en el punto R7 del muestreo 1. Para esta determinación se incluyen diversos límites microbiológicos debido a los usos que se le brinda al agua de río en El Salvador (límites microbiológicos para agua de riego sin restricciones <1000 NMP/100mL; límites microbiológicos para agua recreativa <200 NMP/100mL y límites microbiológicos CCME WQI <400 NMP/100mL).

7.1.3. *Escherichia coli*

En el 100% de las muestras de agua de río se confirmó la presencia de *E. coli*. Los puntos finales (R6, R7 y R8) presentaron mayor concentración de bacterias y de igual forma que las determinaciones de CF y CT, el muestreo 1 presentó el valor máximo ($1,600,000,000$).

Los resultados del NMP de la determinación de CT, CF y *E. coli* para las muestras de agua de río correspondientes al muestreo 1, 2 y 3 se presentan en la tabla #3.

7.2. Análisis estadístico para agua de río

Para llevar a cabo el análisis estadístico y realizar la comparación entre los muestreos del agua de río El Tixcuco se obtuvo un conjunto de datos (medias, varianzas, el error estándar, desviación estándar) por cada muestreo (tabla 4). Se aplicó ANOVA'S y prueba de Tukey.

Tabla 3: Determinación de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* para agua de río.

| Agua de río (NMP/100mL) | | | | |
|-------------------------|---------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| Muestreo | Muestra | Coliformes totales | Coliformes fecales | <i>E. coli</i> |
| Muestreo 1 | R1 | 79,000,000 | 13,000,000 | 13,000,000 |
| | R2 | 79,000,000 | 22,000,000 | 22,000,000 |
| | R3 | 540,000,000 | 79,000,000 | 27,000,000 |
| | R4 | >1,600,000,000 | 170,000,000 | 170,000,000 |
| | R5 | >1,600,000,000 | 70,000,000 | 9,200,000 |
| | R6 | 350,000,000 | 48,000,000 | 280,000,000 |
| | R7 | >1,600,000,000 | 1,600,000,000 | 1,600,000,000 |
| | R8 | >1,600,000,000 | 920,000,000 | 920,000,000 |
| Muestreo 2 | R1 | 26,000,000 | 2,000,000 | 2,000,000 |
| | R2 | 170,000,000 | 17,000,000 | 7,800,000 |
| | R3 | 170,000,000 | 14,000,000 | 9,300,000 |
| | R4 | 34,000,000 | 11,000,000 | 11,000,000 |
| | R5 | 49,000,000 | 17,000,000 | 11,000,000 |
| | R6 | 130,000,000 | 33,000,000 | 24,000,000 |
| | R7 | 46,000,000 | 70,000,000 | 33,000,000 |
| | R8 | 23,000,000 | 26,000,000 | 2,000,000 |
| Muestreo 3 | R1 | 23,000,000 | 7,800,000 | 7,800,000 |
| | R2 | 79,000,000 | 4,500,000 | 4,500,000 |
| | R3 | 49,000,000 | 2,000,000 | 2,000,000 |
| | R4 | 49,000,000 | 7,800,000 | 7,800,000 |
| | R5 | 34,000,000 | 11,000,000 | 6,800,000 |
| | R6 | 79,000,000 | 130,000,000 | 22,000,000 |
| | R7 | 110,000,000 | 49,000,000 | 33,000,000 |
| | R8 | 46,000,000 | 23,000,000 | 23,000,000 |

*Valores resaltados indican mayor concentración de bacterias

Tabla 4: Medidas para análisis estadístico para muestras de agua de río.

| Muestreo | Medida | C. totales | C. fecales | <i>E. coli</i> |
|------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Muestreo 1 | Media | 9.31x10 ⁸ | 3.6525x10 ⁸ | 3.8015x10 ⁸ |
| | Error estándar | 2.581699x10 ⁸ | 2.062478x10 ⁸ | 2.052461x10 ⁸ |
| | Varianza | 5.33213x10 ¹⁷ | 3.403054x10 ¹⁷ | 3.370078x10 ¹⁷ |
| | Desviación estándar | 7.302146x10 ⁸ | 5.83357x10 ⁸ | 5.805237x10 ⁸ |
| Muestreo 2 | Media | 8.1x10 ⁷ | 1.9x10 ⁸ | 1.25125x10 ⁷ |
| | Error estándar | 2.279176x10 ⁷ | 7381807 | 3802792 |
| | Varianza | 4.155714x10 ¹⁵ | 4.359286x10 ¹⁴ | 1.156898x10 ¹⁴ |
| | Desviación estándar | 6.446483x10 ⁷ | 2.08789x10 ⁷ | 1.075592x10 ⁷ |
| Muestreo 3 | Media | 5.8625x10 ⁷ | 2.93875x10 ⁷ | 1.33625x10 ⁷ |
| | Error estándar | 1.007993x10 ⁷ | 1.534597x10 ⁷ | 3931827 |
| | Varianza | 0 | 0 | 1.23674110 ¹⁴ |
| | Desviación estándar | 2.851034x10 ⁷ | 4.340495x10 ⁷ | 1.112089x10 ⁷ |
| Valor P (ANOVA) | | 0.0005315 | 0.092 | 0.06128 |

Se realizó la comparación de coliformes totales para los 3 muestreos y se determinó que existen diferencias significativas entre el muestreo 1 con el muestreo 2 y el muestreo 3. Sin embargo, el muestreo 2 y el muestreo 3 no presentaron diferencias significativas entre ellos (Figura 3).

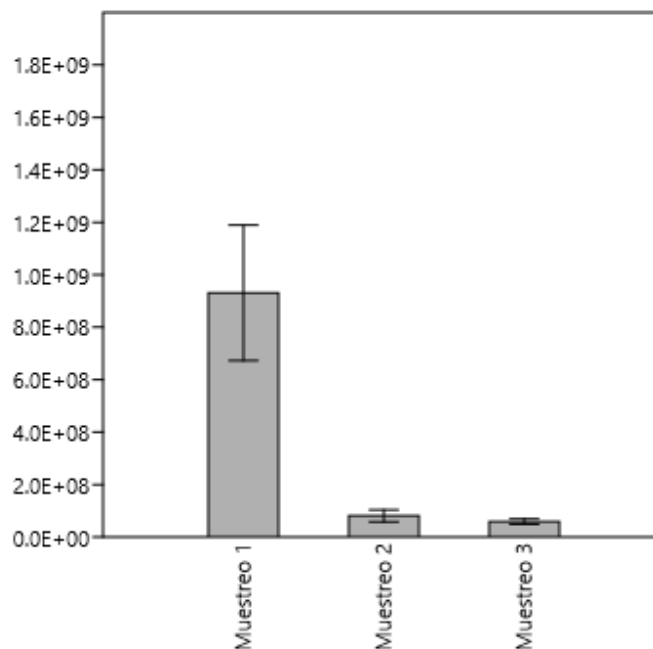


Figura 3: Comparación de coliformes totales cuantificadas en agua de río.

Al realizar la comparación de coliformes fecales para los 3 muestreos se determinó que no existen diferencias significativas entre ellos como se presenta en el gráfico de la figura 4.

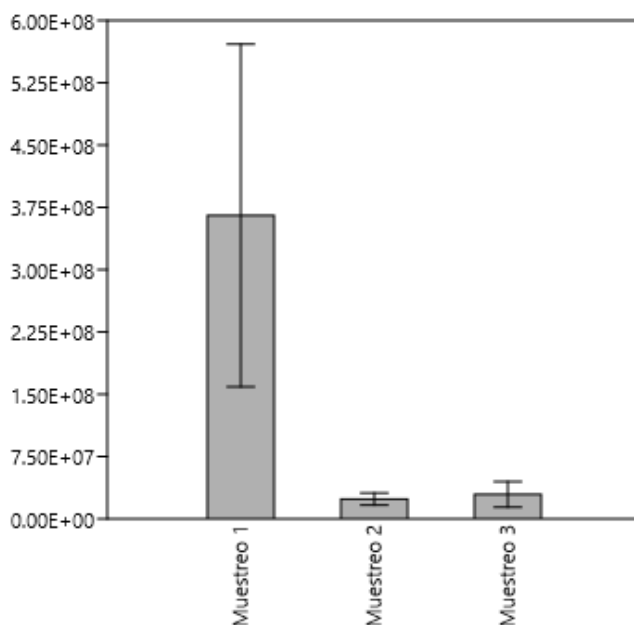


Figura 4: Comparación de coliformes fecales cuantificadas en agua de río.

Al comparar los tres muestreos para *E. coli* se concluyó que no existen diferencias significativas entre ellos, tal como se muestra en el gráfico de la figura 5.

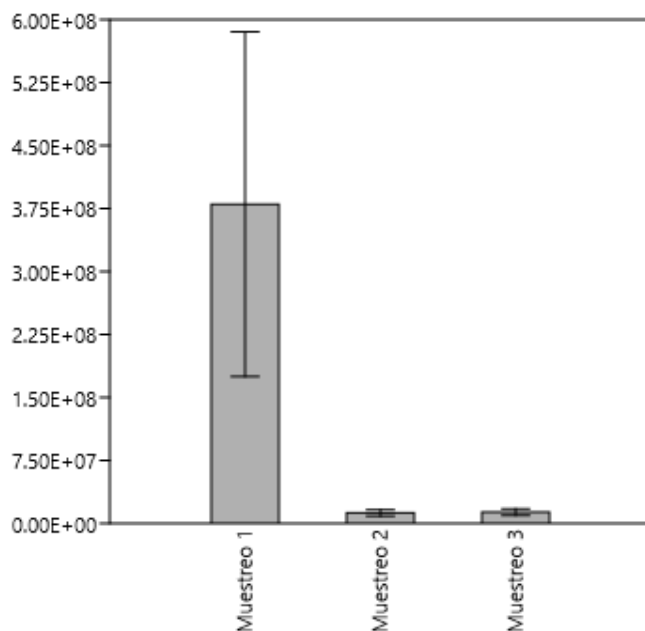


Figura 5: Comparación de *E. coli* cuantificadas en agua de río.

7.3. Agua de red (chorro)

En la tabla 5 se presentan los resultados del NMP de Coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en 100 mL de agua de red (chorro) de la colonia Prados de San Miguel. Según el Reglamento Técnico Salvadoreño (RTS 13.02.01:14) los límites máximos permisibles de parámetros microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* para agua de consumo humano son de <1.1 NMP/100 mL.

7.3.1. Coliformes totales

En el 45.83% de las muestras de agua se determinó la presencia de coliformes totales con valores por encima de los límites permitidos. En el muestreo #1 se obtuvo mayor número de muestras positivas (8 muestras) y mayor concentración de bacterias (>23.0 NMP/100mL) en 3 puntos de muestreo.

7.3.2. Coliformes fecales

El 29.16% de las muestras de agua tuvieron presencia de coliformes fecales. De igual forma que en coliformes totales, el muestreo 1 presentó mayor concentración de bacterias. El valor máximo obtenido fue de >23.0 NMP/100mL en dos puntos del muestreo 1.

7.3.3. *E. coli*

Este microorganismo estuvo presente en el 29.16% de las muestras de agua de red (chorro). En el muestreo #1 se obtuvo presencia de *E. coli* en mayor número de muestras y mayor concentración de bacterias con respecto al muestreo #2 y #3. El valor máximo fue de >23.0 NMP/100mL.

7.4. Análisis estadístico para el agua de red (chorro)

Para realizar la comparación entre los muestreos del agua de red (chorro) de la Colonia Prados se obtuvieron los datos estadísticos: medias, varianzas, el error estándar y desviación estándar por cada muestreo (Tabla 6). Se aplicó ANOVA'S y prueba de Tukey.

Tabla 5: Determinación de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* para agua de red (chorro).

| Agua de red (chorro) | | | | | |
|----------------------|---------|----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Muestreo | Muestra | Cloro residual | C. totales | C. fecales | <i>E. coli</i> |
| Muestreo 1 | C1 | 0.4 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C2 | <0.2 | 3.6 NMP/100mL | 1.1 NMP/100 | 1.1 NMP/100 |
| | C3 | <0.2 | >23.0 NMP/100mL | >23.0 NMP/100mL | >23.0 NMP/100mL |
| | C4 | <0.2 | 5.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C5 | <0.2 | >23.0 NMP/100mL | 9.2 NMP/100mL | 3.6 NMP/100mL |
| | C6 | <0.2 | >23.0 NMP/100mL | >23.0 NMP/100mL | 6.9 NMP/100mL |
| | C7 | >3.0 | < 1.1 NMP/100mL | < 1.1 NMP/100mL | < 1.1 NMP/100mL |
| | C8 | <0.2 | 5.1 NMP/100mL | 5.1 NMP/100mL | 1.2 NMP/100mL |
| Muestreo 2 | C1 | <0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C2 | 0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C3 | 0.4 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |

| | Muestra | Cloro residual | C. totales | C. fecales | <i>E. coli</i> |
|-------------------|---------|----------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| | C4 | 0.4 | 2.2 NMP/100mL | 2.2 NMP/100mL | 2.2 NMP/100mL |
| | C5 | <0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100m | <1.1 NMP/100mL |
| | C6 | 0.4 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100m | <1.1 NMP/100mL |
| | C7 | <0.2 | 16.1 NMP/100mL | 2.2 NMP/100mL | 1.2 NMP/100mL |
| | C8 | 1 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C1 | <0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| Muestreo 3 | C2 | <0.2 | 1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C3 | <0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C4 | <0.2 | 1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C5 | <0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C6 | <0.2 | 2.2 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C7 | <0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |
| | C8 | <0.2 | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL | <1.1 NMP/100mL |

Los valores resaltados indican concentración de bacterias por encima de los límites máximos permisibles de parámetros microbiológicos coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* para agua de consumo humano <1.1 NMP/100mL en El Salvador.

