



REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, UJED

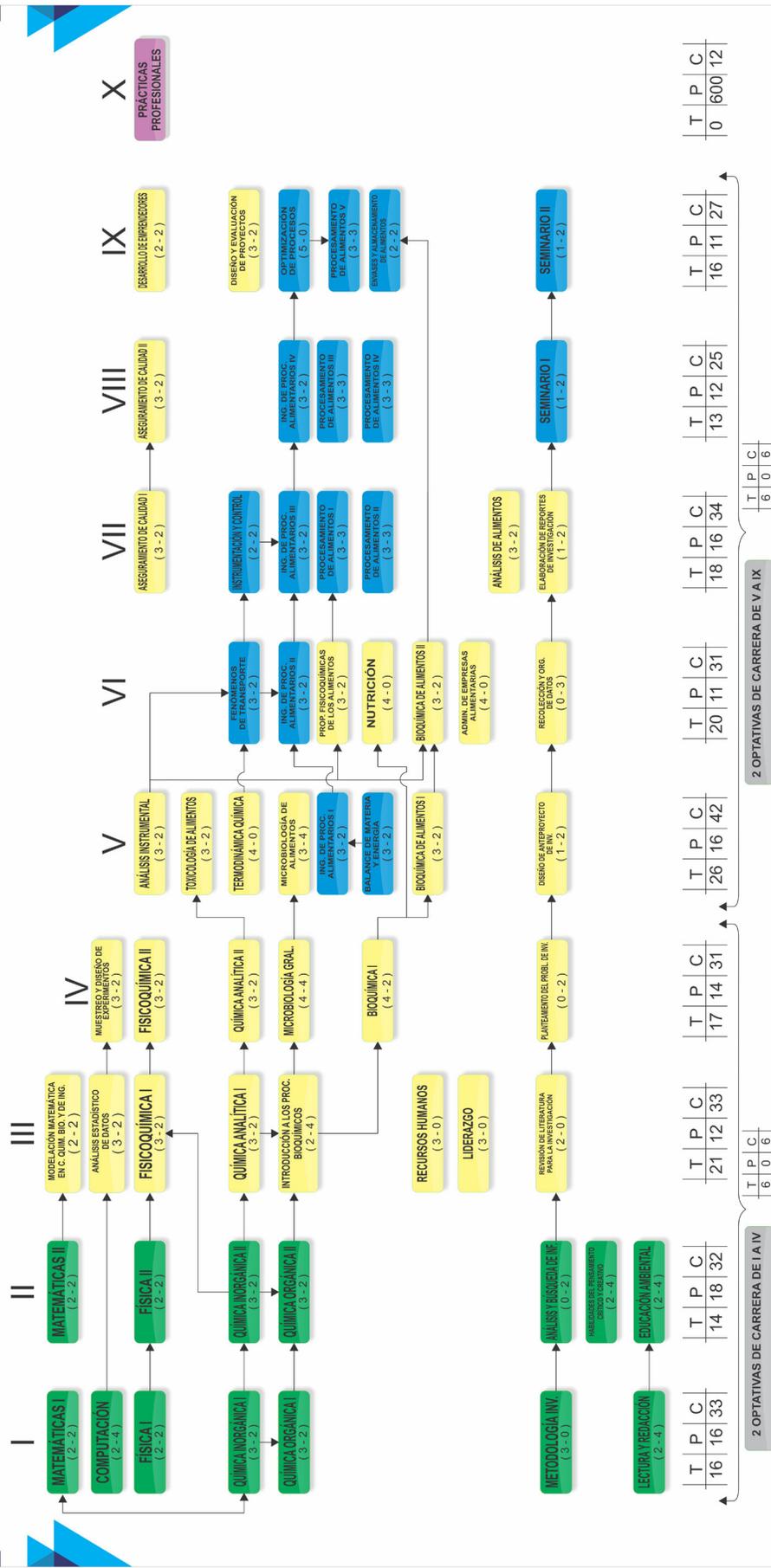


Número Especial
Noviembre 2019
ISSN: 2594-1445



INGENIERÍA QUÍMICA EN ALIMENTOS

MAPA CURRICULAR



FORMACIÓN INTEGRAL

ACTIVIDADES DE VINCULACIÓN

- ÁREA BÁSICA (Green)
- FORMACIÓN INTELLECTUAL (Yellow)
- ÁREA DISCIPLINAR (Blue)
- EJERCICIO PROFESIONAL (Grey)
- OPTATIVAS (Purple)
- EJE TRANSVERSAL (Pink)

8 CREDITOS (Yellow) **10 CREDITOS** (Pink) **2 OPTATIVAS DE CARRERA DE V A IX** (Purple)

ARTE CULTURA Y DEPORTE PRACTICAS PROF. 12 CREDITOS EXP. RECP. 4 CREDITOS

REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

CINTILLO LEGAL

Revista Mexicana de Industria y Salud, año 6 No. 10 (Mayo-Octubre), es una publicación semestral editada por la Universidad Juárez del Estado de Durango a través de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio ubicada en Av. Artículo 123 S/N Colonia Filadelfia Gómez Palacio, Durango. C.P. 35010. Tel (871) 715 8810 ext. 118, fcqgp.ujed.mx/remdis, editorremdis@gmail.com, simposiumfcqujed@gmail.com.

Editor responsable: M. C. Mónica Andrea Valdez Solana. Reserva de derechos al uso exclusivo (en trámite), ISSN 2594-1445, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número: Lic. Luis Antonio Montoya Jáquez, Departamento de informática de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio ubicado en Av. Artículo 123 S/N Col. Filadelfia Gómez Palacio, Durango. C.P. 35010, fecha de última actualización 31 de octubre de 2019.

Consejo Editorial

Juan Pablo Pardo Vázquez
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Oscar Flores Herrera
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Erick Sierra Campos
Biotecnología médica; Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, UJED

Alfredo Téllez Valencia
Medicina molecular; Facultad de Medicina, Durango, UJED

Claudia Avitia Domínguez
Medicina molecular; Facultad de Medicina, Durango, UJED

Jaime Héctor Gómez Zamudio
Farmacéutica; Centro Médico Nacional, Siglo XXI

Carlos Regalado González
Biotecnología de Alimentos; Universidad Autónoma de Querétaro

Francisco Ruiz Terán
Biotecnología de Alimentos; Facultad de Químicas, UNAM

Jorge Alberto González Merchand
Microbiología; Dpto. Microbiología Molecular, ENCB IPN

Director editorial
Mónica Andrea Valdez Solana

Asistencia editorial
Francisco Carlos López Márquez
Juan José Martínez García

Diseño
Luis Antonio Montoya Jáquez



DIRECTORIO INSTITUCIONAL

M.A. Rubén Solís Ríos
Rector

M.C. Julio Gerardo Lozoya Vélez
Secretario General

Dr. Jesús Espinosa Flores
Contralor General

Dr. José Othón Huerta Herrera
Subsecretario General Académico

Dr. Juan José Martínez García
Director de la Facultad de Ciencias Químicas GP

Lic. Daisy Virginia Rivas Govea
Secretaria Administrativa

M.C. Verónica Yazmín Mejía García
Secretaria Académica

Dra. Concepción García Luján
**Jefa de la División de Estudios de Posgrado e
Investigación**

Dr. José de Jesús Alba Romero
Coordinador de Investigación

Dr. José Rafael Minjares Fuentes
Coordinador Académico

CONTENIDO

EDITORIAL	vi
VI CONGRESO ESTATAL DE QUIMICOS CLINICOS Y III CONGRESO DE LA CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO 2019	
QUÍMICA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA	8
- Evaluación del efecto bactericida del extracto etanólico <i>Taraxacum officinale</i> en microorganismos formadores de biopelícula por el método de alamar-azul. Borrego Jesús Ramírez, Alba Romero José de Jesús.	
- Evaluación del efecto bactericida de <i>Larrea tridentata</i> en microorganismos formadores de biopelícula <i>Aeromonas hydrophila</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> por el método de Alamar Azul Medellín Cardiel A. Estefanía; Silva Moctezuma I. Lizeth; Alba Romero J. Jesús.	
- Evaluación del efecto bactericida del extracto de la <i>Olea europaea</i> en bacterias nosocomiales por el método de alamar Azul Chávez García A. Alberto; Hernández Neri J. Sebastián; Alba Romero J. Jesús.	
CIENCIAS BIOMÉDICAS	26
- Detección de los genes de las enterotoxinas citotónicas del género <i>Aeromonas</i> en muestras de ostiones distribuidas en la Ciudad de México. González-Avila Luis Uriel, Torres-Santiago Melissa, Ibáñez-Hernández Miguel Ángel Antonio, Hernández-Cortez Cecilia, Colmenero Solís Raúl de Jesús, Castro-Escarpulli Graciela.	
- Determinación de metahemoglobina en individuos con exposición crónica a nitratos. García Torres Edgar, Pérez Morales Rebeca, González Zamora Alberto, Ríos Sánchez Efraín, Alba Romero José de Jesús, Calleros Rincón Esperanza Yasmín	
MICROBIOLOGÍA	37
- Factores putativos de virulencia de cepas de <i>Aeromonas</i> aisladas en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. Pelcastre-Rodríguez Leda Ivonne; Colmenero-Solís Raúl de Jesús; González-Ávila Luis Uriel; Hernández-Sánchez Eva Aurora; Castro-Escarpulli Graciela.	
- Biogrupos y complejos de cepas de <i>Aeromonas</i> aisladas de carne de pollo en la Ciudad de México. Medina-De La Cruz Roger Orlando, González-Ávila Luis Uriel, Colmenero-Solis Raúl De Jesús, Hernández-Cortez Cecilia, Castro-Escarpulli Graciela.	
CARTELES	56

EDITORIAL

VI CONGRESO ESTATAL DE QUIMICOS CLINICOS Y III CONGRESO DE LA CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO 2019.





Facultad de Ciencias Químicas

Gómez Palacio

MISIÓN

Formar personas competentes en el área de Ciencias Químicas, con sentido humano, científico y social que propicien el bienestar regional, estatal y nacional.

VISIÓN

Ser una Facultad adaptable a las circunstancias nacionales y globales ofreciendo programas educativos de calidad, con personal docente y administrativo competente a través de la actualización dinámica en un ambiente armónico.

VALORES

Compromiso

Dignidad

Gratitud

Honestidad

Democracia

Libertad

Respeto

Sensibilidad

Justicia

Prudencia

Servicio

Humildad

Igualdad

Tolerancia



QUÍMICA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA

(Biotecnología, Toxicología, Farmacéutica, Clínica)



*“La tinta más pobre de color vale más que la mejor memoria”
Proverbio chino.*

Evaluación del efecto bactericida del extracto etanólico *Taraxacum officinale* en microorganismos formadores de biopelícula por el método de alamar-azul

¹ Borrego Jesús Ramírez, ^{1,2*} Alba Romero José de Jesús

¹Facultad de Ciencia Químicas, Unidad Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango.

²Instituto de Enfermedades Infecciosas. Av. Juárez 101 Zona Centro. Gómez Palacio, Dgo.

*Email: jalbar_1@hotmail.com

Resumen

Las infecciones nosocomiales están consideradas como un problema de salud pública a nivel mundial. *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas hydrophila* son consideradas como algunas de las principales bacterias causantes de estas infecciones. Debido a la alta resistencia de estas bacterias a múltiples antibióticos se ha tratado de buscar alternativas naturales. *Taraxacum officinale* es una planta herbácea perenne de la familia *Asteraceae*, que ha demostrado tener una amplia variedad de actividad antimicrobiana frente a patógenos Gram negativos y Gram positivos. El ensayo de Alamar Azul es un método que ofrece la posibilidad de detectar grandes cantidades de compuestos antimicrobianos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto bactericida del extracto etanólico de *Taraxacum officinale* en microorganismos formadores de biopelícula por el método de Alamar azul. Se recolectó el material vegetal y se dejó secar durante 3 semanas a la sombra, posteriormente se trituraron y tamizaron hojas y tallos a tamaño de partícula #30, se realizó el extracto con volúmenes de etanol de 96° y finalmente se inoculó una placa costar de 96 pocillos con caldo LB, las suspensiones bacterianas de las cepas correspondientes y las diluciones del extracto iniciando con 50 mg/mL en series descendentes terminando con 1.56 mg/mL. A 50 mg/mL el extracto de hojas inhibió el crecimiento de *Aeromonas hydrophila* y a 50 mg/mL concentración el extracto de tallo inhibió el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*. En base a esto se puede concluir que ambos extractos difieren en su concentración y tipo de principios activos.

Palabras clave: *Taraxacum officinale*, Alamar azul, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, actividad antimicrobiana.

Abstract

Nosocomial infections are considered a global public health problem. *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* were considered to be some of the main bacteria causing these infections. Due to high resistance of these bacteria to multiple antibiotics has been tried to look for natural alternatives. *Taraxacum officinale* is a perennial herbaceous plant in the *Asteraceae* family, which has been shown to have a wide variety of antimicrobial activity against both Gram-negative and Gram-positive pathogens. The Alamar Blue assay is a method that offers the possibility of detecting large amounts of antimicrobial compounds. The aim of this study was to evaluate the bactericidal effect of *Taraxacum officinale* ethanol extract in biofilm-forming microorganisms by the Alamar Blue method. Plant material was collected and left to dry for 3 weeks in the shade, subsequently, #30 particle-sized leaves and stems were crushed and sifted, the extract was made with 96-degree volumes of ethanol and finally a 96-well costing plate with LB broth was inoculated, the bacterial suspensions of the corresponding strains and the dilutions of the extract and finally a 96-well plate with LB broth was inoculated, the bacterial suspensions of the corresponding strains and the dilutions of the extract starting with 50 mg/ml in descending series ending with 1.56 mg/mL. At 50 mg/mL leaf extract inhibited the growth of *Aeromonas hydrophila* and at 50 mg/mL concentration the stem extract inhibited the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. Based on this it can be concluded that both extracts differ in their concentration and type of active substances.

Keywords: *Taraxacum officinale*, Alamar Blue, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, antimicrobial activity.

Introducción

Las infecciones nosocomiales son infecciones adquiridas en hospitales u otros centros de salud; estas prolongan significativamente la duración de la estancia de los pacientes aumentando la morbilidad y la mortalidad. Muchas de estas infecciones son atribuidas a patógenos resistentes a los antimicrobianos. Algunos de los patógenos a los que se les atribuye este tipo de infecciones son: *Candida spp*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp* y *Aeromonas spp* (Mihaly, V., et al., 2016).

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo no fermentador con una gran resistencia intrínseca a múltiples antibióticos. Es uno de los patógenos más comunes en neumonía nosocomial, fibrosis quística (FQ), meningitis, abscesos, infecciones de tejidos blandos, infecciones del tracto urinario, infecciones asociadas con catéter, infecciones de la córnea y eritema conjuntival. Además de las infecciones agudas. *P. aeruginosa* también causa infecciones pulmonares crónicas debilitantes en pacientes inmunocomprometidos, pacientes con fibrosis quística e individuos que reciben quimioterapia (Chatterjee, M., et al., 2016; Lamas Ferreira, J.L., 2017).

Aeromonas hydrophila es un bacilo Gramnegativo anaerobio facultativo normalmente habitan en el medio ambiente acuático. Causa una variedad de enfermedades en diferentes especies de animales, desde animales acuáticos hasta terrestres, incluidos los humanos. En los seres humanos, la manifestación clínica de la infección por *A. hydrophila* abarca desde gastroenteritis hasta infecciones extraintestinales que incluyen infecciones de tejidos blandos, meningitis y septicemia (Ji, Y., et al., 2015; Stratev, D. and O.A. Odeyemi, 2016).

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en uno de los principales problemas sanitarios en todo el mundo y se disemina rápidamente entre los pacientes en los centros de salud, planteando desafíos únicos para los microbiólogos y los especialistas en enfermedades infecciosas con respecto a la prevención y el tratamiento eficaces de varias infecciones (Ponce-de-Leon, A., et al., 2018; Tyc, O., et al., 2016).

Taraxacum officinale es una planta herbácea perenne de la familia *Asteraceae*, conocida comúnmente como "diente de león". La planta crece en las regiones templadas del mundo. Esta planta ha demostrado tener una amplia variedad de actividad antimicrobiana frente a patógenos tanto Gramnegativos como

Grampositivos (Rodríguez Pava, 2016).

El ensayo de Alamar Azul (MABA) es un método sensible, rápido, económico, que evalúa la función metabólica y la salud celular y ofrece la posibilidad de detectar grandes cantidades de compuestos antimicrobianos. El tinte Alamar Azul es un indicador de óxido-reducción, no es tóxico para las células, incluso durante largos tiempos de incubación. En presencia de la viabilidad bacteriana, su color cambia de azul oscuro a rosa brillante como respuesta a la reducción química del medio de crecimiento (Tyc, O., et al., 2016; Süleymanoğlu, et al., 2017).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto bactericida del extracto etanólico de *Taraxacum officinale* en microorganismos formadores de biopelícula por el método de Alamar Azul.

MATERIAL Y MÉTODOS

Extracción y Obtención.

Se obtuvo la especie vegetal *Taraxacum officinale* de la localidad de La Goma, Durango ubicado a 21 km de Gómez Palacio, Durango. Las hojas se dejaron secar a temperatura ambiente evitando su exposición a la luz solar, hasta que hayan perdido la mayor humedad posible (aproximadamente 3 semanas). Se procedió a disminuir el tamaño de partícula del #30. Se pesó el material vegetal en polvo y se suspendió a un volumen de etanol del 96% hasta que alcanzó a cubrir el material en su totalidad. Se colocaron en un frasco ámbar cubierto con aluminio para evitar la oxidación de los compuestos fotosensibles. El lavado del solvente se llevó a cabo por filtración al vacío, este paso se realizó 3 veces cada tres días y se volvió a suspender según el volumen requerido del solvente.

Concentración del extracto y solución madre.

Una vez recolectado el extracto de los tres lavados se procedió a eliminar el solvente por medio de un rotavaporador para concentrar el extracto. Ya evaporado el solvente se procedió a recolectar el concentrado, una vez recolectado se pesaron 100 mg de este y se resuspendieron en 1 ml de solución 1:1 de hidróxido de sodio y diclorometano en un tubo de microcentrifuga Eppendorf con la ayuda de un vórtex por acción mecánica.

Estandarización de las cepas y suspensión bacteriana

En condiciones estériles, en un tubo de ensayo de 8x150 se colocaron 10 ml de agua destilada y se procedió

Tabla 1 Actividad antimicrobiana mostrada por los extractos etanólicos de hojas y tallos de *T. officinale* por el método de Alamar Azul

Planta y parte utilizada	Concentración de extracto	<i>A. hydrophila</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>T. officinale</i> hojas	50 mg/mL	-	+
	25 mg/mL	+	+
	12.5 mg/mL	+	+
	6.25 mg/mL	+	+
	3.12 mg/mL	+	+
	1.56 mg/mL	+	+
<i>T. officinale</i> tallos	50 mg/mL	+	-
	25 mg/mL	+	+
	12.5 mg/mL	+	+
	6.25 mg/mL	+	+
	3.12 mg/mL	+	+
	1.56 mg/mL	+	+

+, crecimiento bacteriano, -, inhibición

a suspender una muestra de colonia bacteriana, seguidamente, se tomó lectura de la suspensión en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm con el propósito de obtener una lectura en un rango de 0.080-0.100 nm que corresponde a $CLS1 = 1.5 \times 10^8$ UFC (de ser necesario se ajusta la suspensión con agua destilada).

Ensayos de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Alamar Azul

En una placa costar de 96 pocillos se numeraron los mismos teniendo en cuenta la disposición horizontal tomando columnas de 6 pocillos. Se colocaron 100 μ L de caldo TSA en cada uno de los pocillos, seguidamente, se adicionaron 100 μ L de la solución madre de *Taraxacum officinale* a una concentración de 50 mg/mL. Se extrajeron 100 μ L del pozo 1 al pozo 2 y así sucesivamente hasta el pozo 6 y se eliminaron los 100 μ L excedentes del pozo 6. Se agregaron 100 μ L de cada inóculo del pozo 1 al 6, lo que permitió obtener una concentración final de 50 mg/mL. Se incubaron durante toda la noche a 36.5°C. Posteriormente se agregaron a cada pozo 20 μ L de reactivo Alamar Azul (reactivo oxido-reducción) para evidenciar los cultivos con bacterias vivas (color rojo) y con bacterias muertas (color azul).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos de hojas y tallos de *Taraxacum officinale* presentaron actividad antimicrobiana, sin embargo, solo el extracto de tallos presentó actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* a una concentración de 50 mg/mL, esto tiene relación con ensayos realizados con anterioridad con extractos metanólicos y etanólicos

(Rodriguez, C.N., 2017; Azuero, A., et al 2016), ya que, en estos se produjo una inhibición moderada contra *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo, estos se realizaron por el método de difusión de agar.

En el caso del extracto de hojas, este presentó actividad solamente con *Aeromonas hydrophila* a 50 mg/mL, a pesar de que no existen estudios recientes acerca de estudios *in vitro* asociados con el extracto de esta planta aplicados a *Aeromonas hydrophila*, se comprobó que la actividad antimicrobiana del extracto tiene actividad contra bacterias Gramnegativas.

CONCLUSIÓN

En conclusión, los extractos de tallos y hojas de *Taraxacum officinale* poseen actividad antimicrobiana, sin embargo, ambos presentaron una actividad antimicrobiana limitada, por lo que se requiere aumentar su concentración. La diferencia en la inhibición es un factor importante para tomar en cuenta, ya que, se puede especular que la concentración y tipo de principios activos difiere en ambas partes.

REFERENCIAS

- Mihaly, V., et al., *The Incidence and Risk Factors of Nosocomial Infections in ICU*. Acta Medica Marisiensis, 2016. **62**(3): p. 304-308.
- Chatterjee, M., et al., *Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa and alternative therapeutic options*. Int J Med Microbiol, 2016. **306**(1): p. 48-58.

- Lamas Ferreiro, J.L., et al., *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections in hospitalized patients: Mortality and prognostic factors. *PLoS One*, 2017. **12**(5): p. e0178178.
- Ji, Y., et al., Contribution of nuclease to the pathogenesis of *Aeromonas hydrophila*. *Virulence*, 2015. **6**(5): p. 515-522.
- Stratev, D. and O.A. Odeyemi, Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *J Infect Public Health*, 2016. **9**(5): p. 535-44.
- Ponce-de-Leon, A., et al., Antimicrobial susceptibility of gram-negative bacilli isolated from intra-abdominal and urinary-tract infections in Mexico from 2009 to 2015: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *PLoS One*, 2018. **13**(6): p. e0198621.
- Tyc, O., et al., Validation of the AlamarBlue(R) Assay as a Fast Screening Method to Determine the Antimicrobial Activity of Botanical Extracts. *PLoS One*, 2016. **11**(12): p. e0169090.
- Rodríguez Pava, C.N., A.G. Zarate Sanabria, and L.C. Sánchez Leal, Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. 2016. **15**(27): p. 119-129.
- Süleymanoğlu, N., et al., Theoretical and antimicrobial activity study for ethyl{4-[3-(1Himidazole-1-yl)propyl]-3-methyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-1-yl}acetate. *Spectroscopy Letters*, 2017. **50**(2): p. 96-101.
- Rodríguez, C.N., A.G. Zarate, and L.C. Sánchez, Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. 2017. **15**(27): p. 10.
- Azuero, A., et al., Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *Ciencia UNEMI*, 2016. **9**: p. 8.