Tabla 6: Medidas para análisis estadístico para muestras de agua de red (chorro).

| Muestreo | Medida | C. totales | C. fecales | <i>E. coli</i> |
|------------------------|---------------------|------------|------------|----------------|
| Muestreo 1 | Media | 10.66 | 8.10875 | 4.89625 |
| | Error estándar | 3.681763 | 3.424256 | 2.701217 |
| | Varianza | 108.4431 | 93.80424 | 58.3726 |
| | Desviación estándar | 10.4136 | .685259 | 7.640196 |
| Muestreo 2 | Media | 3.105 | 1.3675 | 1.2425 |
| | Error estándar | 1.861501 | 0.1816664 | 0.137461 |
| | Varianza | 27.72149 | 0.2640214 | 0.1511643 |
| | Desviación estándar | 5.26512 | 0.5138302 | 0.3887985 |
| Muestreo 3 | Media | 1.23125 | <1.1 | <1.1 |
| | Error estándar | 3931827 | 0 | 0 |
| | Varianza | 0.153241 | 0 | 0 |
| | Desviación estándar | 0.3914602 | 0 | 0 |
| Valor P (ANOVA) | | 0.0256 | -* | -* |

Se realizó la comparación para coliformes totales de los 3 muestreos del agua de la red y se determinó que existen diferencias significativas entre el muestreo 1 con el muestreo 3 (Ver gráfico de la figura 6)

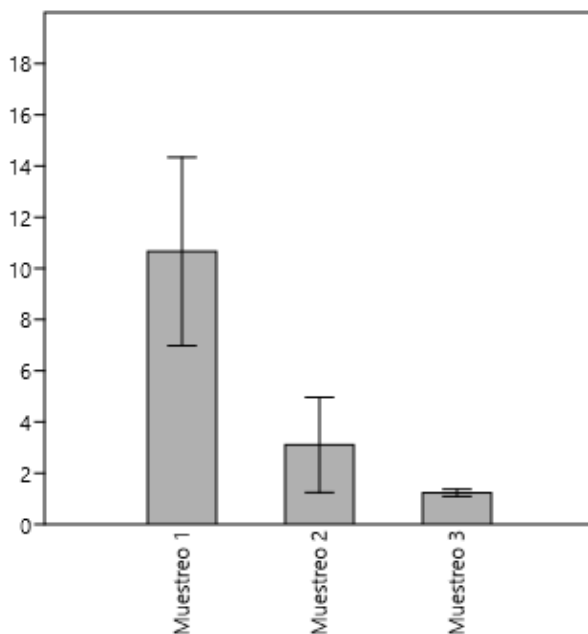


Figura 6: Comparación de coliformes totales cuantificadas en agua de la red.

Al realizar la comparación para coliformes fecales de los 3 muestreos del agua de red (chorro) el programa PAST no detectó varianzas y se determinó que no existen diferencias significativas entre los muestreos (figura 7).

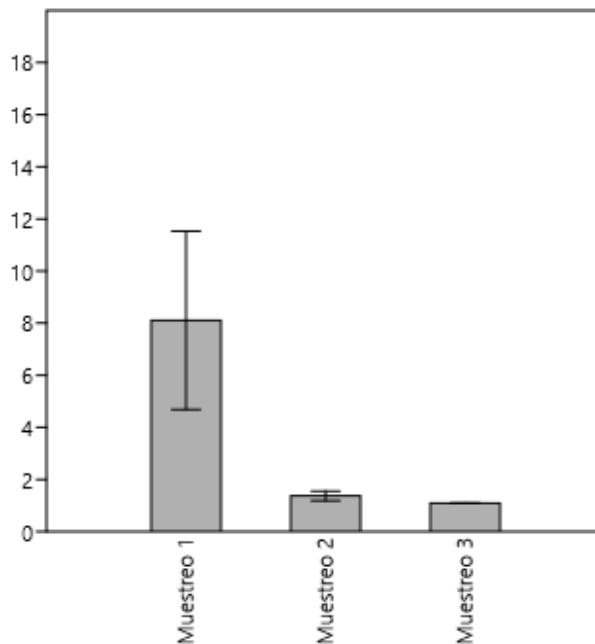


Figura 7: Comparación de coliformes fecales cuantificadas en agua de la red.

Finalmente se realizó el análisis de la comparación de los 3 muestreos de agua de la red para *E. coli* y el programa PAST no detectó varianzas. Se determinó que no existen diferencias significativas entre los muestreos (ver gráfico de la figura 8).

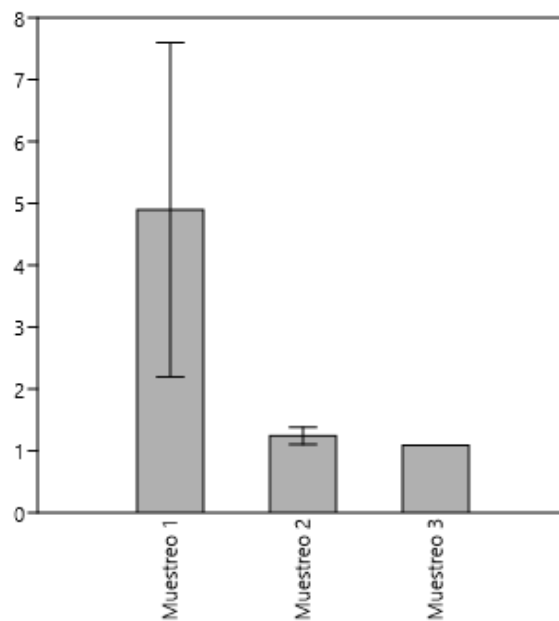


Figura 8: Comparación de *E. coli* cuantificadas en agua de la red.

7.5. Aislamiento de *Klebsiella* spp.

Se obtuvieron 11 aislados del género *Klebsiella* spp. (2 especies de *K. oxytoca* y 9 especies de *K. pneumoniae*). Del total de aislados, 8 provienen de muestras de agua de río y 3 de agua de chorro. En la tabla 7 se presentan dichos resultados.

Tabla 7: *Klebsiella* spp. aisladas en muestras de agua de río y agua de red (chorro).

| Muestreo | Agua de río | | Agua de red (chorro) | |
|------------|-------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|
| | Muestra | Especie aislada | Muestra | Especie aislada |
| Muestreo 1 | R2 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | C8 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| Muestreo 2 | R2 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | C4 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| | R3 | <i>Klebsiella oxytoca</i> | C7 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| | R5 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | |
| | R7 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | |
| | R7 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | |
| Muestreo 3 | R4 | <i>Klebsiella oxytoca</i> | ----- | No se obtuvieron aislados. |
| | R6 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | |

7.6. Aislamiento de *Pseudomonas* spp.

Se obtuvieron 16 aislados del género *Pseudomonas* spp durante los tres muestreos realizados, de estas especies, 8 fueron aisladas en muestras provenientes de agua de río y 8 en agua de red (chorro). En la tabla 8 se presentan dichos resultados.

Tabla 8: *Pseudomonas* spp. aisladas en muestras de agua de río y agua de red (chorro).

| Muestreo | Agua de río | | Agua de red (chorro) | |
|------------|-------------|---------------------------|----------------------|----------------------------|
| | Muestra | Especie aislada | Muestra | Especie aislada |
| Muestreo 1 | R1 | <i>Pseudomonas</i> spp. | C2 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| | R3 | <i>Pseudomonas</i> spp. | C3 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| | R5 | <i>Pseudomonas</i> spp. | C6 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| | R7 | <i>Pseudomonas</i> spp. | | |
| Muestreo 2 | ----- | No se obtuvieron aislados | C1 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| | | | C2 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| | | | C3 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| | | | C6 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| | | | C7 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| Muestreo 3 | R1 | <i>Pseudomonas</i> spp. | ----- | No se obtuvieron aislados. |
| | R2 | <i>Pseudomonas</i> spp. | | |
| | R3 | <i>Pseudomonas</i> spp. | | |
| | R4 | <i>Pseudomonas</i> spp. | | |

7.7. Resistencia antimicrobiana

A todas las especies aisladas de *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp. se les realizó la prueba del antibiograma donde se utilizaron un total de 8 antibióticos para cada género. En la tabla 9 y 11 se presentan los resultados del antibiograma de *Klebsiella* spp y *Pseudomonas* spp respectivamente. Las tablas 10 y 12 presentan los datos de las categorías interpretativas para cada especie según el CLSI.

7.7.1. *Klebsiella* spp.

Tabla 9: Resultados de antibiogramas para *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*.

| Antibiograma <i>Klebsiella</i> spp. | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|---------|-------------------|-------------------|------------------------------|------------------|------------------|----------------|-----------------|------------------|
| Muestreo | Muestra | Doxiciclina (DXT) | Tetraciclina (TE) | Amoxicilina/Clavulánico (AC) | Fosfomicina (FO) | Penicilina G (P) | Amikacina (AK) | Cefalotina (KF) | Gentamicina (CN) |
| Muestreo 1 | R2 | S | S | <u>R</u> | S | *R | S | S | S |
| | C8 | S | S | <u>R</u> | S | *R | S | *R | S |
| Muestreo 2 | R2 | S | S | <u>R</u> | S | *R | S | S | S |
| | **R3 | S | S | <u>R</u> | S | *R | S | S | S |
| | R5 | S | S | <u>R</u> | S | *R | S | S | S |
| | R7 | S | S | <u>R</u> | S | S | S | S | S |
| | R7 | S | S | <u>R</u> | RI | *R | S | S | S |
| | C4 | S | S | <u>R</u> | S | *R | S | S | S |
| Muestreo 3 | C7 | S | S | RI | S | S | S | S | S |
| | **R4 | S | S | <u>R</u> | S | *R | S | S | S |
| 3 | R6 | S | S | S | S | *R | S | S | S |

R = resistencia; RI= resistencia intermedia; S= sensible; ***K. oxytoca*. *Resistencia natural.

Tabla 10: Categorías interpretativas para antibiogramas de *Klebsiella* spp (CLSI, 2020).

| Antibióticos | | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|------------------|-----------------------|----------------|----------------------|--------------------|
| Categorías interpretativas | Doxiciclina (DXT) | Tetraciclina (TE) | Amoxicilina/Clavulánico (RNAC) | Fosfomicina (FO) | Penicilina G (P) (RN) | Amikacina (AK) | Cefalotina (KF) (RN) | Gentamicina (CN) |
| Sensible | ≥ 14 | ≥ 15 | ≥ 18 | ≥ 16 | - | ≥ 17 | - | ≥ 15 |
| Intermedio | 11–13 | 12–14 | 14–17 [^] | 13–15 | - | 15–16 | - | 13–14 [^] |
| Resistente | ≤ 10 | ≤ 11 | ≤ 13 | ≤ 12 | - | ≤ 14 | - | ≤ 12 |

En el gráfico de la figura 9 se presentan (en porcentajes) los resultados de resistencia antimicrobiana para *Klebsiella pneumoniae*. El 100% de las cepas aisladas presentaron sensibilidad a doxiciclina, tetraciclina, amikacina y gentamicina; el 88.8% sensibles a fosfomicina y cefalotina, el 22.22% sensibles a penicilina y solamente el 11.11% presentó sensibilidad a amoxicilina/clavulánico. Además, el 11.11% presentaron resistencia intermedia a amoxicilina/clavulánico y fosfomicina. Mientras que, el 77.7% fueron resistentes a amoxicilina/clavulánico y fosfomicina. Mientras que, el 77.7% fueron resistentes a amoxicilina/clavulánico y penicilina y el 11.11% resistente a cefalotina.

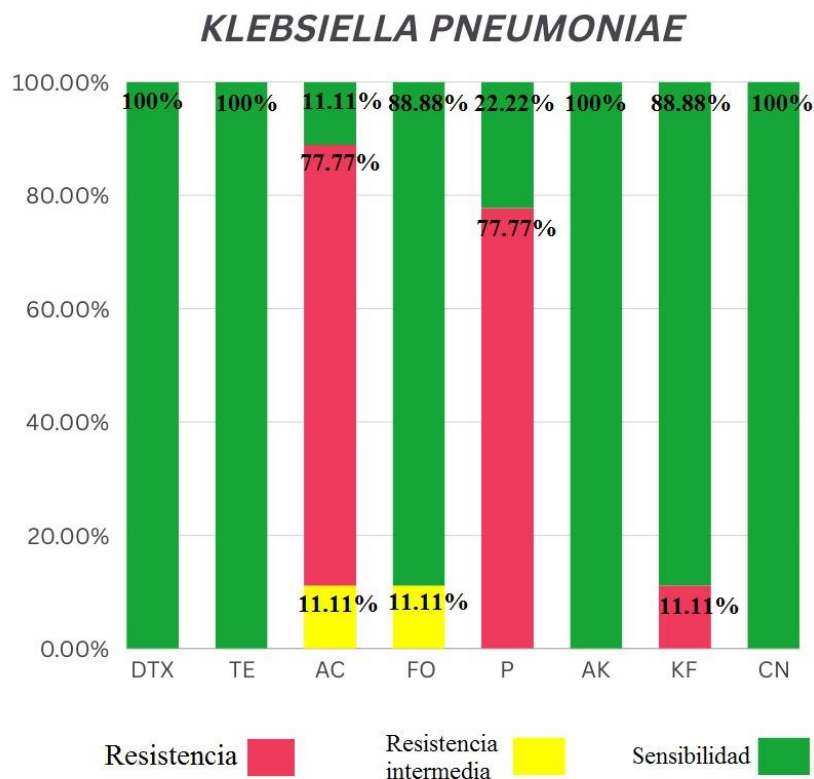


Figura 9: Resistencia antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae* presentado en porcentajes.

DTX=doxiciclina, TE= tetraciclina, AC= amoxicilina con ácido clavulánico, FO= fosfomicina, P= penicilina, AK= amikacina, KF= cefalotina, CN= gentamicina.

Para el caso de *Klebsiella oxytoca* el 100% de las cepas aisladas presentaron sensibilidad a doxiciclina, tetraciclina, fosfomicina, amikacina, cefalotina y gentamicina; mientras que el 100% de las bacterias fue resistente a amoxicilina con ácido clavulánico y penicilina (Ver figura 10).

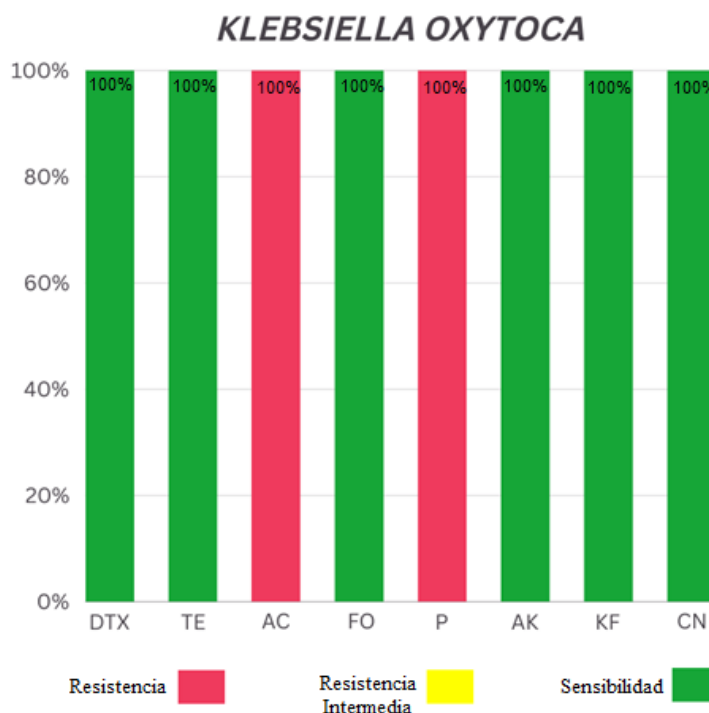


Figura 10: Resistencia antimicrobiana de *Klebsiella oxytoca* presentado en porcentajes.