Evaluación del efecto bactericida de *Larrea tridentata* en microorganismos formadores de biopelícula *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas aeruginosa* por el método de Alamar Azul

¹Medellín Cardiel A. Estefanía; ¹Silva Moctezuma I. Lizeth; ^{1,2*}Alba Romero J. Jesús

¹Facultad de Ciencias Químicas, Unidad Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango

²Instituto de enfermedades Infecciosas. Av. Juárez 101 Zona Centro. Gómez Palacio, Dgo.

*Email: jalbar_1@hotmail.com

RESUMEN

Las infecciones asociadas a la atención a la salud (IAAS) son uno de los problemas de salud más importantes del mundo, más del 30% son causadas por bacilos Gram negativos. *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas hydrophila* son en la actualidad uno de los microorganismos de mayor impacto en las infecciones por la gran capacidad de estas bacterias para colonizar nuevos ambientes está relacionada con la formación de biopelículas. *Larrea tridentata* conocida como “gobernadora” contiene diversos metabolitos que presentan actividad biocida; se ha documentado que más de 45 bacterias que atacan a los humanos son susceptibles a su resina o sus componentes. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto bactericida de *Larrea tridentata* en microorganismos formadores de biopelícula: *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas aeruginosa* por el método de Alamar Azul. Se obtuvieron muestras de hojas y tallos de *Larrea tridentata*, para obtener el extracto etanólico y hacer diluciones sucesivas en una placa costar de baja evaporación de 96 pocillos del extracto comenzando con una concentración de 50 mg/mL siendo la última 1.5625. Se depositó inóculo al 0.5 de Nefelómetro de MacFarland de cada una de las cepas incubando durante la noche, posteriormente se agregaron a cada pozo 20 µL de reactivo de Alamar Azul para evidenciar la actividad bactericida de extracto. Obteniendo como resultados la CMI de ambos extractos, presentando inhibición total de *P. aeruginosa* y resistencia de *A. hydrophila* a 3.125 y 1.5625 mg/mL del extracto de *Larrea tridentata*. Concluyendo que *Larrea tridentata* en tallos y hojas tiene un efecto inhibitorio y antimicrobiano ante *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas hydrophila*.

Palabras clave: *Larrea tridentata*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, inhibición.

ABSTRACT

Infections associated with health care (IAAS) are one of the most important health problems in the world, more than 30% are caused by Gram-negative bacilli. *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* are currently one of the microorganisms with the greatest impact on infections for the great capacity of these bacteria to colonize new environments is related to the formation of biofilms. *Larrea tridentata* known as “gobernadora” contains various metabolites that exhibit biocidal activity; It has been documented that more than 45 bacteria that attack humans are susceptible to its resin or its components. The objective of this study was to evaluate the bactericidal effect of *Larrea tridentata* on biofilm-forming microorganisms: *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas aeruginosa* by the Alamar Blue method. Samples of leaves and stems of *Larrea tridentata* were obtained to obtain the ethanolic extract and make successive dilutions in a 96-well low evaporation plate of the extract starting with a concentration of 50 mg / mL being the last 1.5625. Inoculated at 0.5 MacFarland Nephelometer of each of the strains incubated overnight, 20 µL of Alamar Blue reagent was added to each well to demonstrate the bactericidal activity of the extract. Obtaining as a result the MIC of both extracts, presenting total inhibition of *P. aeruginosa* and resistance of *A. hydrophila* at 3.125 and 1.5625 mg / mL of the extract of *Larrea tridentata*. Concluding that *Larrea tridentata* on stems and leaves has an inhibitory and antimicrobial effect on *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila*.

Keywords: *Larrea tridentata*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, inhibition.

INTRODUCCIÓN

El Centro para el Control de Enfermedades (CDC) define las infecciones nosocomiales, también llamadas infecciones adquiridas en la atención médica o infecciones asociadas a la atención médica, como una enfermedad localizada o sistémica que resulta de una reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o toxina que no estaba presente o incubándose en el momento de la admisión al hospital (Sah, M. K., 2014).

Las infecciones nosocomiales son uno de los problemas de salud más importantes del mundo, lo que lleva a la prolongación de la hospitalización y al aumento de la morbilidad, la mortalidad y los costos de tratamiento (Kostakoglu, U., 2016). En América, más del 30% de las infecciones hospitalarias son causadas por bacilos Gram-negativos en unidades de cuidados intensivos (UCI), y el 70% de las infecciones hospitalarias son causadas por estos microbios (Hedayat, Y. M., 2018).

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo común Gram-negativo capaz de adaptarse y sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables, incluyendo fuentes nutricionales mínimas (Artini, M., 2018). Además, tiene la capacidad de cambiar del modo de vida libre (planctónico) a un modo de vida fenotípico de biopelículas (Chanda, W., 2017). *P. aeruginosa*, es en la actualidad uno de los microorganismos de mayor impacto en las infecciones hospitalarias (Hernández, A., 2018). La bacteria se encuentra en todos los entornos hospitalarios tanto en contenedores húmedos como en alimentos, flores, bañeras, inodoros, sales y tratamientos respiratorios y de diálisis e incluso en desinfectantes (Goudarzi, H., 2018).

Aeromonas son bacterias Gram-negativas anaerobias facultativas que normalmente habitan en el medio acuático (Stratev, D., 2013), incluyendo aguas cloradas y contaminadas, aunque también pueden aislarse de una amplia variedad de fuentes ambientales y clínicas (Albarral, V., 2016). *Aeromonas spp* ha desarrollado múltiples mecanismos reguladores para la formación de biopelículas que están íntimamente relacionados con la producción de factores de virulencia (Rasmussen-Ivey, 2016). Dependiendo de las propiedades fisiológicas y los huéspedes, se dividen en dos grandes grupos. El primer grupo incluye aeromonas móviles, con *Aeromonas hydrophila* como representante típico que causa infecciones principalmente en humanos (Stratev, D., 2016).

La gran capacidad de las bacterias para colonizar nuevos ambientes está relacionada con la formación de biopelículas, como es el caso de *Aeromonas*

hydrophila y *Pseudomonas aeruginosa*. El estilo de vida de las biopelículas está asociado con una alta tolerancia al estrés exógeno: en consecuencia, el tratamiento de biopelículas con antibióticos u otros biocidas generalmente no es efectivo para erradicarlas (Artini, M., 2018). Dentro de las especies vegetales representativas en el noroeste de México, *Larrea tridentata* conocida como “gobernadora” es una fuente invaluable de moléculas biológicamente activas, tales como diversos metabolitos secundarios que presentan actividad biocida (Peñuelas-Rubio, O., 2015). En relación con *L. tridentata* se ha documentado que más de 45 bacterias son susceptibles a su resina o sus componentes, así como a diez levaduras, nueve hongos y tres parásitos intestinales que atacan a los humanos comprometiendo su estado de salud (Delgadillo, R. L., 2017).

Debido a que la resistencia antibacteriana ha ido considerablemente en ascenso a lo largo de los años, es importante que se busquen nuevas alternativas para inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos para el hombre, por ello el objetivo del presente estudio es demostrar la actividad bactericida de los extractos obtenidos de *Larrea tridentata* contra las bacterias formadoras de biopelícula *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas aeruginosa*.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto bactericida de *Larrea tridentata* en microorganismos formadores de biopelícula: *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas aeruginosa* por el método de Alamar Azul.

MATERIAL Y MÉTODO

Se obtuvieron muestras de hojas y tallos de *Larrea tridentata* de un mismo arbusto para conservar la homogeneidad en la materia, en la localidad de Juan E. García municipio de Lerdo Durango. Las hojas y ramas se lavaron en agua para eliminar el polvo, los microbios y los insectos presentes en su superficie y se dejó secar a temperatura ambiente (27 ± 2 ° C) durante 4 semanas. Luego el material seco se trituró a polvo fino (Simon, J. P., 2019), y se tamizó a un tamaño de partícula de #30. Para preparar los extractos, los polvos se suspendieron a un volumen de etanol al 96% suficiente para cubrir el material en su totalidad, se utilizaron ± 400 mL para el material proveniente de los tallos y ± 700 mL para las hojas. Cada polvo se maceró durante 9 días a temperatura ambiente (25 °C) y en la obscuridad. Durante la maceración, se realizó un lavado del solvente y recuperación del extracto cada tercer día, los residuos sólidos fueron resuspendidos

REFERENCIAS

- Sah, M. K., Mishra, S. K., Ohora, H., Kirikae, T., Sherchan, J. B., Rijal, B. P., & Pokhrel, B. M. (2014). Nosocomial Bacterial Infection and antimicrobial Resistant Pattern in a Tertiary care Hospital in Nepal. *Journal of Institute of Medicine*, 36(3), 38-48.
- Kostakoglu, U., Saylan, S., Karatas, M., Iskender, S., Aksoy, F., & Yilmaz, G. (2016). Cost analysis and evaluation of nosocomial infections in intensive care units. *Turk J Med Sci*, 46(5), 1385-1392. doi:10.3906/sag-1504-106
- Hedayat, Y. M., Reza, A. M., Karami, P., Khaledi, A., Ali, S. M., Khiabanchian, O., & Rahimi-Bashar, F. (2018). The Pattern of Antibiotic Resistance of Common Bacteria Causing Nosocomial Infections. *World Family Medicine Journal/Middle East Journal of Family Medicine*, 16(3), 172-178. doi:10.5742/mewfm.2018.93342
- Artini, M., Patsilinakos, A., Papa, R., Bozovic, M., Sabatino, M., Garzoli, S., . . . Selan, L. (2018). Antimicrobial and Antibiofilm Activity and Machine Learning Classification Analysis of Essential Oils from Different Mediterranean Plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 23(2). doi:10.3390/molecules23020482
- Chanda, W., Joseph, T. P., Padhiar, A. A., Guo, X., Min, L., Wang, W., . . . Zhong, M. (2017). Combined effect of linolenic acid and tobramycin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and quorum sensing. *Exp Ther Med*, 14(5), 4328-4338. doi:10.3892/etm.2017.5110
- Hernández, A., Yagüe, G., García, V. E., Simón, M., Moreno, P. L., Canteras, M., & Gómez, J. (2018). Infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente incluido carbapenémicos: factores predictivos y pronósticos. Estudio prospectivo 2016-2017. *Rev Esp Quimioter*, 31(2), 123-130.
- Goudarzi, H., Hashemi, A., & Chinigarzadeh, S. (2018). Antimicrobial Effect of Methanolic and Acetonic of *Zataria Multiflora*, *Capsicum Annum* L. and *Piper Nigrum* L. Extracts on *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Patients Hospitalized in the Burn Ward of Shahid Motahari Hospital in Tehran. *Novelty in Biomedicine*, 6(3), 118-125.
- Stratev, D., Vashin, I., & Daskalov, H. (2013). ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF B-HAEMOLYTIC AEROMONAS HYDROPHILA STRAINS ISOLATED FROM RAINBOW TROUTS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*). *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 16(4), 289-296.
- Albarral, V., Sanglas, A., Palau, M., Miñana-Galbis, D., & Fusté, M. C. (2016). Potential pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* complex strains isolated from clinical, food, and environmental sources. *Can. J. Microbiol*, 62, 296-306. doi:10.1139/cjm-2015-046610.1139/cjm2015-0466
- Rasmussen-Ivey, C. R., Figueras, M. J., McGarey, D., & Liles, M. R. (2016). Virulence Factors of *Aeromonas hydrophila*: In the Wake of Reclassification. *Front Microbiol*, 7, 1337. doi:10.3389/fmicb.2016.01337
- Stratev, D., & Odeyemi, O. A. (2016). Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *J Infect Public Health*, 9(5), 535-544. doi:10.1016/j.jiph.2015.10.006
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Vargas-Arispuro, I. C., Lares-Villa, F., Cantú-Soto, E. U., Hernández-Rodríguez, S. E., . . . Mungarro-Ibarra, C. (2015). Bioactividad in vitro de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. *Polibotánica*, 0(40). doi:10.18387/polibotanica.40.12
- Delgadillo, R. L., Bañuelos, V. R., Delgadillo, R. O., Silva, V. M., & Gallegos, F. P. (2017). Composición química y efecto antibacteriano in vitro de extractos de *Larrea tridentata*, *origanum vulgare*, *artemisa ludoviciana* y *ruta graveolens*. *Nova Scientia*, 9(2), 273-290.
- Simon, J. P., Parthasarathy, M., Nithyanandham, S., Katturaja, R., Namachivayam, A., & Prince, S. E. (2019). Protective effect of the ethanolic and methanolic leaf extracts of *Madhuca longifolia* against diclofenac-induced toxicity in female Wistar albino rats. *Pharmacol Rep*, 71(6), 983-993. doi:10.1016/j.pharep.2019.05.013
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Verdugo-Fuentes, A. A., Chaparro-Encinas, L. A., Hernández-Rodríguez, S. E., Martínez-Carrillo, J. L., & Vargas-Arispuro, I. C. (2017). Extractos de *Larrea tridentata* como una estrategia ecológica contra *Fusarium oxysporum radialis-lycopersici* en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 35(3). doi:10.18781/r.mex.fit.1703-3
- Rohane, S. H., Chauhan, A. J., Fuloria, N. K., & Fuloria, S. (2019). Synthesis and in vitro antimycobacterial potential of novel hydrazones of eugenol. *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2019.09.004

- Delgadillo, R. L., Bañuelos, V. R., Delgadillo, R. O., Silva, V. M., & Gallegos, F. P. (2017). Composición química y efecto antibacteriano in vitro de extractos de *larrea tridentata*, *origanum vulgare*, *artemisa ludoviciana* y *ruta graveolens*. *Nova Scientia*, 9(2), 273-290.
- Martins, S., Amorim, E. L. C., Sobrinho, T. J. S. P., Saraiva, A. M., Pisciotano, M. N. C., Aguilar, C. N., . . . Mussatto, S. I. (2013). Antibacterial activity of crude methanolic extract and fractions obtained from *Larrea tridentata* leaves. *Industrial Crops and Products*, 41, 306-311. doi:10.1016/j.indcrop.2012.04.037

Evaluación del efecto bactericida del extracto de la *Olea europaea* en bacterias nosocomiales por el método de alamar Azul

¹Chávez García A. Alberto; ¹Hernández Neri J. Sebastián; ^{1,2*}Alba Romero J. Jesús

¹Facultad de Ciencias Químicas, Unidad Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango

²Instituto de Enfermedades Infecciosas. Av. Juárez 101 Zona Centro. Gómez Palacio, Dgo.

*Email: jalbar_1@hotmail.com

RESUMEN

La *Olea europaea* (*O. europaea*) pertenece a la familia *Oleaceae*, tiene una larga historia por sus beneficios medicinales, nutricionales y de salud, es un árbol de hoja perenne, y estas han sido estudiadas últimamente para determinar sus características bioquímicas. Por otro lado, las enfermedades infecciosas causadas por patógenos multirresistentes (MRD) son el mayor desafío en la atención médica. Las cepas comúnmente encontradas son *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas spp* (*P. spp*), *Acinetobacter spp* (*A. spp*) y *Klebsiella spp* (*K. spp*). El reactivo Alamar Azul no es tóxico para las células, incluso durante largos tiempos de incubación, es un indicador de reducción de la oxidación. En presencia de la viabilidad bacteriana, su color cambia de azul oscuro a rosa brillante como respuesta a la reducción química del medio de crecimiento. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto bactericida del extracto etanólico de *O. europaea* por el método de Alamar Azul en microorganismos causantes de Infecciones asociadas a la atención a la salud. Se realizó la recolección del material vegetal de la *O. europaea* de hojas y tallos, realizó el extracto etanólico, se inoculó en placa costar de 96 pocillos caldo LB, se delimitó la CMI, se inoculo de cada una de las cuatro cepas con diluciones del extracto comenzando en 50 mg/mL en reducción a 6 diluciones siendo la ultima 1.562 mg/mL. Los resultados de ambos extractos fueron positivos a inhibición, siendo los más relevantes el *A. baumannii* en 50 mg/mL en hojas y *P. aeruginosa* en 25 mg/mL en tallos, los resultados fueron reportados en las tablas 1 y 2. Por lo anterior concluimos que el extracto etanólico de *O. europaea* si ejerce un efecto bactericida contra las cepas analizadas.

Palabras clave: *Olea europaea*, inhibición, nosocomiales, Alamar Azul.

ABSTRACT

The *O. europaea* belongs to the *Oleaceae* family, it has a long history for its medicinal, nutritional and health benefits, it is an evergreen tree, and these have been studied lately to determine its biochemical characteristics. On the other hand, infectious diseases caused by multidrug-resistant pathogens (MRD) are the biggest challenge in medical care. The strains found are the son of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas spp* (*P. spp*), *Acinetobacter spp* (*A. spp*) and *Klebsiella spp* (*K. spp*). The Alamar Azul reagent is not toxic to cells, even during long incubation times, it is an indicator of oxidation reduction. In the presence of bacterial viability, its color changes from dark blue to bright pink in response to the chemical reduction of the growth medium. The objective of this study was to evaluate the bactericidal effect of the ethanol extract of *O. europaea* by the method of Alamar Azul in microorganisms that cause infections associated with health care. The collection of the plant material of the *O. europaea* of leaves and stems was carried out, the ethanolic extract was made, inoculated in a 96-well costing plate LB broth, the CMI was delimited, inoculated of each of the four strains with dilutions of the extract starting at 50 mg / ml in reduction at 6 dilutions, the last being 1,562 mg / ml. The results of both extracts were positive for inhibition, the most relevant being *A. baumannii* in 50 mg / mL in leaves and *P. aeruginosa* in 25 mg / mL in stems, the results were reported in Tables 1 and 2. Therefore we conclude that the ethanol extract of *O. europaea* does exert a bactericidal effect against the strains analyzed.

Keywords: *Olea europaea*, inhibition, nosocomials, Alamar Azul

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el cultivo del olivo se ha extendido a todo el mundo y tiene implicaciones económicas, sociales y ecológicas de gran alcance en la cuenca mediterránea (Leyva-Pérez, 2018). Pertenece a la familia *Oleaceae* tiene una larga historia por sus beneficios medicinales, nutricionales y de salud (Fayyaz, T. B., 2017), es un árbol de hoja perenne (Kumar, A., 2017); y estas han sido comúnmente usadas en remedios tradicionales en países europeos y del mediterráneo (Zeriouh, W., 2017); varios reportes indican el valor de la planta en tratamientos para la hipertensión (Fekadu, N., 2017). Tiene compuestos que han demostrado poseer un gran rango de propiedades bioactivas, incluyendo antioxidantes, antiinflamatorias y activos quimiopreventivos, los cuales han sido estudiados a lo largo de 20 años (Bonvino, N. P., 2018). Los componentes fenólicos del olivo más estudiados incluyen, *oleuropein*, *hidroxytirosol*, *tirosol* y *oleocanthal* (Bonvino, N. P., 2018). La caracterización química y la evaluación cuantitativa de estos compuestos polares menores pueden ser útiles para obtener principios activos con aplicaciones importantes en productos alimenticios, farmacéuticos, cosméticos y funcionales (Romani, A., 2016).

Además, las enfermedades infecciosas causadas por patógenos multirresistentes (MDR) son el mayor desafío en la atención médica. Si las infecciones no involucran cuerpos extraños, una dosis alta de antibióticos o terapia combinada a veces puede eliminar las infecciones. Estos incluyen la presencia de bacterias Gram negativas y Gram positivas, hongos, virus, protozoos en números más o menos respectivamente (Brohi, N., A., 2017).

Pero en los casos en que se utilizan cuerpos extraños tales como catéteres, derivaciones, válvulas cardíacas, marcapasos, stents, implantes mamarios, dispositivos intrauterinos, lentes de contacto, etc., la eliminación del material seguido del tratamiento a menudo es necesaria (Karunanidhi, A., 2018). El control periódico de las tasas de resistencia en los principales patógenos nosocomiales es importante en la selección de regímenes de terapia empírica (Sipahi, O. R., 2017).

Una resistencia tan alta a los antibióticos puede complicar la elección del antibiótico correcto en el tratamiento empírico, aumentando la mortalidad de los pacientes. Patógenos bacterianos nosocomiales como *S. aureus* resistente a metilina (SARM), *Enterococos* resistentes a vancomicina (ERV), *P. spp.*, *A. spp.* son más estables en el ambiente del hospital. Es probable que los microorganismos de los objetos de

contacto frecuente en el hospital se transmitan a los trabajadores de la salud, los pacientes y los visitantes (Bhatta, D. R., 2018). Además de las medidas para alentar el uso apropiado de antibióticos, se requieren con urgencia el descubrimiento y el desarrollo de nuevas moléculas activas (Swain, J., 2018). El reactivo Alamar Azul no es tóxico para las células, incluso durante largos tiempos de incubación, es un indicador de reducción de la oxidación. En presencia de la viabilidad bacteriana, su color cambia de azul oscuro a rosa brillante como respuesta a la reducción química del medio de crecimiento (Süleymanoğlu, N., 2017). Alamar Blue Assay (AlamarBlue; AbD Serotec, Kidlington, UK), es un reactivo que contiene un colorante indicador, que emite fluorescencia en respuesta al crecimiento celular. La fluorescencia de cada pocillo se midió a una longitud de onda de excitación de 530 nm y una longitud de onda de emisión de 590 nm con un lector de fluorescencia (BioTek®, Winooski, VT, EE. UU.) (Alsubait, S. A., 2018).

El objetivo de este estudio ha sido el evaluar la actividad bactericida del extracto etanólico de hojas y tallos sobre cepas bacterianas (*S. aureus*, *K. pneumonia*, *A. baumannii* y *P. aeruginosa*), evaluando su efectividad con el colorante alamar azul.

MATERIAL Y MÉTODO

Obtención de la muestra

Se obtuvieron muestras de hojas y tallos de *O. europaea* de una misma planta para conservar las características de los productos, en la localidad de León Guzmán del municipio de Lerdo Durango.

Metodología para el extracto

Se siguió la metodología de Gomari (et al 2019)¹⁵ con algunas adecuaciones. El material vegetal se dejó secar a la sombra hasta que se observó la pérdida de humedad. Se procedió a disminuir el tamaño del material vegetal seco, primeramente, en un molino, posteriormente se tamizó a un tamaño de partícula de #30. Se pesó el material vegetal se suspendió a un volumen de etanol al 96%. En el caso de las hojas se suspendieron en un volumen de +/- 300 mL de etanol y los tallos en volumen +/- 250 mL de etanol. Se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar, recubierto con papel aluminio para evitar la oxidación y/o fotólisis de los compuestos, dejándolos en agitación constante; cada tercer día se realizó un lavado del solvente para evitar su saturación y se volvió a resuspender según el volumen requerido,

esto se realizó en ambos extractos en un tiempo promedio de 9 días. Una vez recuperado el solvente de los 3 lavados, se procede a medir la cantidad obtenida y se procede a colocarlos (por separado) en un rotavaporador con la finalidad de concentrar los componentes extraídos del material vegetal y eliminar el etanol.