DTX=doxiciclina, TE= tetraciclina, AC= amoxicilina con ácido clavulánico, FO= fosfomicina, P= penicilina, AK= amikacina, KF= cefalotina, CN= gentamicina.

Las familias de antibióticos representadas en los antibiogramas de *Klebsiella* spp. corresponden a: betalactámicos con inhibidores a la betalactamasa (amoxicilina con ácido clavulánico), tetraciclinas (doxiciclina y tetraciclina), antibióticos fosfonatos (fosfomicina), aminoglucósidos (amikacina y gentamicina) y cefalosporinas de primera generación (cefalotina) (Barcelona, Marin y Stamboulían, 2008; Maguiña-Vargas, Ugarte-Gil y Montiel, 2006; Mella *et al.*, 2004; Rivas *et al.*, 2002; Vicente y Pérez-Trallero, 2010).

El 72.72% de los aislados de *Klebsiella* spp. poseen resistencia a una sola familia de antibióticos (resistentes a los betalactámicos con inhibidores de la betalactamasa) y el 18.18% de los aislados son resistentes a 2 familias de antibióticos (un 9.09% resistentes a los betalactámicos con inhibidores de la betalactamasa y a las cefalosporinas de primera generación; mientras que el otro 9.09% resistentes a los betalactámicos con inhibidores de la betalactamasa y a los fosfonatos).

7.7.2. *Pseudomonas* spp.

Tabla 11: Resultados de antibiogramas de *Pseudomonas* spp.

| Antibiograma <i>Pseudomonas</i> spp. | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|---------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------------------|---------------------|---------------------|
| Muestreo | Muestra | Amikacina (AK) | Tetraciclina (TE) | Imipenem (IMI) | Ciprofloxacina (CIP) | Cefepime (FEP) | Amoxicilina/ Clavulánico (AC) | Gentamicina (CN) | Fosfomicina (FO) |
| Muestreo 1 | R1 | S | *RI | S | S | S | *R | S | S |
| | R3 | S | *RI | S | S | S | *R | S | <u>R</u> |
| | C2 | S | *R | <u>R</u> | S | S | *R | RI | <u>R</u> |
| | C3 | S | *RI | S | S | S | *R | S | <u>R</u> |
| | R5 | S | *RI | S | S | S | *R | S | S |
| | R7 | S | *R | S | S | S | *R | S | <u>R</u> |
| | C6 | S | *R | S | S | S | *R | S | S |
| Muestreo 2 | C1 | S | *RI | S | S | S | *R | S | <u>R</u> |
| | C2 | S | *RI | S | RI | RI | *R | S | <u>R</u> |
| | C3 | S | *RI | RI | S | S | *R | S | <u>R</u> |
| | C6 | <u>R</u> | *R | RI | S | S | *R | S | <u>R</u> |
| | C7 | S | *RI | RI | S | S | *R | S | <u>R</u> |
| Muestreo 3 | R1 | S | *R | <u>R</u> | RI | S | *R | S | S |
| | R2 | S | *RI | S | RI | S | *R | S | S |
| | R3 | S | *R | <u>R</u> | RI | S | *R | R | RI |
| | R4 | RI | *R | S | <u>R</u> | S | *R | S | S |

*Resistencia natural. R resistencia; RI= resistencia intermedia; S= sensible.

Tabla 12: Categorías interpretativas para antibiogramas de *Pseudomonas spp* (CLSI, 2020).

| Antibióticos | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|---------------------------------|------------------|------------------|
| Categorías interpretativas | Amikacina (AK) | Tetraciclina (TE) RN | Imipenem (IMI) | Ciprofloxacina (CIP) | Cefepime (FEP) | Amoxicilina/clavulánico (AC) RN | Gentamicina (CN) | Fosfomicina (FO) |
| Sensible | >17 | --- | >19 | >25 | >18 | --- | >15 | >16 |
| Intermedio | 15-16 | --- | 16-18 | 19-24 | 15-17 | --- | 13-14 | 13-15 |
| Resistente | <14 | --- | <15 | <18 | <14 | --- | <12 | <12 |

Los resultados del antibiograma realizado a *Pseudomonas spp*, indicaron que 87.5% de las cepas aisladas fueron sensibles a amikacina y gentamicina, un 62.5% presentó sensibilidad a imipenem, un 68.75% a ciprofloxacina, un 93.75% fueron sensibles a cefepime y un 37.5% a fosfomicina. También, las cepas presentaron resistencia intermedia a amikacina, cefepime, gentamicina y fosfomicina en un 6.25%, a tetraciclina en 56.25%, a imipenem un 18.75% y el 25% a ciprofloxacina. En el caso de estos aislados, el 100% fue resistente a amoxicilina con ácido clavulánico, el 6.25% resistentes a amikacina, ciprofloxacina y gentamicina, el 43.75% a tetraciclina, el 18.75 a imipenem y el 56.25% a fosfomicina (ver gráfico de la figura 11).

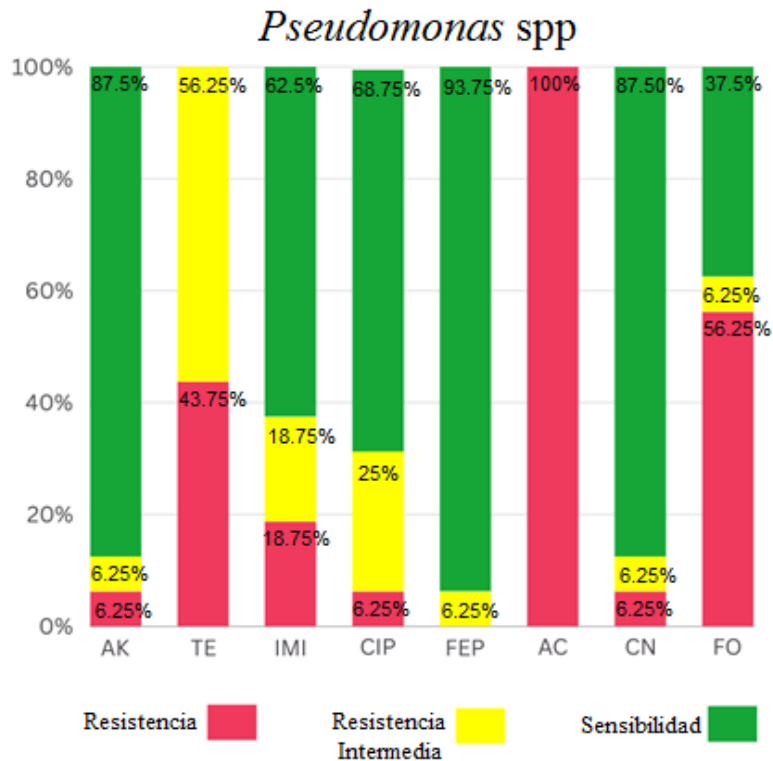


Figura 11: Resistencia antimicrobiana de *Pseudomonas* spp. presentado en porcentajes.

*AK= amikacina, TE= tetraciclina, IMI= Imipenem, CIP= ciprofloxacina, FEP= Cefepime, AC= amoxicilina con ácido clavulánico, CN= gentamicina y FO= fosfomicina.

Las familias de antibióticos representadas en los antibiogramas de *Pseudomonas* spp. corresponden a los betalactámicos carbapenémicos (imipenem), los aminoglucósidos (amikacina y gentamicina), las fluoroquinolonas (ciprofloxacina), las cefalosporinas de cuarta generación (cefepime) y antibióticos fosfonatos (fosfomicina) (Maguiña-Vargas, Ugarte-Gil y Montiel, 2006; Mella *et al.*, 2004).

Con los resultados de los antibiogramas aplicados a los aislados *Pseudomonas* spp. se determinó que el 31.25% son resistentes a un grupo de antibióticos (25% a fosfonatos y 6.25% a fluoroquinolonas); el 25% a 2 familias de antibióticos (el 12.5% a betalactámicos carbapenémicos y fosfonatos, el 6.25% a betalactámicos carbapenémicos/fluoroquinolonas o aminoglucósidos/fluoroquinolonas); el 18.75% son resistentes a 3 familias de antibióticos (6.25% a betalactámicos carbapenémicos, a aminoglucósidos y fosfonatos; 6.25% a fluoroquinolonas, a cefalosporinas de cuarta generación y fosfonatos; 6.25% a betalactámicos carbapenémicos, aminoglucósidos y fosfonatos) y solamente el 6.25% presentó resistencia a 4 familias de antibióticos (betalactámicos carbapenémicos, fluoroquinolonas, aminoglucósidos y fosfonatos).

VIII. Discusión

La presencia de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en el río El Tixcuco sobrepasa los límites microbiológicos permitidos en El Salvador y esto se vincula con las diversas fuentes de contaminación que llegan directamente al río. Se ven involucrados procesos de escorrentía, descarga de aguas residuales y de origen doméstico, altos niveles de urbanización a lo largo del cauce del río lo que se traduce en la adición de microorganismos al ecosistema. Los altos niveles de bacterias coliformes totales sugieren contaminación proveniente del suelo o de materia orgánica, mientras que la presencia de coliformes fecales y *E. coli* indican contaminación fecal que está relacionada principalmente con las actividades humanas cercanas al río.

Los resultados obtenidos en esta investigación para el agua de río concuerdan con el estudio realizado por Menjívar, 2020 donde realizó muestreos a diversos ríos y en todos los puntos muestreados se encontraron altas concentraciones de bacterias coliformes vinculando los resultados con el aumento de la actividad humana en las zonas cercanas al río. También, Mena, 2007 estudió la calidad del agua de la cuenca del río grande de San Miguel y determinó niveles de coliformes totales y coliformes fecales por encima de los límites permitidos. Vinculó los resultados a la incidencia de actividades antropogénicas y categorizó el agua entre “pésima” a “regular”, indicando que los ríos aledaños a esa zona no son aptos para actividades que involucren el contacto con los humanos.

Se encontraron diferencias significativas en la concentración de bacterias coliformes durante los tres muestreos debido a la presencia de lluvias intensas posteriores al muestreo 1. Esta lluvia provocó un aumento en el caudal del río y favoreció la dilución de los microorganismos. Resultados que concuerdan con los obtenidos por Gil y Herrera, 2003 donde el aumento en el caudal en la microcuenca del lago Amatitlán, producto de las lluvias, redujo la cantidad de bacterias coliformes que se encontraban en el cuerpo de agua.

En esta investigación se observó un aumento en la concentración de bacterias en los puntos finales del río (R7 y R8) lo cual puede deberse a que, en este trayecto, el río presenta más zonas de estancamiento, afectando esto, la velocidad del flujo del agua. Así mismo, el cauce recibe mayor cantidad de descarga y mayor cantidad de contaminantes debido a que las zonas aledañas utilizan la ribera como basureros municipales.

Para el caso de la red de agua de la colonia Prados de San Miguel, la presencia de estos microorganismos puede vincularse con factores como un proceso deficiente de cloración y/o factores externos como el mal estado de las cañerías de distribución, daño en la infraestructura subterránea que conduce las aguas negras y a las filtraciones que pueden ocurrir a dicho sistema en diversos sitios (Arriza *et al.*, 2015).

En el muestreo 1 del agua de la red se obtuvo mayor concentración de coliformes totales con respecto al muestreo 2 y 3 pudiendo vincularse dichos resultados a la ubicación de las casas de donde se obtuvo la muestra, ya que puntos de muestreo como C4M1, C6M1, C7M2, C2M3 se encontraban lejos del pozo de distribución y cerca del río grande de San Miguel, pudiendo este, tener influencia en el agua de la red ya que por infiltración pueden llegar los microorganismos patógenos de este cuerpo de agua a los sistemas de distribución de la colonia.

Dichos resultados concuerdan con los obtenidos por Leiva Cruz, Menjívar Gómez y Orellana Medina, 2013 en un estudio realizado en el cantón San Antonio Chávez en el departamento de San Miguel, donde concluyeron que la contaminación del agua potable con bacterias coliformes está vinculada directamente con la ubicación de los pozos que, en muchas ocasiones, facilita la filtración de partículas, materia orgánica y desechos desde el exterior.

En este estudio, los valores de cloro no fueron un factor determinante en el análisis microbiológico ya que no todas las muestras con valores de cloro residual menores a los rangos permitidos (entre 0.3mg/mL y 1.1mg/mL) presentaron bacterias coliformes. Algunas muestras como la C1M3, C3M3 y C5M3 presentaron concentración de cloro menor a 0.3mg/mL y la determinación de las bacterias de interés se encontró en los límites permitidos (<1.1 NMP/100mL).

Resultados similares se obtuvieron en el estudio realizado por Contreras Moreno y Romero Hernández, 2004 donde analizaron el agua potable de tres municipios de San Salvador y concluyeron que los valores de cloro residual no determinaron la presencia o ausencia de bacterias. Sin embargo, difieren con los datos obtenidos por Zuñiga y Samperio, 2019 ya que dichos investigadores expresan que los valores de cloro residual son factores que sí pueden tener influencia en las concentraciones de bacterias cuantificadas en las muestras de agua (Zuñiga y Samperio, 2019).

En relación a la resistencia antimicrobiana, algunos aislados de *Klebsiella* spp. expresaron resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, penicilina, fosfomicina y cefalotina. Resultados que concuerdan con Jelić *et al.*, 2019 quienes aislaron *Klebsiella* spp. de un río de Croacia resistentes a amoxicilina/ácido clavulánico y todas las cefalosporinas. También, Kittinger *et al.*, 2016 aislaron cepas de *Klebsiella* spp. resistentes a amoxicilina con clavulánico y Osman *et al.*, 2024 cepas de *Klebsiella* spp. del río Al-Oueik, resistentes a fosfomicina.

Así mismo, Salamandane y colaboradores analizaron agua de consumo humano y aislaron cepas de *Klebsiella* spp. resistentes a la amoxicilina/ácido clavulánico. Sin embargo, dichos investigadores aislaron cepas resistentes a la tetraciclina y presuntas *Klebsiella* spp. resistentes a gentamicina, resultados que difieren con los obtenidos en esta investigación (Salamandane *et al.*, 2021).