Las cepas fueron proporcionadas por los asesores especializados de la laguna, las cuales ya fueron mencionadas posteriormente, se llevaron a fase logarítmica en agar triple soya tripticasa; posteriormente se estandarizaron en la escala de Nefelómetro de McFarland en solución salina al 0.9% p/v.

Evaluación bactericida

En una placa costar 96 pocillos de baja evaporación se inoculó 100 µL de caldo LB en todos los pocillos de las series, así mismo se colocaron 100 µL del extracto de *O. europaea*, a una concentración de 50 mg/mL. Se extrajeron 100 µL del pozo 1 al pozo 2 y así sucesivamente hasta el pozo 6 y eliminar los 100 µL excedentes del mismo. Se agregaron 100 µL de cada inóculo del pozo 1 al 6. Se incubaron durante toda la noche a 36°C. Posteriormente se agregaron a cada pozo 20 µL de reactivo Alamar Azul (reactivo óxido-reducción) para evidenciar los cultivos como

bacterias vivas (color rojo) y con bacterias muertas (color azul).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, la inhibición estuvo presente en la mayoría de las cepas utilizadas, así mismo el ensayo realizado por Ghomari., et al 2019 coincide en la inhibición de *S. aureus* y *P. aeruginosa*, sin embargo el extracto realizado de etanol al 80% y el ensayo fue realizado en un antibiograma, su concentración del extracto fue de 30 mg/mL en contraste al presentado en este estudio que en *P. aeruginosa* mostro una concentración mínima inhibitoria de 3.125 mg/mL y en *S. aureus* de 1.562 mg/mL, siendo el ensayo solo en hojas, además en el ensayo realizado en tallos la concentración mínima inhibitoria fue de 25 mg/mL en ambas cepas. Tal y como lo ilustra las tablas 1 y 2 el impacto de los resultados se centra en la concentración mínima inhibitoria ejercía en las cepas, siendo *A. baumannii* resistente al extracto en tallos con la concentración máxima, pero inhibiendo su crecimiento con la de las hojas.

Tabla 1 Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *O. europaea* por el método de alamar azul.

Concentración del extracto (mg/mL)	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
50	+	+	+	+
25	+	+	+	-
12.5	+	+	+	-
6.25	+	+	+	-
3.125	+	+	+	-
1.562	+	+	-	-
+: Inhibición		-: Crecimiento Bacteriano		

Tabla 2 Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de tallos de *O. europaea* por el método de alamar azul.

Concentración del extracto (mg/mL)	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
50	+	+	+	-
25	+	+	+	-
12.5	-	-	-	-
6.25	-	-	-	-
3.125	-	-	-	-
1.562	-	-	-	-
+: inhibición		-: Crecimiento Bacteriano		

CONCLUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la actividad bactericida del árbol de *O. europaea* por el método de Almar Azul, de acuerdo a los datos obtenidos, la determinación del efecto bactericida del extracto de hojas presentó una mayor rango de inhibición en comparación con el extracto de tallos, que solo mostro pequeño margen de su actividad bactericida, por lo tanto, se concluye que la parte del árbol que contiene más principio activo para lograr la inhibición de las bacterias nosocomiales, es la hoja.

REFERENCIAS

- Leyva-Perez, M. O., Jimenez-Ruiz, J., Gomez-Lama Cabanas, C., Valverde-Corredor, A., Barroso, J. B., Luque, F., & Mercado-Blanco, J. (2018). Tolerance of olive (*Olea europaea*) cv Frantoio to *Verticillium dahliae* relies on both basal and pathogen-induced differential transcriptomic responses. *New Phytol*, 217(2), 671-686. doi: 10.1111/nph.14833.
- Fayyaz, T. B., Memon, Z., Baig, M. T., & Ain, N. U. (2017). Extract of olive (*Olea europaea* L.) cures hematologic toxicosis induced by doxorubicin. *FUUAST J. BIOL*, 7(1), 75-79.
- Kumar, A., & Sharma, N. (2017). Influence of Nutrients on Growth, Fruitfulness and Leaf Nutrient Status of Olive (*Olea europaea* L.). *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 8(2), 207-212. doi: 10.23910/ijbsm/2017.8.2.1790.
- Zeriouh, W., Nani, A., Belarbi, M., Dumont, A., de Rosny, C., Aboura, I., Hichami, A. (2017). Phenolic extract from oleaster (*Olea europaea* var. *Sylvestris*) leaves reduces colon cancer growth and induces caspase-dependent apoptosis in colon cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. *PLoS One*, 12(2), e0170823. doi: 10.1371/journal.pone.0170823.
- Fekadu, N., Basha, H., Meresa, A., Degu, S., Girma, B., & Geleta, B. (2017). Diuretic activity of the aqueous crude extract and hot tea infusion of *Moringa stenopetala* (Baker f.) Cufod. leaves in rats. *J Exp Pharmacol*, 9, 73-80. doi: 10.2147/JEP.S133778.
- Bonvino, N. P., Liang, J., McCord, E. D., Zafiris, E., Benetti, N., Ray, N. B., . . . Karagiannis, T. C. (2018). OliveNet: a comprehensive library of compounds from *Olea europaea*. *Database (Oxford)*, 2018. doi: 10.1093/database/bay016.
- Romani, A., Scardigli, A., & Pinelli, P. (2016). An environmentally friendly process for the production of extracts rich in phenolic antioxidants from *Olea europaea* L. and *Cynara scolymus* L. matrices. *European Food Research and Technology*, 243(7), 1229-1238. doi: 10.1007/s00217-016-2835-5.
- Brohi, N., A., & Noor, A., A. (2017). Frequency of the Occurrence of Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Infections in Hyderabad, Pakistan. *Pak. J. Anal. Environ. Chem*, 18(1), 84-90. doi: 10.21743/pjaec/2017.06.08.
- Karunanidhi, A., Ghaznavi-Rad, E., Hamat, R. A., Pichika, M. R., Lung, L. T. T., Mohd Fauzi, F., Neela, V. (2018). Antibacterial and Antibiofilm Activities of Nonpolar Extracts of *Allium stipitatum* Regel. against Multidrug Resistant Bacteria. *Biomed Res Int*, 2018, 9845075. doi: 10.1155/2018/9845075.
- Sipahi, O. R., Uysal, S., Aydemir, S. S., Pullukcu, H., Tasbakan, M., Tunger, A., Ulusoy, S. (2017). Antibacterial resistance patterns and incidence of hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia in a tertiary care educational hospital in Turkey: a perspective from 2001 to 2013. *Turk J Med Sci*, 47(4), 1210-1215. doi: 10.3906/sag-1607-63.
- Bhatta, D. R., Hamal, D., Shrestha, R., Hosuru Subramanya, S., Baral, N., Singh, R. K., Gokhale, S. (2018). Bacterial contamination of frequently touched objects in a tertiary care hospital of Pokhara, Nepal: how safe are our hands? *Antimicrob Resist Infect Control*, 7, 97. doi: 10.1186/s13756-018-0385-2.
- Swain, J., El Khoury, M., Kempf, J., Briece, F., Van Der Smissen, P., Decout, J. L., & Mingeot-Leclercq, M. P. (2018). Effect of cardiolipin on the antimicrobial activity of a new amphiphilic aminoglycoside derivative on *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*, 13(8), e0201752. doi: 10.1371/journal.pone.0201752.
- Süleymanoğlu, N., Ünver, Y., Ustabaş, R., Direkel, Ş., & Alpaslan, Y. B. (2017). Theoretical and antimicrobial activity study for ethyl {4-[3-(1H-imidazole-1-yl)propyl]-3-methyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-1-yl} acetate. *Spectroscopy Letters*, 50(2), 96-101. doi: 10.1080/00387010.2017.1287098.
- Alsubait, S. A., Al Ajlan, R., Mitwalli, H., Aburaisi, N., Mahmood, A., Muthurangan, M., Anil, S. (2018). Cytotoxicity of Different Concentrations of Three Root Canal Sealers on Human Mesenchymal Stem Cells. *Biomolecules*, 8(3). doi: 10.3390/biom8030068.

Ghomari, O., Sounni, F., Massaoudi, Y., Ghanam, J., Drissi Kaitouni, L. B., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2019). Phenolic profile (HPLC-UV) of olive leaves according to extraction procedure and assessment of antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 23, e00347. doi: 10.1016/j.btre.2019.e00347.

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

Perfil de Ingreso

El aspirante a ingresar a esta Facultad con el deseo de cursar la Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo, debe reunir las siguientes características:

- Conocimientos generales de las ciencias básicas como son: Química, Física, Matemáticas y Biología.
- Ser creativo y observador, tener capacidad de síntesis y análisis crítico.
- Tener espíritu emprendedor, una actitud proactiva, capacidad para trabajar en equipo.

Perfil de Egreso

El Químico Farmacéutico Biólogo es un profesionalista que:

- Resolver problemas en las áreas de Biotecnología, Ciencias de los Alimentos, Diagnóstico Clínico, Ambiental y Farmacéutico.
- Dedicarse a la producción de bienes y servicios en áreas relacionadas con la salud, Químico-Farmacéutico, Legal, Patología, Forense, Laboratorio de Diagnóstico Clínico, etc.
- Desarrollar con ética y responsabilidad la innovación de productos farmacéuticos con el propósito de mejorar la calidad de vida del paciente.



UJED
Universidad Juárez
del Estado de Durango

A través de las unidades académicas de:

Facultad de Ciencias de la Salud-Gómez Palacio
Facultad de Ciencias Químicas-Gómez Palacio
Facultad de Medicina y Nutrición-Durango
Instituto de Investigación Científica-Durango

Convoca a la comunidad de profesionistas y académicos del área de las ciencias biomédicas a cursar el:

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT

Objetivo General

Formar investigadores en el área de las Ciencias Biomédicas capaces de generar y aplicar el conocimiento en forma original, innovadora e independiente con impacto directo en la resolución de los problemas prioritarios de salud con ética y equidad, contribuyendo así a mejorar la calidad de vida de la población regional, estatal y nacional

Perfil del aspirante

El aspirante deberá tener la vocación para la investigación científica; poseer experiencia en trabajos de investigación en las Ciencias Biomédicas, además de madurez intelectual reflejada en el razonamiento crítico, verbal y manejo del inglés técnico, disponibilidad de tiempo completo para dedicarse al programa.

Requisitos generales de ingreso

1. Acreditar el grado de Maestría en Ciencias en disciplinas Biomédicas, Médicas, Químicas, Biológicas o áreas afines
2. Comprobar promedio mínimo de ocho (o equivalente) en los estudios de Maestría
3. Presentar un ejemplar de *curriculum vitae* con documentos probatorios
4. Presentar un compromiso escrito de dedicación de tiempo completo al programa, con un mínimo de 40 hrs/sem.
5. Presentar dos cartas de recomendación de investigadores en activo, reconocidos y con grado de Doctor
6. Presentar el examen EXANI-III del CENEVAL y obtener un puntaje mínimo de 1080 puntos
7. Comprobante de comprensión de lectura y de escritura del idioma inglés, con un puntaje mínimo de 450 en el examen TOEFL ITP de ETS o su equivalente acreditado en las escuelas de lenguas de la UJED, indicando puntaje obtenido
8. Entregar anteproyecto de investigación (10 páginas máximo) y carta de apoyo del director de tesis quien debe ser profesor del núcleo académico del doctorado
9. Aprobar la entrevista con los profesores del Comité de Selección del Programa
10. Aprobar la presentación del anteproyecto de tesis doctoral ante el Comité de Selección del Programa

Líneas de Investigación

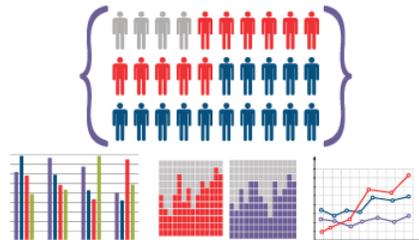
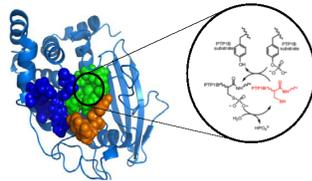
1. Efectos en la salud ocasionados por factores ambientales y nutricionales.
2. Patogenia de enfermedades crónicas degenerativas.
3. Biología molecular, celular y bioquímica de agentes patógenos.
4. Epidemiología molecular de enfermedades de interés regional.



Duración del programa: Cuatro años, en ocho semestres
EXANI III: Aplicación 6 diciembre
Inscripción a EXANI III: Del 23 octubre al 29 noviembre
Recepción de documentos: A partir de octubre de 2019 al 31 de enero 2020
Entrevistas y presentaciones: Del 3 al 12 de febrero 2020
Publicación de resultados: 14 de febrero 2020
Inscripciones: 17 al 21 de febrero de 2020
Inicio de cursos: 24 febrero de 2020

Becas CONACYT

El programa de doctorado está registrado en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, por lo que los candidatos aceptados, tendrán el apoyo institucional de la UJED para el trámite de becas.

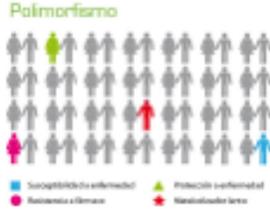


Informes

OFICINA DEL DOCTORADO: dbiomedicasujed@gmail.com
Facultad de Medicina y Nutrición: Dra. Laura E. Barragán Ledesma (habil_laura@yahoo.com.mx)
Facultad de Ciencias de la Salud: Dra. Claudia Muñoz Yañez (claudiamunoz_y@hotmail.com)
Facultad de Ciencias Químicas GP: Dra. Esperanza Y. Calleros Rincón (peracalleros@gmail.com)
Instituto de Investigación Científica: Dr. Osmel la Llave León (ollave56@yahoo.es)



Cuerpo académico UJE-CA-108 Patologías de origen ambiental
LGAC: Bases Moleculares y Bioquímicas de la Salud Ambiental

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Nitrosaminas y óxido nítrico como derivados del metabolismo de los nitratos, su papel en la respuesta a la hipoxia mediada por HIF y su implicación en la carcinogenesis.	<p align="center">Polimorfismo</p>  	
Variabilidad genética y caracterización bioquímica de las metaloproteinasas y la toxina		
Citotoxicidad del nitrato y nitrito en distintas líneas celulares y su posible mecanismo de acción		
<p>Alteración en la síntesis de hormonas tiroideas mediada por los factores de transcripción FOXE1 y PAX8 durante la intoxicación crónica por nitratos</p> <p>Estudios de biomarcadores obesogénicos y angiogénicos (leptina, IGF-1 y VEGF) y su relación con la respuesta a la terapia en pacientes con cáncer de mama.</p>		
Biomarcador de insuficiencia renal		
Anemia asociada a factores ambientales en el estudiante Universitario	<p align="center">Esperanza Yasmín Calleros Rincón</p>	
Alteraciones de la glándula tiroideas y determinación de oncogenes por consumo de agua contaminada por nitratos		
Interacciones medicamentosas más comunes en diferentes áreas de un hospital de alta especialidad en la Ciudad de México		
Evaluación del daño oxidativo al ADN en niños con exposición prenatal al arsénico, flúor y compuestos organoclorados	<p align="center">Edgar Héctor Olivas Calderón</p> 	
Evaluación de la función renal e hipertensión arterial en población expuesta a cadmio		
Detección de anticuerpos IgG e IgM contra Toxoplasma gondii en primigestantes y sus neonatos en el Hospital General de Gómez Palacio, Dgo.		

CIENCIAS BIOMÉDICAS

(Salud, Epidemiología, Nutrición)



*"La vida sería imposible si todo se recordase.
El secreto está en saber elegir lo que debe olvidarse"
Roger Martin Du Gard (1881-1958); novelista francés.*

Detección de los genes de las enterotoxinas citotónicas del género *Aeromonas* en muestras de ostiones distribuidas en la Ciudad de México

¹González-Avila Luis Uriel, ¹Torres-Santiago Melissa, ²Ibáñez-Hernández Miguel Ángel Antonio, ³Hernández-Cortez Cecilia, ¹Colmenero Solís Raúl de Jesús, ¹Castro-Escarpulli Graciela.

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental. Departamento de Microbiología. ²Laboratorio de Terapia Génica. Departamento de Bioquímica. ³Laboratorio de Bioquímica Microbiana. Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Instituto Politécnico. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N Col. Santo Tomás, Alcaldía Miguel Hidalgo código Postal 11340., Ciudad de México, México.

*Email: chelacastro@hotmail.com

RESUMEN

Los ostiones son alimentos que contienen gran cantidad de bacterias por lo que son focos para la adquisición de infecciones gastrointestinales. El género *Aeromonas* se considera un agente etiológico de infecciones gastrointestinales y se ha aislado frecuentemente de alimentos como vegetales, pollo y ostiones. Estos últimos podrían ser vectores importantes de patógenos debido a que los consumidores los ingieren generalmente sin cocción, lo que favorece la presencia de *Aeromonas* viables con sus correspondientes factores putativos de virulencia (FPV), como las enterotóxicas similares a la toxina colérica. El objetivo fue determinar la presencia de *Aeromonas* y los genes de las enterotoxinas *ast* y *alt* en muestras de ostiones de la Ciudad de México. Se recolectaron 20 muestras de ostiones que se distribuyen en comercios ambulantes de la Ciudad de México, para la búsqueda de *Aeromonas* spp., las muestras fueron enriquecidas en agua peptonada al 1 % con pH de 8.6, durante 18 horas a 36 ± 1 °C, después se sembró una asada del enriquecimiento en gelosa MacConkey y Cromocin AGN. Se detectó el gen *gcat*, marcador molecular del género, por PCR, y los genes *ast* y *alt* por PCR múltiple. Los aislamientos positivos al gen *gcat*, fueron sometidos a las pruebas de crecimiento en inositol y en NaCl al 6 %. La clonalidad de los aislamientos se determinó mediante una ERIC-PCR.

Se obtuvieron 120 aislamientos presuntivos del género *Aeromonas* y se conservaron a mediano plazo, de los cuales se analizaron 91, se detectó el gen *gcat* en 88 de los 91 aislamientos analizados, los positivos a la presencia de este gen dieron negativas. Las pruebas de inositol y NaCl, por lo cual se demostró la presencia de *Aeromonas* spp., descartando así a los géneros *Vibrio* y *Plesiomonas*. Mediante la técnica de ERIC-PCR, no se

demonstró relación clonal entre las cepas identificadas. Por último, se detectó la presencia de los genes *ast* y *alt* por PCR múltiple, el gen *ast* en 8 cepas (9 %) y el gen *alt* en 22 cepas (25 %), en 11 de las cepas (13%) se detectaron ambos genes simultáneamente.

Los ostiones que se distribuyen en la Ciudad de México presentan *Aeromonas*, y estas contienen los genes que codifican para los FPV. Estos resultados permiten sugerir la búsqueda del género *Aeromonas*, de manera rutinaria, en muestras de alimentos de origen marino como los ostiones y otros, para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Palabras clave: *Aeromonas*, ostiones, enterotoxinas

ABSTRACT

Oysters are foods that contain a large number of bacteria, so they are sources for the acquisition of gastrointestinal infections, which can be a serious public health problem. The genus *Aeromonas* is considered an etiologic agent of gastrointestinal infections and has frequently been isolated from foods such as vegetables, chicken, and oysters. The latter could be important vectors of pathogens, since consumers generally eat them raw, which favors the presence of viable *Aeromonas* with their corresponding putative virulence factors (PVF), such as enterotoxins similar to cholera toxin. The objective of this work was: to determine the presence of *Aeromonas* and the genes of the *ast* and *alt* enterotoxins in oyster samples from Mexico City. 20 samples of oysters were collected and distributed in street shops in Mexico City, for the search of *Aeromonas* spp. The samples were enriched in 1% peptonated water with a pH of 8, for 6 hours at 37 °C, then, they were inoculated in MacConkey and Chromocin AGN. The *gcat* gene, molecular marker of

the genus, was detected by PCR, and the *ast* and *alt* genes by multiple PCR. The clonality of the isolates was determined by ERIC-PCR.

From the bacterial growth, 120 presumptive isolates of the genus *Aeromonas* were obtained and preserved in the medium term, of which 91 were analyzed. The *gcat* gene was detected in 88 of the 91 isolates analyzed, the positives to the presence of this gene were negative. Using the ERIC-PCR technique, no clonal relationship between the strains identified as *Aeromonas* was demonstrated. Finally, the presence of the *ast* and *alt* genes was detected by multiple PCR, the *ast* gene in 8 strains (9%), and the *alt* gene in 22 strains (25%), in 11 of the strains (13%) both genes were found simultaneously. Based on the results, it is concluded that the oysters distributed in Mexico City present *Aeromonas*, and these contain the genes that code for PVF. These results suggest routinely searching for the genus *Aeromonas* in food samples of marine origin, such as oysters, among others, to prevent gastrointestinal infections.

Key words: Oysters, *Aeromonas*, gastrointestinal infections

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) como enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos conteniendo patógenos vivos o las toxinas producidas por estos. Un brote de ETA se define como un incidente donde dos o más personas presentan enfermedad semejante después de ingerir el mismo alimento, en donde los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad (OMS, 2015).

Para que las ETA ocurran, el patógeno o sus toxinas deben estar presentes en el alimento, pero su sola presencia no indica que la enfermedad se pueda presentar. En la mayoría de los casos, el alimento debe contener la dosis infectiva adecuada del patógeno para desencadenar una infección, así como el alimento debe ser capaz de facilitar la colonización bacteriana y favorecer su desarrollo. Existen microorganismos más comunes como *Campylobacter* spp., mientras que en los países en vías de desarrollo los más comunes son *Salmonella* spp., y *E. coli*, no obstante, otros patógenos como *Aeromonas*. Por otro lado, se ha demostrado que esta bacteria causa infecciones gastrointestinales importantes en humanos, y lo coloca como un patógeno

importante. Las infecciones que causa *Aeromonas* pueden ser de tipo intestinales o extraintestinales, en México no se busca de manera rutinaria ni en alimentos, agua, ni en muestras clínicas. Por lo cual es importante conocer la distribución de *Aeromonas* en México, principalmente en alimentos marinos, que, al consumirse crudos, son una fuente de infección para el consumidor (Figueras, MJ., et al.; 2015).

El género *Aeromonas* se caracteriza por ser bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, oxidasa y catalasa positivos. Dentro de sus propiedades bioquímicas, este género es capaz de degradar nitratos a nitritos, tiene un metabolismo fermentativo y es resistente al factor vibriostático O/129 (2,4-Diamino-6,7-diisopropilpteridina fosfato) (Janda, JM., et al.; 2010) a excepción de *A. cavernicola* y *A. australiensis*. Las especies del género *Aeromonas* se consideran acuáticas, también se han aislado frecuentemente de peces enfermos, en distintos procesos infecciosos en humanos, de alimentos de diferente origen como pollo, carne, verduras y mariscos, entre otros (Aravena M., et al.; 2013. Figueras, MJ., et al.; 2015).