Para el caso de *Pseudomonas* spp. se obtuvieron aislados con resistencia a tetraciclina, amikacina, imipenem, ciprofloxacina, cefepime, amoxicilina/ácido clavulánico, gentamicina y fosfomicina. De la misma forma que lo hizo Kittinger y compañía con el agua del río Danubio, aislando *Pseudomonas* spp. resistentes a cefepime, imipenem, amikacina, gentamicina y ciprofloxacina (Kittinger, Lipp, Baumert, *et al.*, 2016). También Dueñas & Quispe aislaron a *Pseudomonas* spp. de agua de dos ríos, encontrando cepas resistentes a la amikacina y gentamicina (Dueñas Pacheco & Quispe Apaza, 2011). Correa Rivas y compañía aislaron *Pseudomonas* spp. de agua de consumo humano, encontrando cepas con la capacidad de resistir a las penicilinas, cefalosporinas y aminoglucósidos (Correa Rivas *et al.*, 2015). Por el contrario Vaz-Moreira, Nunes y Manaia, 2012 analizaron agua de consumo humano y aislaron *Pseudomonas* spp., con sensibilidad a imipenem. Resultados que difieren con los de esta investigación.

Las diferencias entre los resultados de esta investigación sobre la resistencia antimicrobiana y los resultados que presentan otros estudios pueden tener diversas explicaciones; una de ellas puede ser la ubicación geográfica de cada sitio de estudio; por ejemplo, en Latinoamérica se han registrado cepas de *Klebsiella* spp. con mayor expresión de genes de resistencia a cefalotina y antibióticos similares (García, Astocondor y Banda, 2012). También, puede tener influencia la proporción y frecuencia con la que se usan los diferentes tipos de antibióticos en cada zona.

Uno de los resultados relevantes de esta investigación fue el aislamiento de *Klebsiella* spp. sensible a la penicilina G pues es sabido que este microorganismo posee la enzima penicilinasa que le da resistencia natural a algunas penicilinas (Cavalieri *et al.*, 2005; Maguiña-Vargas, Ugarte-Gil y Montiel, 2006; Navarro, Miró Y Mirelis, 2010; Ortega-Cisneros *et al.*, 2022). Esto podría explicarse y compararse con los resultados obtenidos por Parte-Pérez y compañía en el 2001, donde tras analizar la resistencia de *Klebsiella* spp. por una década, encontraron que la tendencia general era que la resistencia a los antibióticos aumentara, sin embargo, había fluctuaciones en las que los aislados se volvían más sensibles por temporadas, además de que solo entre el 90% - 98% los aislados de *Klebsiella* expresaban su resistencia natural (De la Parte-Pérez *et al.*, 2001).

Otro de los resultados relevantes, es que en la misma muestra se encontraron cepas de *Klebsiella pneumoniae* que expresaban resistencia a la penicilina G y cepas que no. Esto puede explicarse tomando en cuenta los bionumeros obtenidos por las pruebas VITEK, al tener dichos aislados, los bionumeros eran distintos comprobando que son fenotípicamente distintas, por lo que la expresión de otras diferencias fenotípicas no es extraña.

Si bien, se obtuvieron aislados de *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp con resistencia a los antibióticos en ambos sitios de estudio (agua de río y agua de red) solamente los aislados de *Pseudomonas* spp. fueron multidrogoresistentes. Es de esperarse que estas bacterias con resistencia a los antibióticos se encuentren solamente en entornos donde se usan dichos fármacos, por ejemplo, en los hospitales. Sin embargo, la presencia de estas bacterias en el agua del río El Tixcuco puede deberse a todos los residuos orgánicos que son vertidos en él (Cruz Lazo y González de Cruz, 2015).

En este río se vierten desechos del rastro Municipal de San Miguel y es sabido que el uso de antibióticos para estimular el crecimiento del ganado, promueve el desarrollo de bacterias con resistencia adquirida a los antibióticos (Organización Mundial de la Salud, 2017), por lo que la eliminación de dichos restos podría estar contaminando el río con bacterias resistentes.

Otra de las posibles fuentes de contaminación con bacterias resistentes a los antibióticos son los residuos sólidos y líquidos que se vierten a lo largo del río, residuos provenientes en su mayoría de domicilios y con los que las personas de la zona interactuaban antes de ser desechados.

Con el uso indebido y excesivo de los antibióticos las personas podrían haber promovido la selección de bacterias con resistencia a los antibióticos (Camacho Silvas, 2023)

Para el caso de las bacterias resistentes en el agua de la red (chorro) podría estar implicada la filtración de agua del río El Tixcuco hasta el nivel freático, teniendo contacto con el manto acuífero de la zona. En esta investigación se comprobó que el río posee niveles elevados de contaminación bacteriana y la abundancia de bacterias es un factor que permite que se infiltren con el agua (Balousek, 2003; Pitt *et al.*, 1996).

Las bacterias al estar en el manto acuífero podrían contaminar de alguna manera el agua del pozo (el cual se encuentra cerca del río) que abastece a la Colonia Prados y al tener en ocasiones niveles de cloro bajo (ver anexo 4), esta cloración deficiente promovería la supervivencia de bacterias que tienen resistencia adquirida a los antibióticos (Ma *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2013; Zhong *et al.*, 2022).

A esta problemática, se suma la presencia de una fosa (baño) que se encuentra cerca del río, en caso de tener filtraciones, las bacterias de las evacuaciones (pudiendo tener resistencia adquirida) podrían estar migrando y contaminando el agua de los sistemas de distribución o del manto acuífero (Strande & Brdjanovic, 2014). Estas bacterias podrían estar promoviendo y propagando genes de resistencia a los antibióticos por medio de la transferencia horizontal de genes (Acosta *et al.*, 2020), además algunos antibióticos son excretados por el cuerpo en la orina o las heces y por lo tanto las bacterias del ambiente pueden estar expuestas de manera indirecta a estos fármacos (Mendoza Sierra *et al.*, 2019).

IX. Conclusiones

El agua del río El Tixcuco no es apta para realizar actividades humanas en las que tengan contacto directo, debido a la contaminación microbiológica registrada.

Un porcentaje de las muestras de agua de la red de distribución de la colonia Prados de San Miguel no cumple con los parámetros microbiológicos establecidos en el Reglamento Técnico Salvadoreño (13.02.01:14) y por lo tanto no es apta para el consumo humano.

El río El Tixcuco y la red de abastecimiento de agua de la colonia Prados de San Miguel son receptores de bacterias resistentes a los antibióticos, pudiendo distribuir las a diversas zonas y entre comunidades bacterianas; representando un riesgo para la salud pública.

Klebsiella spp. es diseminadora de genes de resistencia a los antibióticos y su presencia con resistencias no catalogadas como intrínsecas a los antibióticos sugiere la presencia de otras bacterias con resistencias similares.

La presencia de *Pseudomonas* spp. multidrogoresistentes en el agua del río y la red de abastecimiento puede ser el resultado de la constante exposición y contaminación que sufren los ambientes acuáticos con antimicrobianos.

X. Recomendaciones

Implementar el monitoreo constante del agua del río El Tixcuco y de los sistemas de distribución de agua potable de la zona para garantizar que cumplan con los límites microbiológicos permitidos. Además, incluir un enfoque físico químico/solutos en dichos estudios y la presencia de sedimentos en el agua potable.

Vigilar y asegurar el correcto descarte de los residuos del rastro municipal de San Miguel para evitar el vertido de desechos provenientes del destazo de animales de granja en el río El Tixcuco. Así mismo, implementar un sistema adecuado para el desagüe de aguas residuales domesticas en todas las áreas urbanizadas cercanas.

Verificar el estado de las tuberías de distribución de agua potable de la colonia Prados de San Miguel y realizar el proceso de cloración adecuado para el agua de pozo.

Realizar un estudio con enfoque edafológico para comprobar si existe conexión entre la zona del manto acuífero de dónde se extrae el agua que se distribuye en la colonia Prados de San Miguel y el agua del río El Tixcuco

Instalar basureros municipales adecuados para el descarte de desechos y mejorar el servicio de recolección de basura en las cercanías del río el Tixcuco

Impartir capacitaciones ambientales a los habitantes de las colonias aleñadas al río sobre la importancia de la protección de los recursos naturales y cuerpos de agua superficiales.

Vigilancia epidemiológica de los habitantes de la colonia Prados y zonas aledañas por parte del Ministerio de Salud.

XI. Bibliografía

Acosta IC, Posada L, Huertas MG, Zambrano MM. 2020. El efecto de los aminoglucósidos sobre la transferencia horizontal de genes en *Klebsiella pneumoniae*. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 44(170):105–120. doi:10.18257/raccefyn.985. [accessed 2024 Jun 26]. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0370-39082020000100105&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

Acosta Orellana D. del C. Determinación de la calidad del agua del río San Sebastián y su impacto en la salud y calidad de vida de los habitantes del Caserío San Sebastián, municipio de Santa Rosa de Lima, departamento de La Unión. Tesis de maestría. Universidad de El Salvador. 2015 <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/99589e08-7322-4024-a623-685f714a8d0f/content>

Ahmed H, Zolfo M, Williams A, Ashubwe-Jalemba J, Tweya H, Adeapena W, Appiah-Korang L, Adomako LAB, Addico GND, Banu RA, Akrong MO, Quarcoo G, Borbor S, Osei-Atweneboana MY. 2022. Antibiotic-Resistant Bacteria in Drinking Water from the Greater Accra Region, Ghana: A Cross-Sectional Study, December 2021–March 2022. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19(19): 1-13 <https://doi.org/10.3390/ijerph191912300>

Alonso Ruano AL. Análisis bacteriológico del agua de abastecimiento de los estanques de la estación piscícola de Izalco, departamento de Sonsonate, El Salvador, durante el año 2016. Tesis de grado. Universidad de El Salvador. 2017 <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/5a5b96db-5fdb-4555-a05e26d97eeadb38/content>

Alvo A, Téllez V, Sedano C, Fica A. 2016. Conceptos básicos para el uso racional de antibióticos en otorrinolaringología. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*. 76 (1): 136-147 <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162016000100019>

Andreas Toba F, Falco A, Aranaga CA, Alonso G. Caracterización de bacterias aisladas en un reservorio de agua en Venezuela. Una aproximación a la multirresistencia bacteriana en ambientes naturales. En la contaminación industrial de agua: Una mirada microbiológica y molecular 1ª Edición. Colombia. 2018. P. 93-120

Antimicrobial Resistance Collaborators. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The lancet*. 339(10325): 629-655
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

Ávila, I. (2018). Alcaldía de San Miguel limpia quebrada Tixcuco. El Salvador.
<https://historico.elsalvador.com/historico/470060/alcaldia-de-san-miguel-limpia-quebrada-tixcuco.html>

Baene Férrez I. 1998. Resistencia bacteriana. Principios fundamentales para la práctica quirúrgica. *Revista colombiana de cirugía*. 13(3): 174-180
<https://www.revistacirugia.org/index.php/cirugia/article/view/1574/1208>

Bagley ST. 1985. Habitat association of *Klebsiella* species. *Infection Control*. 6(2):52-58.
<https://doi.org/10.1017/s0195941700062603>

Balousek J. 2003. Potential Water Quality Impacts of Stormwater Infiltration.
<https://lwr.d.countyofdane.com/documents/pdfs/Plans--Studies--Reports/Studies/impactsofswinfiltration.pdf>.

Barcelona L, Marin M, Stamboulian D. 2008. Betalactámicos con inhibidores de betalactamasas. Amoxicilina-sulbactam. *Medicina (B. Aires)*. 68(1): 65-74
<http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S002576802008000100012&lng=es&nrm=iso>

Barrantes Jiménez K, Chacón Jiménez L, Arias Andrés M. 2021. El impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. *Población y Salud en Mesoamérica*. 9(2): 305-329
<https://doi.org/10.15517/psm.v19i2.47590>

Beloti V, Barros M de AF, Nunes MP, Santana EHW de, Nero LA, Souza JA de. 2002. Use of ReadyCult™ - LMX for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in milk. *Braz J Microbiol*. 33:49–52. doi:10.1590/S1517-83822002000100010. [accessed 2024 Jun 8].
<https://www.scielo.br/j/bjm/a/QXDfY8sq8TXyq46WLVSQmZc/>.

BioMérieux. 2010. Sistema de identificación de Enterobacteriaceae y otros bacilos Gram negativos no exigentes. <https://quios.com.co/wp-content/uploads/2017/05/API-20E-FT.pdf>.

BioMérieux. 2022. VITEK® 2. bioMérieux España. [accessed 2024 Jan 10].
<https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/vitekr-2>.

Bou G, Fernández-Olmos A, García de la fu C, Sáez-Nieto J A, Valdezate S. 2011. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 29(8): 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>

Busani L, Graziani C, Franco A, Di Egidio A, Binkin, N, Battisti A. 2004. Survey of the knowledge, attitudes and practice of Italian beef and dairy cattle veterinarians concerning the use of antibiotics. *Vet Record*. 155(23): 733-738. <https://doi.org/10.1136/vr.155.23.733>

Bush LM, & Vásquez-Pertejo MT. 2022. Infecciones por *Pseudomonas* y patógenos relacionados. Manual MSD. *Enfermedades infecciosas*
https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacilosgramnegativos/infecciones-por-pseudomonas-y-pat%C3%B3genosrelacionados#Epidemiolog%C3%ADa_v10o7331_es

Cabrera Aguilar JR, Hernández Acosta MG, Sánchez de Ramos ME, Ramos Alvarenga RF. 2008. Validación de la prueba de coliformes totales y fecales por la técnica de tubos múltiples utilizando un medio fluorogénico. [accessed 2024 Jun 30].
https://bibliotecaues.summon.serialssolutions.com/2.0.0/link/0/eLvHCXMwFR27TsMw8FSajQU EiLdO7EUhSQMZI9oKCRYQIMFSOfYZEGmMmgSJhf_pzMaaH-OcBFQ61Itt-Xzy-Xn2PQzge8dub2FP8PuuCgIeYkWamGMmPvkTHYXKVxTo2jFTfH0a3_lXg-ihA7-fdlqHgtT4E8zf_66Lr-ZZ1FfKXqNm2dqppUxI84tGP-CwAk5op1cXnJvLx3hYW7RboIKkYKxzx8hoDVYHc-LvdehQvgGf98wKKyFfq8MFWEq8G1aUiJshofJmk5NKMfCMJ_M8QdqRm1TzDpb6KKaSWviYeGLMjE5TqrvRk0wR55XVnErUwbLDK0k3aBOSzM1T9WMa5INOB0Nb88vev-aPW6fdcY1kd4WdDOT0TagPBFaCi2k8kPe_WSkozPXixJFyhOuJ3Zgbwmi3aWl--BoXg10sNCHh23f_gBfk5-A

Cádiz A, Heredia R, Sánchez E. 2018. Bioseguridad en infecciones por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas (KPC). Universidad Nacional de Cuyo https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/12780/cadiz-antonella.pdf

Calderón R, Jácome JD, Reyes M, Rojas D, Ramírez Cando LJ. 2017. Consideración básica sobre la seguridad microbiológica de los jugos de naranja expendidos en los alrededores de la Universidad Politécnica Salesiana-sede Quito, campus “El girón”. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*. 25(1): 71-84 DOI: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.07>

Calderón Rojas G, Aguilar Ulate L. 2016. Resistencia antimicrobiana: Microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica* LXXIII. (621) 757 - 763

Calvo J, Martínez-Martínez L. 2009. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 27(1): 44-52. [10.1016/j.eimc.2008.11.001](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001)

Camacho Silvas LA. 2023. Resistencia bacteriana, una crisis actual. *Rev Esp Salud Publica*. 97:e202302013. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10541255/>.