En todos los alimentos pueden encontrarse patógenos bacterianos, sin embargo, en los alimentos marinos se pone especial atención dado que la mayoría se consume crudo, esto significa que habrá un aumento en el número de casos de infección gastrointestinal. Los productos del mar son importantes debido a que se consumen generalmente crudos. *Crassostrea* es un género de moluscos bivalvos de la familia *Ostreidae* conocidos vulgarmente como ostiones. Son ampliamente aprovechados por el hombre como alimento por su alto valor nutritivo y debido a la facilidad con que se obtiene y los múltiples métodos para lograrlo, desde la captura a mano, hasta grandes cultivos ostrícolas. Se sabe que estos son los organismos filtradores del mar, lo que facilita la colonización de bacterias en ellos, esto representa un factor de riesgo para todo aquel que consuma pues se han asociado brotes de gastroenteritis debido al consumo de ostiones. Actualmente se reconoce al género *Aeromonas* como uno de los principales agentes contaminantes de alimentos, se ha aislado con frecuencia de vegetales, pollo y productos del mar, estos últimos con un alto potencial para las infecciones debido a que la ingesta de muchos de ellos no involucra el proceso de cocción, lo que favorece la presencia de este género bacteriano, así como la producción de las enterotoxinas, las cuales se han relacionado en infecciones intestinales en humanos. Por tal motivo, es importante determinar la presencia del género *Aeromonas* y detectar los genes de las enterotoxinas *alt* y *ast*, a partir de muestras de

ostiones que se distribuyen en la Ciudad de México, porque pueden representar un riesgo potencial de salud pública.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras y aislamiento microbiológico

Para el aislamiento de las cepas de *Aeromonas*, recolectaron 20 muestras de ostiones que se distribuyen en comercios ambulantes de la Ciudad de México, las muestras se llevaron al laboratorio en el empaque en el cual fueron adquiridos, en el laboratorio se procesaron las muestras en condiciones asépticas. Con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, se pesaron 200 g de cada muestra de ostiones y se adicionaron en 200 mL de agua peptonada al 1 % con pH de 8.6, durante 18 horas a 36±1 °C, después se sembraron en gelosa Mac Conkey y Cromocen AGN por estría cruzada, incubando a 37 °C durante 24 h.

Identificación presuntiva de *Aeromonas*

Las colonias seleccionadas, presuntivas del género *Aeromonas*, se sembraron cada una en gelosa BHI y se incubaron 24 h a 37 °C. Posteriormente, se realizaron las pruebas para oxidasa, catalasa, y crecimiento con inositol y con NaCl (concentraciones de 0 %, 3% o 6%), para la diferenciación de *Aeromonas* spp., con respecto a otros grupos relacionados. Los aislamientos presuntivos del género *Aeromonas* se conservaron en medio de mantenimiento.

Extracción de DNA y protocolo de PCR

Se detectó el gen *gcat*, marcador molecular del género, por PCR simple, y los genes *ast* y *alt* por PCR múltiple, los iniciadores se presentan en el cuadro 1. El DNA se extrajo mediante el kit comercial InstaGen™ Matrix (Bio-Rad Laboratories, México), el DNA bacteriano se transfirió a un microtubo limpio y estéril de 1.5 mL y se guardó a -20 °C hasta su uso. La integridad del DNA se observó mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8 %, revelado con bromuro de etidio. Al término del tiempo se visualizaron en un documentador de geles con luz ultravioleta, fotografiando el gel con La fotografía del gel fue tomada con el programa Carestream®.

La reacción de PCR se realizó agregando a la mezcla de reacción 28.2 µL de agua, 5 µL de regulador 10 X, 7.5 µL de dNTP's (2 mM), 1.8 µL de MgCl₂ (50 mM), 1 µL de cada uno de los iniciadores *gcat* F (0.3 Mm) y *gcat* R (0.3 mM), 0.5 µL de la enzima taq y 5 µL de DNA. Las condiciones en el termociclador (Biometra, México) consistieron en un ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C por cinco minutos, seguida de 35 ciclos de una fase de desnaturalización a 95 °C por un minuto, una fase de alineamiento a 55 °C por un minuto y otra fase de extensión a 72 °C por un minuto para finalmente, tener una fase de extensión final a 72 °C por 10 minutos. Los amplicones se visualizaron mediante su desarrollo electroforético en geles de agarosa al 1 %.

Para detectar los FPV del género *Aeromonas*, se realizó una PCR múltiple para los genes de las enterotoxinas citotónicas, tanto para la termoestable *ast*, como

Cuadro 1. Secuencia de los iniciadores utilizados para la detección del gen *gcat* para la identificación de *Aeromonas* spp.

Gen blanco	Iniciadores	Tamaño	Referencia
<i>gcat</i>	<i>gcat</i> -F (5' CTGGAATCCCAAGTATCA 3') <i>gcat</i> -R (5' GCAGGTTGAACAGTATCT 3')	237 pb	Chacón, <i>et al</i> , 2003
ERIC	ERIC-F (5' ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC 3') ERIC-R (5' AAGTAAGTGACTGGGGGT 3')	-	Versalovic, <i>et. al</i> , 1991
<i>alt</i>	<i>alt</i> -F: 5' (AAAGCGTCTGACAGCGAAGT-3') <i>alt</i> -R: 5' (AGCGCATAGGCGTTCTCTT-3')	320 pb	Aguilera-Arreola, <i>et al</i> , 2005
<i>ast</i>	<i>ast</i> -F (5' ATCGTCAGCGACAGCTTCTT 3') <i>ast</i> -R (5' CTCATCCCTTGGCTTGTGT 3')	504 pb	

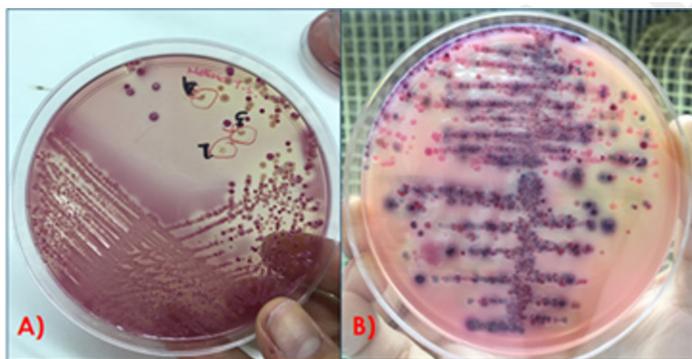


Figura 1. Morfotipos coloniales del género *Aeromonas* en medios selectivos. A) Colonias color ámbar sugerentes de *Aeromonas* spp., en medio MacConkey. B) Colonia verdes presuntivas de *Aeromonas* spp., en medio Cromocin® AGN.

para la termolábil *alt*. La reacción de PCR se realizó agregando a la mezcla de reacción 27.5 µL de agua, 5 µL de regulador 10 X, 5 µL de dNTP's (2 mM), 2.5 µL de MgCl₂ (50 mM), 1.5 µL de cada uno de los iniciadores *alt* F (0.3 Mm) y *alt* R (0.3 mM), 0.75 µL de cada uno de los iniciadores *ast* F (0.3 Mm) y *ast* R (0.3 mM), 0.5 µL de la enzima taq y 5 µL de DNA.

Las condiciones de amplificación fueron un ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C por cinco minutos, seguida de 35 ciclos de una fase de desnaturalización a 94 °C por un minuto, una fase de alineamiento a 54 °C por un minuto y otra fase de extensión a 72 °C por un minuto para finalmente, tener una fase de extensión final a 72 °C por 10 minutos. Por último, se verificó la presencia de los amplicones por electroforesis en geles de agarosa al 1.5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 20 muestras de ostiones analizadas, la inoculación en agua peptonada alcalina es un paso importante para el primo aislamiento del género *Aeromonas*; hubo crecimiento bacteriano, obteniendo 120 aislamientos en los medios de cultivo Mac Conkey y Cromocin AGN. Se seleccionaron las colonias presuntivas que presentaron los morfotipos característicos del género *Aeromonas*. Colonias circulares de borde regular de 3-5 mm de diámetro y de color ámbar, por ser lactosa negativa en el medio MacConkey, sin embargo, existen cepas de *Aeromonas* lactosa positivas, pero en un porcentaje del 1% aproximadamente (Figura 1 A) (Abbott, S., et. al, 2003). En el caso del medio cromogénico, se seleccionaron las colonias verdes con o sin halo transparente características de *Aeromonas*, el uso del medio cromogénico favoreció el aislamiento presuntivo del género *Aeromonas*, para la obtención de los 120 aislamientos, debido a sus características, además la composición del medio también fue

útil para descartar coliformes y bacterias como *P. aeuroginosa* (Figura 1B).

A todos los aislamientos presuntivos se les realizaron las pruebas de oxidasa y catalasa, las cuales fueron positiva para todos ellos; esta prueba un filtro más para descartar a la familia *Enterobacteriaceae*. La producción de citocromo oxidasa es una característica del género de interés en este estudio; sin embargo, también existen géneros bacterianos con los que se debe diferenciar al género *Aeromonas*, como es el caso de las *Plesiomonas* y *Vibrio*. (Figura 2A a1). De los 120 aislamientos presuntivos de *Aeromonas*, solamente se recuperaron 91. A estos aislamientos presuntivos, se les realizaron dos pruebas más, características para el género *Aeromonas*; la no halofilia (NaCl 6 %) y la no utilización del inositol. Todos los aislamientos presuntivos crecieron en el medio sin NaCl, pero únicamente 71/91 en medio suplementado con NaCl 3 % (halotolerancia); sin embargo, no hubo crecimiento cuando los aislamientos presuntivos se sembraron en medio suplementado con NaCl 6% (no halofilia). Está documentado que *Aeromonas* spp. no es capaz de utilizar el inositol a diferencia del género *Plesiomonas* y no puede crecer en concentraciones de NaCl al 6%, como es el caso de *Vibrio* (Castro-Escarpulli, G., et. al. 2003, Figueras y Beaz, 2015). Por otro lado, se ha demostrado que todas las especies del género *Aeromonas* son negativas a esta prueba a excepción de *A. allosaccharophila* (Abbott, S., et. al. 2003). A la luz de los resultados, se demostró la presencia de *Aeromonas* spp., descartando así a los géneros *Vibrio* y *Plesiomonas* (Figura 2 a2, b1, b2, b3).

Con estas técnicas microbiológicas, se logró identificar a los 91 aislamientos como cepas pertenecientes al género *Aeromonas*. Para confirmar que las cepas pertenecían al género *Aeromonas*, se llevó a cabo

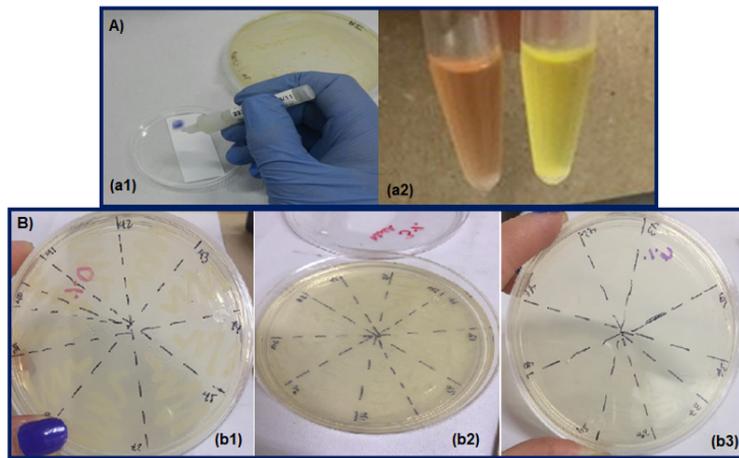


Figura 2. Pruebas para la identificación presuntiva del género *Aeromonas*. A) (a1) Prueba de oxidasa, prueba positiva a oxidasa (color morado) en colonias presuntivas del género *Aeromonas*. (a2) No utilización de inositol, no hubo crecimiento de los aislamientos presuntivos en medio suplementado con inositol (color naranja), mientras que en el control positivo (*E. coli*) el medio viró a color amarillo por la acidificación producida por la fermentación. B) Prueba de no halofilia, (b1) Control de viabilidad sin NaCl, crecieron 91/91 colonias. (b2) Con NaCl 3% crecieron 71/91 colonias (halotolerancia). (b3) Con NaCl 6% no hubo crecimiento de colonias 0/91 (no halofilia).