Cavaliere SJ, Harbeck RJ, McCarter YS, Ortez JH, Rankin ID, Sautter RL, Sharp SE, Spiegel CA. 2005. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Marie B. Coyle Departments of Laboratory Medicine and Microbiology University of Washington. 2005. P. 15-21 <https://www3.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>

Chávez-Jacobo VM, Ramírez-Díaz MI, Silva-Sánchez J, Cervantes C. 2015. Resistencia bacteriana a quinolonas: Determinantes codificados en plásmidos. *Revista de educación bioquímica* 34(1): 4-9 http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S166519952015000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Chen L. Duan K. 2016. A PhoPQ-Regulated ABC transporter system exports tetracycline in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 60(5): 3016-3024. doi: 10.1128/AAC.02986-15

Contreras Moreno RA, Romero Hernández EM. Evaluación microbiológica de la calidad del agua potable que distribuye en los sectores de San Bartolo, Santa Lucía y San Martín. Tesis de grado. Universidad de El Salvador. El Salvador. 2004. <https://oldri.ues.edu.sv/id/eprint/5537/1/10128553.pdf>

Corona-Lisboa JL. 2013. Contaminación antrópica en el lago de Maracaibo, Venezuela. *Biocenosis. Revista ambiental*. 27: 1-2 <https://revistas.uned.ac.cr/index.php/biocenosis/article/view/614>

Corral Zambrano CA, Zambrano Solórzano LJ, Pincay Vargas DM, Calo Gómez SG. 2021. Impactos ambientales generados por la ganadería en la Provincia de Santo Domingo de Tsáchilas. *UNESUM-Ciencias*. 5 (2): 69-78 <https://doi.org/10.47230/unsum-ciencias.v4.n3.2020.255>

Correa Rivas KA, Bravo Torrealba MV, Silva Alvarado RA, Montiel M. 2015. Susceptibilidad a antibióticos de *Pseudomonas aeruginosa* aislada de agua de consumo humano de la comunidad Santa Rosa de Agua, Maracaibo, estado Zulia. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 35(2):83–88. [accessed 2024 Feb 14]. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1315-25562015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Cruz Cruz EM, Díaz Ramón G. 2010. Modelación molecular de antibióticos betalactámicos: MediSur Cienfuegos. 8(1): 13-19 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727897X2010000100004&lng=es&tlng=es

Cruz Lazo JA, González de Cruz D. 2015. Propuesta para el aprovechamiento de los residuos generados en El Rastro Municipal de San Miguel. [masters]. Universidad de El Salvador. [accessed 2024 Feb 26]. <http://opac.fmoues.edu.sv/infolib/tesis/50108740.pdf>.

De la Parte-Pérez MA, Brito A, Guzmán M, Carmona O. 2001. Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela: Análisis de una década. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 21(2):14–22. [accessed 2024 Jan 23]. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1315-25562001000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

De León-Rosales SP, Arredondo-Hernández R, López-Vidal Y. 2015. La resistencia a los antibióticos: Un grave problema global. Gac Med Mex. 151(5):681-689 https://www.anmm.org.mx/GMM/2015/n5/GMM_151_2015_5_666-698.pdf

Dubey S. 2021. Effect of Eutrophication in Lotic Body of Jabalpur (M.P) in Relation to Water Quality. International Journal of Innovative Science and Research Technology. 6(2): 1649-1650 <https://ijisrt.com/assets/upload/files/IJISRT21JUN002.pdf>

Dueñas Pacheco C, Quispe Apaza F. 2011. Resistencia a metales pesados y antibióticos de *Pseudomonas* spp. Aisladas de los rios Salado y Cañipia, Espinar-Cusco. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. <https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/860/253T20110014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Duncan I. 1988. Waterborne *Klebsiella* and human disease. Toxicity Assessment. 3(5): 581-598. <https://doi.org/10.1002/tox.2540030512>

Eden R. 2014. Enterobacteriaceae, coliforms and E. Coli: Classical and modern methods for detection and enumeration Encyclopedia of food Microbiology. 1:610-617 doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00097-5

Errecalde JO. 2004. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Incidencia del desarrollo de resistencias en la Salud Pública. Universidad Nacional de Plata, Argentina.

Espinoza Pesantez DI, Esparza Sánchez AF. 2021. Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio. Revista chilena de infectología. 38(1): 69-80
<http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182021000100069&lng=es&nrm=iso>.

Fernández Cirelli A. 2012. El agua: Un recurso esencial. Química viva. 11(3): 147-170.

Fernández Olmos A, García de la Fuente C, Saéz Nieto JA, Valdezate Ramos S. 2010. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. In: Procedimientos en microbiología clínica.
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>.

Figueroa Mery MA. *Escherichia coli* como bacteria indicadora en el monitoreo de la resistencia a antimicrobianos de uso en ganado bovino. Tesis de grado. Universidad de Chile. 2004. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/130803/Escherichia-coli-%20como-bacteria-indicadora-en-el-monitoreo-de-la-%20resistencia-a-antimicrobianos-de-uso-en-ganado-bovino.pdf>

Forbes BA. 2009. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Médica Panamericana. https://books.google.com.sv/books?hl=es&lr=&id=239cauKqSt0C&oi=fnd&pg=PA1&dq=Forbes+BA.+2009.+Diagnostico+Microbiologico.+Ed.+M%C3%A9dica+Panamericana.&ots=2SdEdddBJe&sig=3qXfkiWUcMZzRrv_B1B6LOtyo7g#v=onepage&q=Forbes%20BA.%202009.%20Diagnostico%20Microbiologico.%20Ed.%20M%C3%A9dica%20Panamericana.&f=false

García C, Astocondor L, Banda C. 2012. Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y en el Perú. Acta Médica Peruana. 29(3):163–169 http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1728-59172012000300007&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Get a Map. Quebrada Tixcuco (Tixcuco Quebrada) mapa, fotos y el tiempo - (El Salvador): flujo intermitente - Latitud: 13.4736 and Longitud:-88.1594. https://es.getamap.net/mapas/el_salvador/san_miguel/_tixcuco_quebrada/.

Ghartimagar S, Khatri P, Neupane S, Joshi DR, Joshi TP. 2020. Evaluation of Ground Water Quality of Kathmandu Valley and Antibiotic Susceptibility test against *Klebsiella pneumoniae*. Tribhuvan University Journal of Microbiology. 7(1): 83-90. <https://doi.org/10.3126/tujm.v7i0.33850>

Gil P, Herrera K. 2003. Monitoreo y cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*, en siete microcuentas del lago Amatitlán. Revista científica. Facultad de ciencias químicas y farmacia. 16: 24-30 DOI: <https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.v16i1.235>

González González MI, García Melián M, Mariné Alonso MdlA. 2014. Importancia sanitaria de *Pseudomonas aeruginosa* en agua de hemodiálisis y su desinfección. Revista cubana de Salud Pública. 40(2): 198-211 <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086434662014000200005&lng=es&nr m=iso>. ISSN 0864-3466.

Guevara Surio CA, Portillo ÁG, Molina Velásquez NE. Determinación de la calidad microbiológica del agua de 2 playas: el Tunco y el Sunzal, ubicadas en el departamento de La Libertad, El Salvador. [San Salvador]: Universidad de El Salvador. 2015 [accessed 2024 Jun 30]. https://bibliotecaues.summon.serialssolutions.com/2.0.0/link/0/eLvHCXMwY2AwNtIz0EUrE9KANY9RErDuMzU1TTQxTATWKinGRqmgDrdhUjJ48YVjoLljqLGPi2UkEwPs0k7QgYKpkPMEi8vg3cXs_IxEcJdSF7LMErpXLQfoEcgtGsBcaGTOzMBqBkpeLAysQd5Rjq7gHe0gRSWpyYIAU5GqETdBBh4XpOlviQam1GJhBnZ38OW6lcIMPP7JqYI50DOkRRgcXWBLVZiZD2_OU0hJVchJVACGaWZKYopCbib0CKXDm0GFF1A2RyExvRTEUDBSKMhJrEwsFmVQcnMncfbQRXFSPHTIJh7sASMxBpa8_LxUCQYFU-Nkg-SUVLO0ZCNLE9AVfCaJwG5tcrJhmlkqMCAtJBmk8RgkhVdWmoEL2AgwhQwryDCwpgGTf aosWmDJQMRAGJdjoI.

Hernández Fernández JL, Romero Monge NA. Determinación de resistencia antimicrobiana de patógenos aislados de dispensadores de agua de consumo humano en la Universidad de El salvador. Tesis de grado. Universidad de El Salvador. El Salvador. 2024

Hernández Páez A. 2023. Análisis genómico comparativo de aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* productores de Carbapenemasas en pacientes con y sin SARS-CoV2 de la ciudad de Bogotá durante el periodo de pandemia. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/84398/38291096.2023.pdf?sequence=2&isAllowed=y>.

Hilal-Dandan R, Brunton LL. Inhibidores de la síntesis de proteína y antibacterianos diversos. En Goodman & Gilman. Manual de farmacología y terapéutica. Edición 2. McGraw-Hill. 2014.

Horvath RS, Ropp ME. 1974. Mechanism of Action of Eosin-Methylene Blue Agar in the Differentiation of *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 24(2):221–224. doi:10.1099/00207713-24-2-221. [accessed 2024 Jun 9]. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-24-2-221>.

Iñiguez-Muñoz LE, Anaya-Esparza LM, Castañeda AA, Martínez Esquivias F. 2022. Calidad microbiológica del agua potable en las escuelas públicas de la ciudad de Tepatlán, Jalisco. Boletín de ciencias agropecuarias del ICAP. 8(15): 33-39 DOI: 10.29057/icap.v8i15.7958

Jelić M, Hrenović J, Dekić S, Goić-Barišić I, Tambić Andrašević A. 2019. First evidence of KPC-producing ST258 *Klebsiella pneumoniae* in river water. Journal of Hospital Infection. 103(2):147–150. doi:10.1016/j.jhin.2019.04.001. [accessed 2024 Feb 6]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670119301513>.

Jiménez Pearson MA, Galas M, Corso A, Hormazábal JC, Duarte Valderrama C, Salgado Marcano N, Ramón-Pardo P, Melano RG. 2019. Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. Revista Panamericana de Salud Pública. 43: e65. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.65>

Jindal P, Bedi J, Singh R, Aulakh R, Gill J. 2021. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolated from dairy farm milk, farm slurry and water in Punjab, India. Environmental Science and Pollution Research International. 28(22): 28556-28570. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12514-8>

Kittinger C, Lipp M, Baumert R, Folli B, Koraimann G, Toplitsch D, Liebmann A, Grisold AJ, Farnleitner AH, Kirschner A, *et al.* 2016. Antibiotic resistance patterns of *Pseudomonas* spp.

isolated from the River Danube. *Front Microbiol.* 7:586. doi:10.3389/fmicb.2016.00586. [accessed 2024 Feb 7]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4853796/>.

Kittinger C, Lipp M, Folli B, Kirschner A, Baumert R, Galler H, Grisold AJ, Luxner J, Weissenbacher M, Farnleitner AH, *et al.* 2016. Enterobacteriaceae isolated from the River Danube: Antibiotic resistances, with a focus on the presence of ESBL and carbapenemases. *PLOS ONE.* 11(11):e0165820. doi:10.1371/journal.pone.0165820. [accessed 2024 Feb 6]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0165820>.

Larrea-Murrel JA, Rojas-Badía MM, Romeu-Álvarez B, Rojas-Hernández NM, Heydrich-Pérez M. 2013. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas.* 44(3): 24-34 <https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=181229302004>

Leiva Cruz PJ, Menjívar Gómez JF, Orellana Medina RA. Determinación de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en el agua de pozos artesanales del caserío el Guayabal, cantón San Antonio Chávez, Municipio y departamento de San Miguel antes y después del tratamiento con hipoclorito de sodio al 0.5% en el periodo de julio a septiembre del año 2013. Tesis de grado. Universidad de El Salvador. El Salvador. 2013 <http://ri.ues.edu.sv/7448/1/50108084.pdf>

Lipps WC, Braun-Howland EB & Baxter TE, eds. *Standard Methods for the examination of water and Wastewater 24th edition*, Washington DC: APHA Press; 2023.

Lirola-Andreu L, Ávila-Jiménez AF, Fernández-Mariscal MA, Reinoso-Espín A, Martínez-Martínez S. 2022. La resistencia bacteriana. Generalidades, carbapenemasas y actualidad: una revisión narrativa. *Archivos de medicina universitaria.* 65-74 <http://hdl.handle.net/10481/75043>

Llanos-Soto SG, Vezeau N, Wemette M, Bulut E, Greiner Safi A, Moroni P, Shapiro MA, Ivanek R. 2021. Survey of perceptions and attitudes of an international group of veterinarians regarding antibiotic use and resistance on dairy cattle farms. *Preventive Veterinary Medicine.* 188: 1-13 <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105253>

Lopardo HA, Predari, SC, Vay C. 2016. Bacterias de Importancia Clínica. Manual de microbiología clínica de la asociación argentina de microbiología. Volumen 1 <https://www.aam.org.ar/publicaciones/otras/manual-de-microbiologia-clinica>

López Pesantez AM, Samaniego Jara JM. Evaluación de la viabilidad y caracterización bacteriana anaeróbica estricta de la flora intestinal humana para ensayos in-vitro. Tesis de grado. Universidad de Cuenca. Ecuador. 2016 <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/29633>

López-Jácome LE, Hernández-Durán M, Colín-Castro CA, Ortega-Peña S, Cerón-González G, Franco-Cendejas R. 2014. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología.

Luzardo OP, Henríquez Hernández LA, Zumbado M, Boada LD. 2014. Impacto de las instalaciones ganaderas sobre la calidad y seguridad del agua subterránea. *Rev. Toxicol.* 31(1): 39-46 <https://www.redalyc.org/pdf/919/91932798005.pdf>

Ma L, Yang H, Guan L, Liu X, Zhang T. 2022. Risks of antibiotic resistance genes and antimicrobial resistance under chlorination disinfection with public health concerns. *Environment International.* 158:106978. doi:10.1016/j.envint.2021.106978. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412021006036>.

Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. 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 doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.

Maguiña-Vargas C, Ugarte-Gil CA, Montiel M. 2006. Uso adecuado y racional de los antibióticos. *Acta Médica Peruana.* 23(1):15–20. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1728-59172006000100004 &lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1728-59172006000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

Martínez Parra M. 2007. La contaminación del agua subterránea por prácticas ganaderas. *Tierra y tecnología.* 32: 103-117 https://www.researchgate.net/publication/318392887_La_contaminacion_del_agua_subterranea_por_practicas_ganaderas

Martínez-Alcalá I, Soto J y Lahora A. 2020. Antibióticos como contaminantes emergentes. Riesgo ecotoxicológico y control en aguas residuales y depuradas. *Ecosistemas.* 29(3). : 1-9 <https://doi.org/10.7818/ECOS.2070>

Martins A, Aguilar Silva R, Occhi Ferreira L, Madalena Licate M, Delafiori CR, França Pôrto S. 2019. Resistencia a antimicrobianos de enterobacterias aisladas de aguas destinadas al

abastecimiento público en la región centro-oeste del estado de São Paulo, Brasil. Rev Pan-Amaz Saude. 10: e201900065. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223201900065>

Massé J, Dufour S, Archambault M. 2020. Characterization of *Klebsiella* isolates obtained from clinical mastitis cases in dairy cattle. Journal of Dairy Science, 103(4), 3392-3400. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17324>

Maza Marcatoma CS, Clavijo Paltin MI. 2017. Detección de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario del Hospital Vicente Corral Moscoso. Tesis de grado. Universidad de Cuenca. 2017 <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/26828>

Medeiros AKS, Borges MC, Silva LFA, Dantas BM, Fernandes PE, Sá JPN de. 2024. Quantification of total and thermotolerant coliforms using different analytical techniques in food matrices. Brazilian Journal of Development. 10(2):e67429–e67429. doi:10.34117/bjdv10n2-050. [accessed 2024 Jun 8]. <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/67429>.

Melgarejo Anamaría GM. Aislamiento y caracterización molecular de cepas de *E. coli* y *Klebsiella* spp productoras de betalactamasas de espectro extendido, y de *Staphylococcus* spp resistentes a meticilina en murciélagos hematófagos y animales de crianza extensiva en la región de Lima. Tesis de grado. Universidad Paruana Cayetano Heredia. Perú. 2018. <https://hdl.handle.net/20.500.12866/3950>

Mella S, Sepulveda M, Gonzales G, Bellor H, Dominguez M, Zemelman R, Ramírez C. 2004. Aminoglucósidos-aminociclitolos: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. Rev Chil Infect. 21(4): 330-338 <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182004000400007>

Mena Z. 2007. Diagnostico nacional de la calidad de las aguas superficiales. Ministerio de medio ambiente y recursos naturales. Servicio nacional de estudios territoriales. <https://portafolio.snet.gob.sv/digitalizacion/pdf/spa/doc00225/doc00225.htm>

Mendoza Sierra E, Mendoza Gálvez E, Mendoza Gálvez IA, Mendoza Gálvez MD, Gálvez Barón M. 2019. Manejo práctico de los antibióticos https://books.google.com.sv/books?id=mWydDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Menjívar Pineda NM. Análisis microbiológico del agua de pozos y ríos del municipio de Nueva Trinidad, Chalatenango. Tesis de grado. Universidad de El Salvador. 2020 <https://oldri.ues.edu.sv/id/eprint/21359/1/AN%C3%81LISIS%20MICROBIOL%C3%93GICO%20DEL%20AGUA%20DE%20POZOS%20Y%20R%C3%82OS%20DEL%20MUNICIPIO%20DE%20NUEVA%20TRINIDAD%2C%20CHALATENANGO%2C%20EL%20SALVADOR%20Marilu%20Menjivar%20Final.pdf>

Millán Araujo, J. (2020). Guía Ciudadana Para la Protección de las Cuencas y Uso Racional de Nuestro Recurso Hídrico. PRIGA Universidad Nacional. file:///C:/Users/HP/Downloads/GUIA%20DIDACTICA%20A%20CUIDAR%20EL%20AGUA_UNA.pdf

Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2013. Informe de la calidad del agua de los ríos El Salvador / 2012 - 2013. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <http://rcc.marn.gob.sv/xmlui/handle/123456789/169>.

Ministerio de Salud de El Salvador. 2013. Manual de toma, manejo y envío de muestras de laboratorio.

Moreno MC, Gonzales ER, Beltrán C. 2009 Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello.* 69(2): 185-192 <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162009000200014>

Muñoz Arranz A. Antibióticos en el suelo. Trabajo de grado. Universidad Complutense. España. 2017 <https://hdl.handle.net/20.500.14352/20699>

Muso Jami EF, Acosta Hurtado CI. Evaluación de bioaerosoles asociados en el sitio de disposición final de residuos sólidos en la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL). Tesis de grado. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. 2017 <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/25305>

Navarro F, Miró E, Mirelis B. 2010. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 28(9):638–645. doi:10.1016/j.eimc.2010.05.002. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-lectura-interpretada-del-antibiograma-enterobacterias-S0213005X10002193>.

Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica. 2018. Reglamento Técnico Salvadoreño. [file:///C:/Users/HP/Downloads/rts_calidad_e_inocuidad_del_agua_para_consumo_humano_v1%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/rts_calidad_e_inocuidad_del_agua_para_consumo_humano_v1%20(1).pdf)

Organización Mundial de la Salud. (2021). Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Mundial de la Salud. 2017. Dejemos de administrar antibióticos a animales sanos para prevenir la propagación de la resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news/item/07-11-2017-stop-using-antibiotics-in-healthy-animals-to-prevent-the-spread-of-antibiotic-resistance>.

Ortega-Cisneros M, Moras-Villela VL, Delgado-Bañuelos A, Madrigal-Beas IM, Aguilar-Chávez Y, Ochoa-García IV, Chávez-Meléndez MÁ, Gómez-Hernández N. 2022. Alergia a la penicilina. *Revista alergia México*. 69:81–93. doi:10.29262/ram.v69isup1.1038. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2448-91902022000500081&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Osman M, Daaboul D, Tajani AG, El Omari K, Bisha B, Hassan J, Cazer CL, Fiorella KJ, Karah N, Abbara A, *et al.* 2024. Multidrug-resistant pathogens contaminate river water used in irrigation in disenfranchised communities. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 36:175–180. doi:10.1016/j.jgar.2023.12.016. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716523002308>.

Pérez D, Serrano Cervantes L, Sermeño Chicas JM, Springer M, Paniagua Cienfuegos, MR, Hernández Martínez MA, Rivas Flores AW, Monterrosa Urías AJ, Bonilla de Torres BL, Carranza Estrada FA, Flores Tensos JM, De los Angeles Gonzáles C, Gutiérrez Fonseca PE, Menjívar Rosa RA, Arias de Linares AY, Chávez Sifontes JM, Muñoz Aguillon SM, López Turcios NA, Rosales Árevalo D. 2010. Clasificación de la calidad del agua de los principales ríos de El Salvador y su relación con las poblaciones de macroinvertebrados acuáticos. En: *Formulación de una guía metodológica estandarizada para determinar la calidad ambiental de las aguas de los ríos de El Salvador, utilizando insectos acuáticos*. Proyecto Universidad de El Salvador (UES) - Organización de los Estados Americanos (OEA). Editorial Universitaria UES, San Salvador, El Salvador. <https://oldri.ues.edu.sv/id/eprint/2995>

Pitt RE, Clark S, Parmer K, Field R. 1996. Groundwater contamination from stormwater infiltration. Taylor & Francis. <https://doi.org/10.1201/9780203719756>

Porres Osant, Ruiz Ruiz. 2018. *Microbiología clínica*. Ediciones Paraninfo, S.A. <https://books.google.com.co/books?id=GNBXDwAAQBAJ&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>

Ramos-Ortega LM, Vidal LA, Vilarity QS, Saavedra-Díaz L. 2008. Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la bahía de Santa Marta, caribe colombiano. *Acta Biológica Colombiana*. 13(3): 87-98
<https://www.redalyc.org/pdf/3190/319028004007.pdf>

Ríos-Tobón S, Agudelo-Cadavid RM, Gutiérrez-Builes LA. 2017. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 35(2): 236-247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>

Ripanda AS, Rwiza MJ, Nyanza E C, Miraji H, Bih N L, Mzula A, Mwege E, Njau KN, Vuai SAH, Machunda R L. 2023. Antibiotic-resistant microbial populations in urban receiving waters and wastewaters from Tanzania. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 5: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2022.10.003>

Rivas KB, Rivas MA, Dávila EL, Rodríguez M. 2002. Cefalosporinas. De la primera a la cuarta generación. *Revista de la Facultad de Medicina*. 25(2): 142-153
<http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S079804692002000200003&lng=es&nrm=iso>

Rodríguez EA, Jiménez Quinceno JN. 2023. Resistencia bacteriana a antibióticos en ambientes acuáticos: origen e implicaciones para la salud pública. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 41(3): e03 <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.e351453>

Rodríguez PA, Arenas R. 2018. Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*. Sección de Micología, Hospital General Manuel Gea González 16 (2), 166-167. <https://dcmq.com.mx/edici%C3%B3n-abril-junio-2018-volumen-16-n%C3%BAmero-2/640-hans-christian-gram-y-su-tinci%C3%B3n>

Rodríguez SC, Asmundis CL, Ayala MT, Arzú OR. 2018. Presencia de indicadores microbiológicos en agua para de consumo humano en San Cosme (Corrientes, Argentina). *Revista veterinaria*. 29(1): 9-12 <https://doi.org/10.30972/vet.2912779>

Ruiz Martínez L. *Pseudomonas aeruginosa*: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia los antibióticos. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. 2007

Sabathier LL. Estudio de resistencia a antibióticos del género *Pseudomonas* en muestras de agua del río Limay. Tramo de estudio: Senillosa –Plottier. Tesis de grado. Universidad Nacional del Comahue. Argentina. 2019

https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/RDIUNCO_2ab1bfe20fa6fc3f535020b2c1874979

Salamandane A, Vila-Boa F, Malfeito-Ferreira M, Brito L. 2021. High Fecal Contamination and High Levels of Antibiotic-Resistant Enterobacteriaceae in Water Consumed in the City of Maputo, Mozambique. *Biology*. 10(6):558. doi:10.3390/biology10060558. [accessed 2024 Feb 13]. <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/6/558>.

San Martín B, Bravo V, Borie C. 2005. Evaluación de la resistencia antimicrobiana en ganado bovino en Chile, utilizando *E. coli* como bacteria indicadora. *Archivos de medicina veterinaria*. 37(2): 117-123 <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2005000200005>

Sánchez E. J, Feris-Iglesias J, Fernández J, Pérez-Then E, Ramírez S, Ortega G, Jiménez LM. 2005. Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* productora de Beta-Lactamasa de Espectro Extendido (BLEE) en recién nacidos en el Hospital Infantil Dr. Robert Reid Cabral de Santo Domingo, República Dominicana. *Rev panam infectol.*:15–20. [accessed 2024 Jun 9]. <http://www.revistaapi.com/wp-content/uploads/2014/02/mat-022.pdf>.

Santana Ramos M, Rueda Furlan, JP, Lage Gallo IF, Rodríguez Santos LD, de Campos TA, Savazzi EA, Guedes Stehling E. 2020. High Level of Resistance to Antimicrobials and Heavy Metals in Multidrug-Resistant *Pseudomonas* spp. Isolated from Water Sources Current Microbiology. 77: 2694-2701 DOI:10.1007/s00284-020-02052-w

Santiago ML, Espinosa A, y Bermúdez M. 2009. Uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 40(3): 22-32 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57912963005>

Serra VMA. 2017. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de ciencias médicas*. 16(3): 402-419 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011&lng=es&tlng=es.

Shi P, Jia S, Zhang X-X, Zhang T, Cheng S, Li A. 2013. Metagenomic insights into chlorination effects on microbial antibiotic resistance in drinking water. *Water Research*. 47(1):111–120. doi:10.1016/j.watres.2012.09.046. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135412006896>.

Shrivastava R, Upreti RK, Jain Sr, Prasad KN, Seth PK, Chaturvedia UC. 2004. Suboptimal chlorine treatment of drinking water leads to selection. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 58(2) 277-283. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00107-6

Sierra Atanacio, E. G. 2016. Tipificación de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* por la técnica de “Multilocus Sequence Typing” [Instituto Politecnico Nacional]. <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/25051/SIERRA%20ATANACIO%20ERIKA%20GABRIELA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Slabbinck B, De Baets B, Dawyndt P, De Vos P. 2010. Análisis de *Pseudomonas* fitopatógenas usando métodos inteligentes de aprendizaje: Un enfoque general sobre taxonomía y análisis de ácidos grasos dentro del género *Pseudomonas*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 28(1): 1-16 http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0185-33092010000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Some S, Mondal R, Mitra D, Jain D, Verma D, Das S. 2021. Microbial pollution of water with special reference to coliform bacteria and their nexus with environment. *Energy Nexus*. 1. 100008 <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2021.100008>

Strande L, Brdjanovic D. 2014. *Faecal Sludge Management: Systems Approach for Implementation and Operation*. IWA Publishing. <http://dx.doi.org/10.13140/2.1.2078.5285>

Tafur JD, Torres JA, Villegas MV. 2008. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectar*. 12(3): 227-232 <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922008000300007&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0123-9392.

Tellez-Carrasquilla S, Rodríguez E A, Jiménez JN. 2023. Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistentes a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias. *Infectio*. 27(2): 78-85. <https://doi.org/10.22354/24223794.1126>

Treviño N, Molina NB. 2022. Antibióticos: mecanismos de acción y resistencia bacteriana. *Microbiología y parasitología*. 1-9 <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/136280>

Vaz-Moreira I, Nunes OC, Manaia CM. 2012. Diversity and antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. from drinking water. *Science of The Total Environment*. 426:366–374. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.03.046. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896971200407X>.

Velandia Castellanos JC. Validación del método analítico para la cuantificación de bacitracina en el laboratorio de Control de Calidad de una Industria Farmacéutica veterinaria. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. 2008. <http://hdl.handle.net/10554/8377>

Vicente D, Pérez-Trallero E. 2010. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 28(2): 122-130. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.10.002>

Vieira DC, Lima WG, & de Paiva MC. 2020. Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) among Enterobacteriales in Latin America: A systematic review. *Molecular Biology Reports*. 47(2): 1471-1483. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05220-9>

Villatoro E, Cardoza R., De Fuentes Z, Hernández C E. 2018. Identificación de bacterias resistentes a antibióticos carbapenémicos en hospitales de El Salvador. *Alerta, Revista científica del Instituto Nacional de Salud*, 1(2): 8-15 <https://doi.org/10.5377/alerta.v1i2.7135>

Villegas WA. 2022. Procedimiento de toma y transporte de muestras de agua de la gerencia de cumplimiento ambiental.

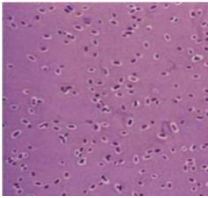



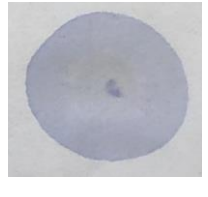





Xu L, Sun X, Ma X. 2017. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 16(1): 18 doi: 10.1186/s12941-017-0191-3.

Zhong D, Zhou Z, Ma W, Ma J, Feng W, Li J, Du X. 2022. Antibiotic enhances the spread of antibiotic resistance among chlorine-resistant bacteria in drinking water distribution system. *Environmental Research*. 211:113045. doi:10.1016/j.envres.2022.113045. [accessed 2024 Feb 14]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935122003723>

Zimmer B, Carpenter D, Esparza G, Alby K, Bhatnagar A, Ferrell A, Flemming L, Huband M, BS Jiménez-Pearson A, Kircher S, Weir S & Yee R. 2024. Clinical & Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, 12th Edition <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>

XII. Anexos

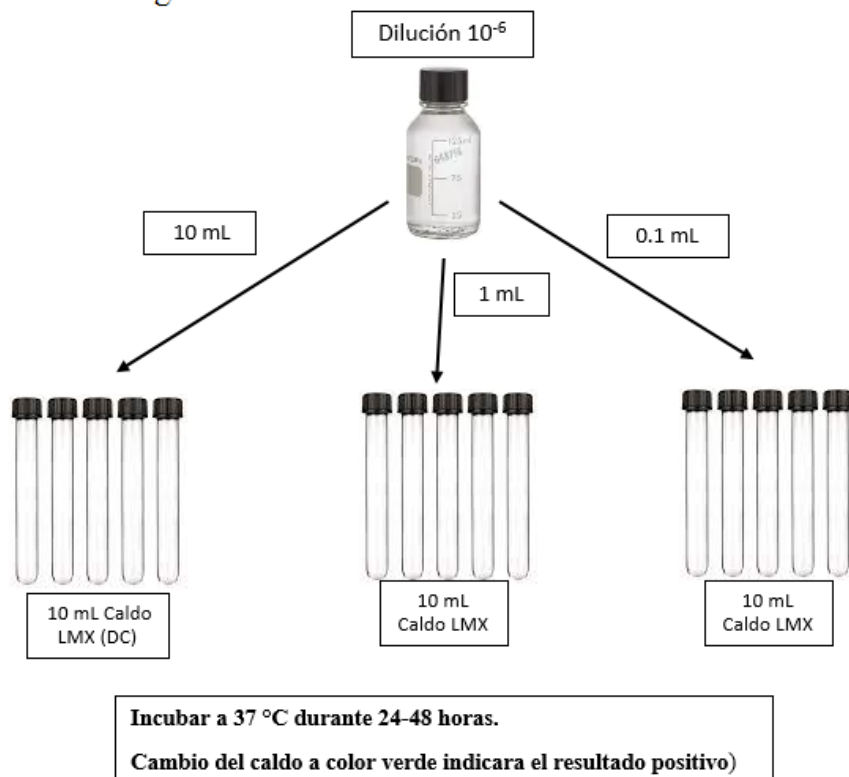
Anexo 1: Pruebas para la identificación de *Klebsiella spp.*

| Prueba | Resultado | Referencia | Prueba | Resultado | Referencia |
|--------------------------------------|---|---|--------------------|--|---|
| Tinción gram | Gram negativa (Sierra Atanacio, 2016) |  | Citrato | Positivo (Fernández Olmos <i>et al.</i> , 2010). |  |
| Fermentación en agar MacConkey | Colonias rosado-rojizas lechosas (Rivas, 2021) |  | Indol | Negativo (Bou <i>et al.</i> , 2011) |  |
| Oxidasa | Negativo (Rivas, 2021) |  | Voges Proskauer | Positivo (American Society for Microbiology, 2009) |  |
| Motilidad | Negativo (Shields & Cathcart 2011) |  | Rojo de metilo | Negativo (Fernández Olmos <i>et al.</i> , 2010). |  |
| Ureasa | Positivo (Delgado,2020) |  | TSI | Positivo (Fernández Olmos <i>et al.</i> , 2010). |  |

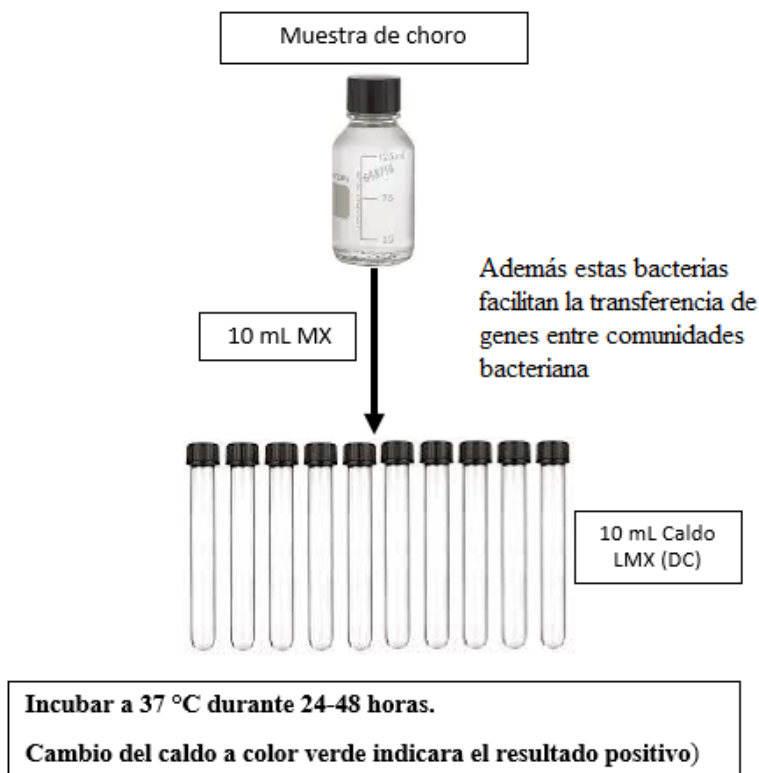
Anexo 2: Esquemas de marcha.

1=Prueba de coliformes totales para agua de río. 2=Prueba de coliformes totales para agua de red (chorro). 3=Prueba de coliformes fecales. 4=Prueba para *Escherichia coli*. 5=Prueba confirmatoria para *Escherichia coli* 6=Aislamiento de *Klebsiella spp.* 7=Aislamiento de *Pseudomonas spp.* 8=Antibiograma

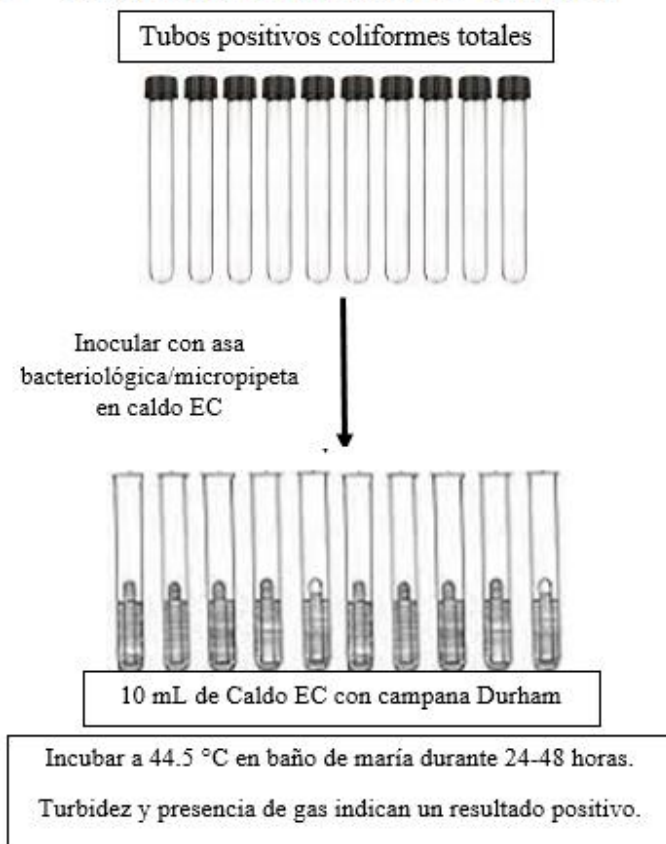
1 Agua de río: Prueba de coliformes totales



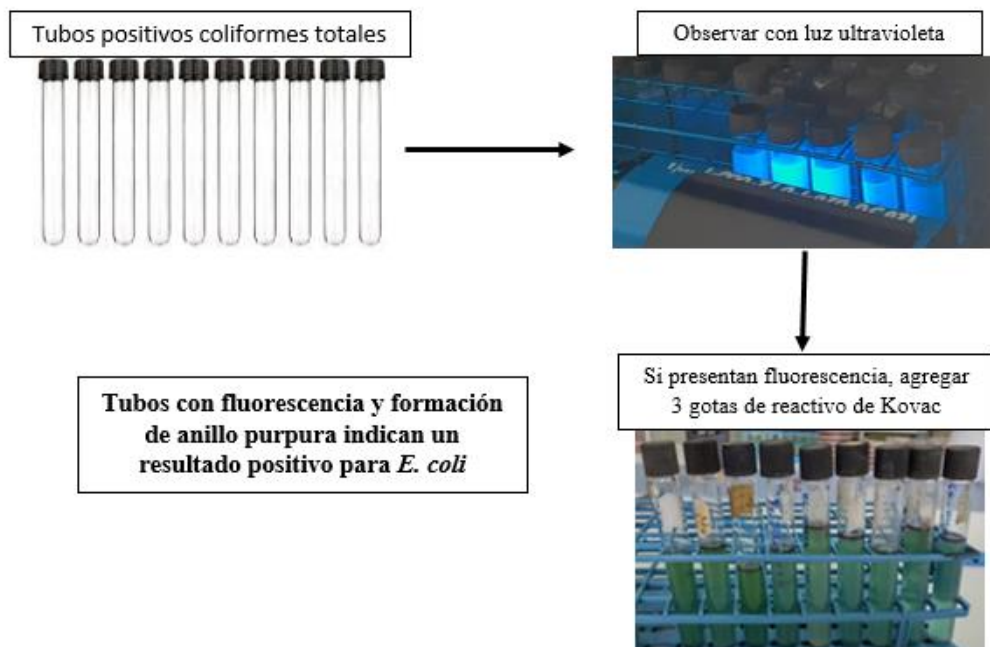
2 Agua de red: Prueba de coliformes totales



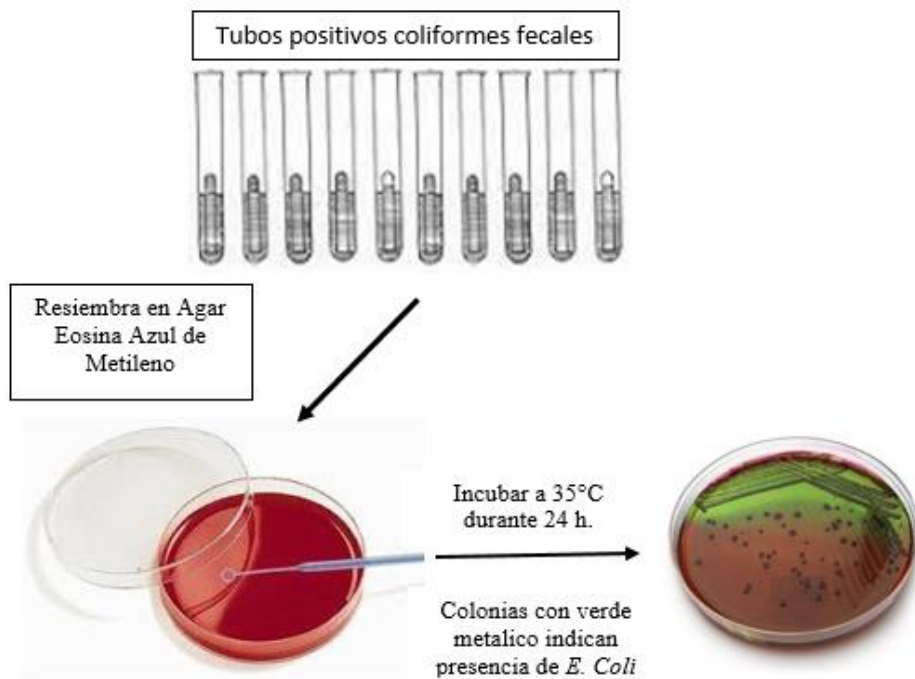
3 Prueba de coliformes fecales



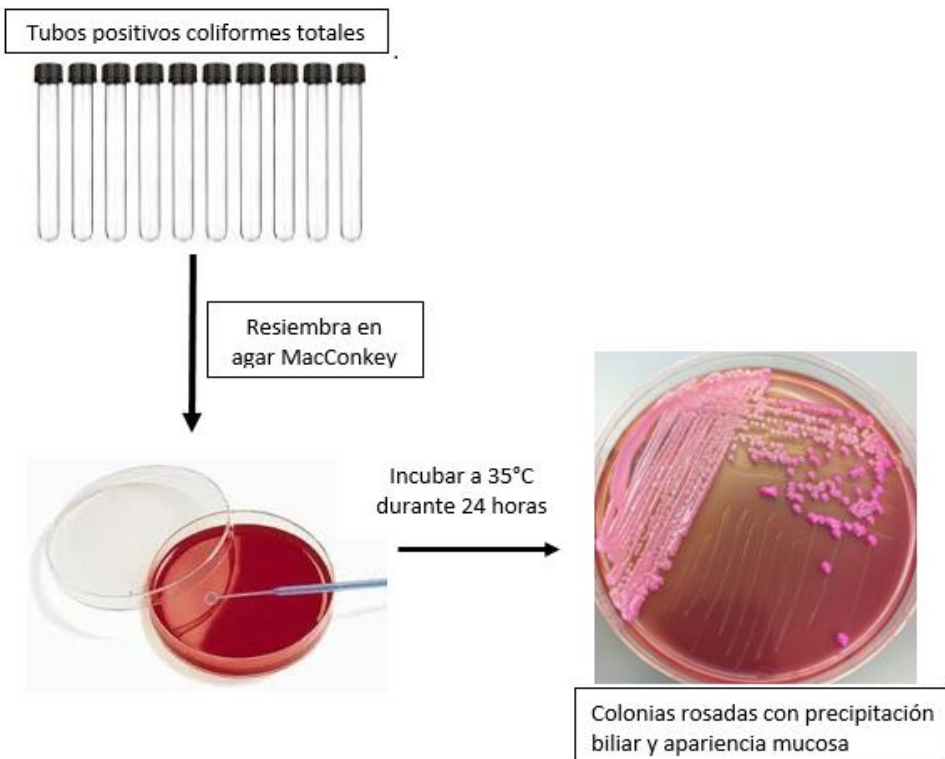
4 Prueba de *Escherichia coli*



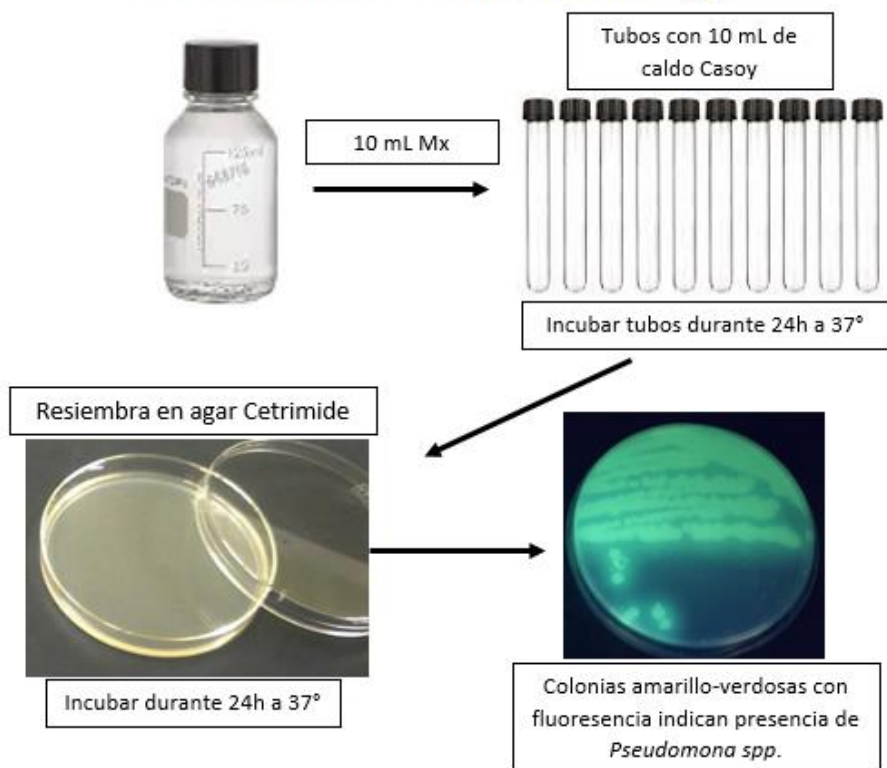
5 Prueba confirmatoria de *Escherichia coli*



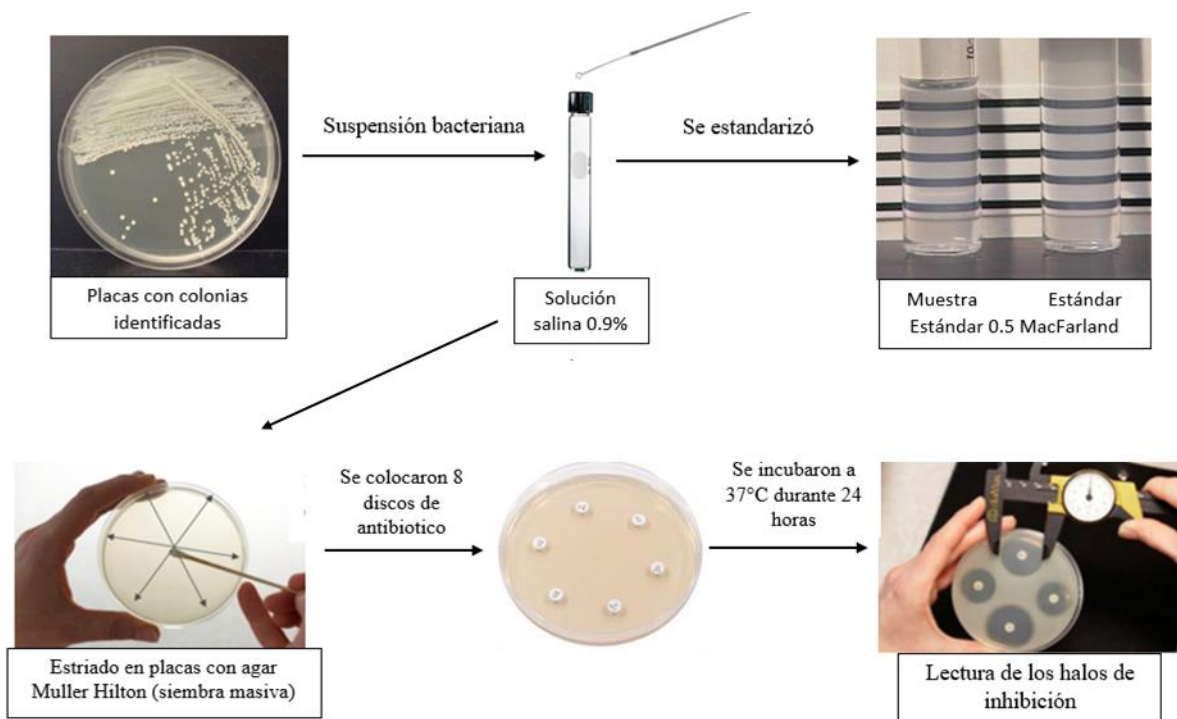
6 Aislamiento de *Klebsiella* spp



7 Aislamiento de *Pseudomonas* spp



8



Anexo 3: Valores registrados de pH y temperatura al momento de la toma de muestra en el agua de río.

| Parámetros de agua de río | | | | | | |
|---------------------------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| Muestra | Muestreo 1 | | Muestreo 2 | | Muestreo 3 | |
| | pH | T° | pH | T° | pH | T° |
| R1 | 6 | 30.2 °C | 7 | 30.2 °C | 7 | 30.4 °C |
| R2 | 7 | 30.0 °C | 7 | 29.9 °C | 7 | 30.1 °C |
| R3 | 7 | 30.2 °C | 7 | 30.1 °C | 7 | 29.7 °C |
| R4 | 7 | 30.2 °C | 7 | 30.3 °C | 7 | 29.6 °C |
| R5 | 7 | 30.3 °C | 7 | 29.9 °C | 7 | 28.9 °C |
| R6 | 7 | 30.6 °C | 7 | 30.0 °C | 7 | 29.8 °C |
| R7 | 7 | 30.7 °C | 7 | 28.9 °C | 7 | 29.5 °C |
| R8 | 8 | 30.6 °C | 7 | 29.9 °C | 7 | 29.4 °C |

Anexo 4: Valores registrados de pH, temperatura y cloro residual al momento de la toma de muestra en el agua de la red de la Colonia Prados

| Parámetros de agua de red (chorro) | | | | | | | | | |
|------------------------------------|------------|----------------|---------|------------|----------------|---------|------------|----------------|---------|
| Muestra | Muestreo 1 | | | Muestreo 2 | | | Muestreo 3 | | |
| | pH | Cloro residual | T° | pH | Cloro residual | T° | pH | Cloro residual | T° |
| C1 | 7.6 | 0.4 | 40.1 °C | 7.8 | <0.2 | 38.8 °C | 7.8 | <0.2 | 41.3 °C |
| C2 | 7.8 | <0.2 | 34.0 °C | 7.8 | 0.2 | 40.1 °C | 7.6 | <0.2 | 39.8 °C |
| C3 | 7.8 | <0.2 | 36.0 °C | 7.8 | 0.4 | 41.5 °C | 7.8 | <0.2 | 40.4 °C |
| C4 | 7.6 | <0.2 | 38.2 °C | 7.8 | 0.4 | 40.5 °C | 7.8 | <0.2 | 42.3 °C |
| C5 | 7.6 | <0.2 | 39.3 °C | 7.8 | <0.2 | 35.8 °C | 7.8 | <0.2 | 41.7 °C |
| C6 | 7.8 | <0.2 | 36.8 °C | 7.8 | 0.4 | 38.9 °C | 7.8 | <0.2 | 41.1 °C |
| C7 | 8.2 | >3.0 | 38.1 °C | 7.8 | <0.2 | 35.5 °C | 7.8 | <0.2 | 39.6 °C |
| C8 | 7.6 | <0.2 | 35.1 °C | 7.8 | 1 | 41.0 °C | 7.8 | <0.2 | 41.6 °C |

Rangos de concentración de cloro residual permitidos:
0.3mg/mL (acometida más alejada del punto de cloración).
1.1mg/mL (acometida más cercana del punto de cloración).

Anexo 5: Diámetro (en milímetros) de los halos de inhibición de los antibiogramas de *Klebsiella* spp.

| Antibiograma <i>Klebsiella</i> spp. | | | | | | | | | |
|--|----------------|------------------------------|------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Muestreo | Muestra | Doxiciclina (DXT) | Tetraciclina (TE) | Amoxicilina/ Clavulánico (AC) | Fosfomicina (FO) | Penicilina G (P) | Amikacina (AK) | Cefalotina (KF) | Gentamicina (CN) |
| Muestreo 1 | R2 | 21 | 25 | 8 | 19 | 6 | 24 | 21 | 23 |
| | C8 | 19 | 29 | 6 | 19 | 6 | 19 | 6 | 23 |
| Muestreo 2 | R2 | 19 | 24 | 6 | 19 | 6 | 22 | 18 | 22 |
| | R3 | 21 | 26 | 6 | 17 | 6 | 20 | 18 | 20 |
| | R5 | 20 | 22 | 6 | 20 | 6 | 25 | 18 | 19 |
| | R7 | 19 | 22 | 7 | 21 | 20 | 19 | 21 | 19 |
| | R7 | 19 | 22 | 8 | 15 | 6 | 21 | 20 | 20 |
| | C4 | 20 | 24 | 6 | 17 | 6 | 22 | 20 | 23 |
| | C7 | 31 | 33 | 17 | 17 | 20 | 31 | 30 | 30 |
| Muestreo 3 | R4 | 26 | 30 | 7 | 21 | 6 | 24 | 23 | 24 |
| | R6 | 22 | 22 | 21 | 16 | 7 | 22 | 20 | 20 |

*** Valores resaltados indican resistencia.**

Anexo 6: Diámetro (en milímetros) de los halos de inhibición de los antibiogramas realizados a*Pseudomonas* spp.***Valores resaltados indican resistencia.**

| Antibiograma <i>Pseudomonas</i> spp. | | | | | | | | | |
|---|----------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------|
| Muestreo | Muestra | Amikacina (AK) | Tetraciclina (TE) | Imipenem (IMI) | Ciprofloxacina (CIP) | Cefepime (FEP) | Amoxicilina/ Clavulánico (AC) | Gentamicina (CN) | Fosfomicina (FO) |
| Muestreo 1 | R1 | 25 | 16 | 23 | 38 | 28 | 6 | 25 | 18 |
| | R3 | 23 | 15 | 27 | 37 | 26 | 6 | 24 | 12 |
| | C2 | 25 | 12 | 12 | 34 | 28 | 6 | 14 | 8 |
| | C3 | 25 | 15 | 23 | 36 | 27 | 6 | 25 | 12 |
| | R5 | 21 | 16 | 21 | 34 | 25 | 6 | 29 | 17 |
| | R7 | 21 | 14 | 24 | 25 | 24 | 6 | 22 | 7 |
| | C6 | 22 | 6 | 24 | 25 | 35 | 6 | 15 | 17 |
| Muestreo 2 | C1 | 21 | 18 | 19 | 38 | 25 | 6 | 24 | 10 |
| | C2 | 21 | 15 | 23 | 21 | 15 | 6 | 22 | 6 |
| | C3 | 24 | 16 | 18 | 36 | 25 | 6 | 26 | 11 |
| | C6 | 6 | 14 | 18 | 37 | 25 | 6 | 24 | 6 |
| | C7 | 23 | 15 | 17 | 36 | 28 | 6 | 24 | 11 |
| Muestreo 3 | R1 | 20 | 7 | 15 | 22 | 18 | 6 | 18 | 20 |
| | R2 | 17 | 15 | 22 | 20 | 35 | 6 | 25 | 19 |
| | R3 | 23 | 9 | 7 | 21 | 25 | 6 | 6 | 13 |
| | R4 | 16 | 6 | 19 | 6 | 25 | 6 | 20 | 21 |

Glosario

- **Aguas lóaticas:** cuerpos de agua en el que el agua está en continuo movimiento
- **Antibiograma:** Procedimiento de laboratorio que permite determinar la sensibilidad de un microorganismo ante diferentes antibióticos
- **Eutrofización:** aporte en exceso de nutrientes inorgánicos (procedentes de actividades humanas) principalmente Nitrógeno (N) y Fósforo (P), en un ecosistema acuático, produciendo una proliferación descontrolada de algas fitoplanctónicas y provocando efectos adversos en las masas de agua afectadas
- **Integrones:** plataformas genéticas que permiten a las bacterias captar y coleccionar genes de resistencia a los antibióticos
- **Multidrogorresistente:** la ausencia de sensibilidad al menos a un antibiótico de tres o más familias consideradas de utilidad para el tratamiento de las infecciones producidas por cada una de las especies bacterianas consideradas
- **Resistencia:** significa que el microorganismo es resistente a los niveles séricos del fármaco que se alcanzan normalmente
- **Resistencia intermedia:** significa que el crecimiento del microorganismo está inhibido solamente a la dosis máxima recomendada
- **Sensibilidad:** significa que el crecimiento del microorganismo está inhibido a la concentración sérica del fármaco que se alcanza utilizando la dosis habitual
- **Plásmidos:** molécula pequeña de ADN circular
- **Transposones:** secuencia de ADN que puede moverse a diferentes partes del genoma de una célula)