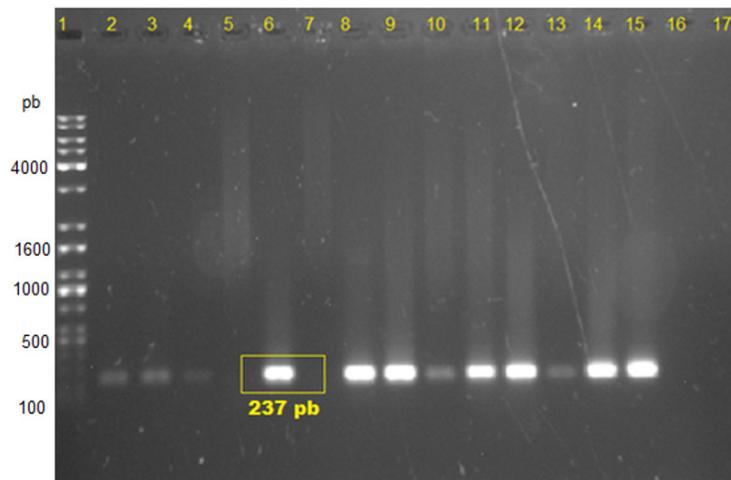


Figura 3. Electroferograma de la amplificación del gen. Se observa el amplicón de 237 pb que corresponde al gen *gcat*. 1) Marcador de talla molecular de 1000 pb. 2) control positivo (cepa 7966 de *A. hydrophila*). 3-16) aislamientos presuntivos del género *Aeromonas*. 17) control negativo (*E. coli*). Las muestras 5, 7 y 16 dieron negativas para esta prueba.

la detección del gen *gcat*. Este gen se utiliza para la identificación de este género bacteriano, debido a que está presente en todas las especies de *Aeromonas* y se le conoce como la huella molecular para este género (Chacon MR., *et. al.*; 2003). En este estudio, la identificación microbiológica fue acertada, no obstante, al realizar la identificación por técnicas moleculares, únicamente el 4% no pertenecía al género *Aeromonas*. Los 91 aislamientos presuntivos pertenecían presuntaivamente al género *Aeromonas*, con base en el metabolismo microbiano. Al realizar la PCR se detectó que solamente 88/91 aislamientos

contenían este gen, por la detección del amplicón de 237 pb, confirmando así que, solamente el 96% de los aislamientos pertenecían al género *Aeromonas*. Este porcentaje es similar a otros estudios donde inicialmente se busca a este género bacteriano por técnicas microbiológicas, pero después se debe llevar a cabo la confirmación por técnicas moleculares (Figura 3) (Beaz H., *et. al.*; 2010). (Figura 3).

En las 88 cepas confirmadas como *Aeromonas*, se buscó la presencia de los genes enterotoxina citotónica, porque se han relacionado en procesos diarreicos (Castro-Escarpulli G., *et. al.*; 2003, Hernández A., *et. al.*; 2018). Respecto a los FPV, se detectó la presencia de los genes *ast* y *alt* por PCR múltiple, el gen *ast* en 8 cepas (9 %) y el gen *alt* en 22 cepas (25 %), en 11 de las cepas (13%) se encontraron ambos genes simultáneamente (figura 4). Previamente se han estudiado con la finalidad de encontrar una asociación entre los procesos de gastroenteritis y la presencia de estos genes. Tanto la proteína *alt* como la *ast*, representan moléculas nuevas sin una homología significativa con las enterotoxinas bacterianas conocidas (Chopra AK., *et. al.*; 2003). Se ha demostrado que la toxina *alt* posee como mecanismo de acción el incremento de adenosil

monofosfato cíclico (AMPc) y de prostaglandinas en células intestinales de rata y células derivadas de ovario de hámster chino, esto ocasiona la pérdida de agua y, por consiguiente, deshidratación en el hospedante. Por su parte, la toxina *ast*, tiene similitud con la toxina colérica (Chopra AK., *et. al.*; 1997) y en estudios donde realizaron mutantes para ver el comportamiento de estas toxinas, a partir de cepas aisladas de muestras diarreicas de pacientes, se demostró que, en el bucle ileal de conejos y ratones lactantes, *ast* causó secreción de fluidos. La asociación de diarrea con sangre se asoció a otra enterotoxina citotóxica del género *Aeromonas*, mientras que las enterotóxicas citotónicas se correlacionaron con diarrea no sanguínea (Chopra AK., *et. al.*; 2003).

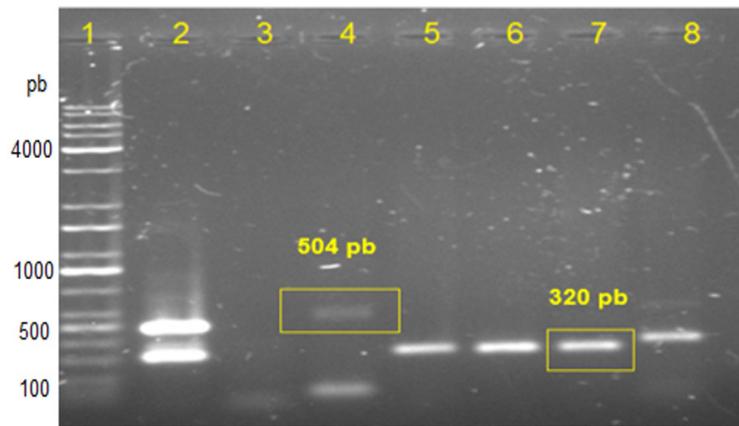


Figura 4. Electroferograma de la amplificación de los genes *ast* y *alt* en cepas de *Aeromonas*. 1) Marcador kappa universal. 2) Control positivo (cepa ATCC 7966 de *A. hydrophila* que contiene los dos genes *ast* y *alt*). 3) Control negativo (*E. coli*). 4-8) Cepas del género *Aeromonas*. Se observan los amplicones de 504 pb (gen *ast*) y 320 pb (gen *alt*).

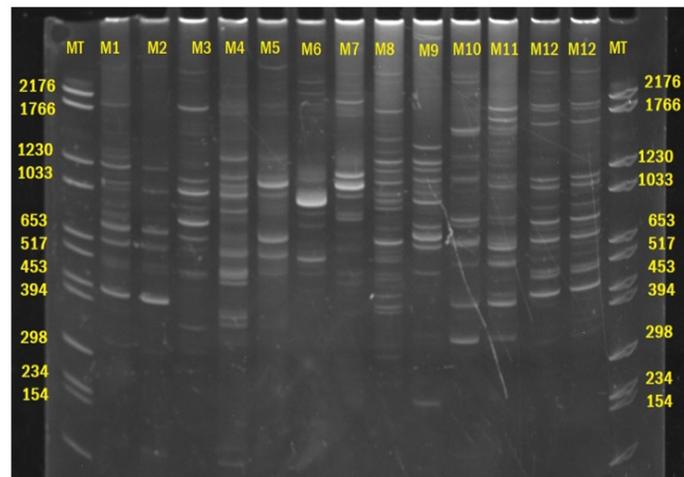


Figura 5. Electroferograma de la amplificación por PCR de las secuencias ERIC en cepas de *Aeromonas*. MT= Marcador de talla molecular. Cepas de *Aeromonas* spp. de M1 a la M12. La cepa M12 se hizo por duplicado como control para la reproducibilidad de la técnica.

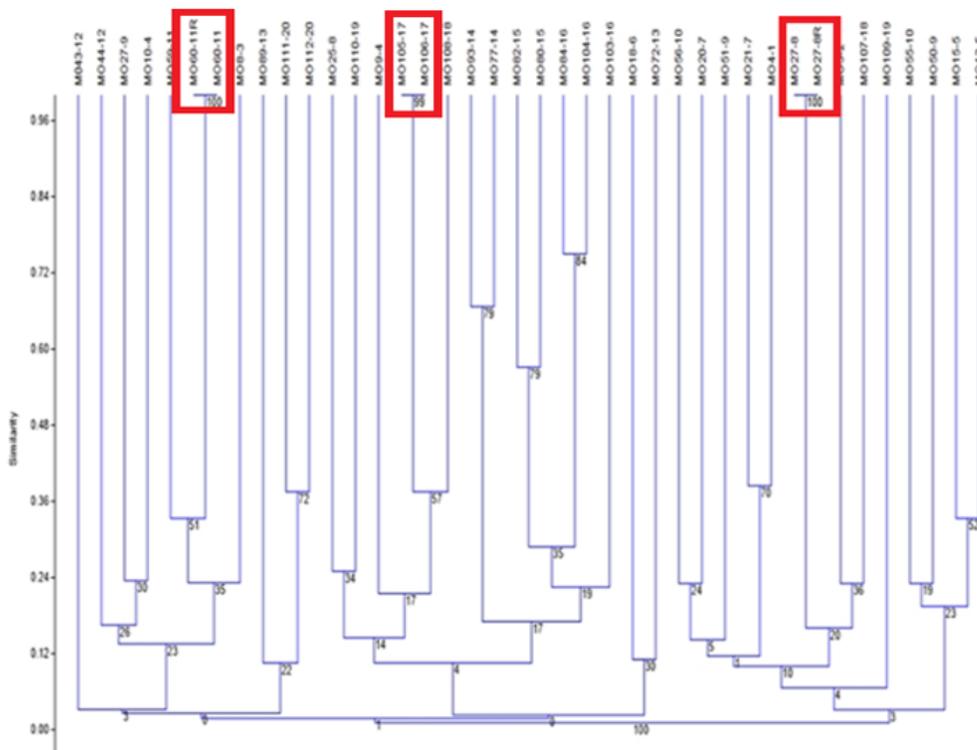


Figura 6. Relación genética de las cepas de *Aeromonas* spp. Con la información obtenida por las secuencias ERIC se generó un dendrograma para visualizar la relación genética de las cepas aisladas. No se observan conglomerados en el dendrograma, por lo que no se determinó relación clonal entre las cepas de *Aeromonas* spp. identificadas en muestras de ostiones. En los recuadros rojos se observa el duplicado de muestras como control positivo de clonalidad.

A pesar de que la detección de los genes de estas toxinas no se encontró en todas las cepas de *Aeromonas* aisladas, no puede descartarse la presencia de otros FPV de este género, los cuales también deben considerarse en estudios posteriores para saber si existe una relación entre la ingesta y los cuadros de gastroenteritis asociados a esta bacteria (Hernández A., et. al.; 2018).

Se identificaron aproximadamente 112 marcadores correspondientes a las secuencias ERIC presentes en *Aeromonas* (Figura 5), con los patrones de bandeo obtenidos de dichas secuencias se constituyó el dendrograma correspondiente con el programa PAST y se utilizó el índice de similitud de DICE. En el dendrograma se observó que existe diversidad entre las cepas y por lo tanto no se encontraron eventos de clonalidad (figura 6).

CONCLUSIÓN

Los ostiones que se distribuyen en la Ciudad de México presentan *Aeromonas*, y estas contienen los genes que codifican para los FPV. Estos resultados permiten sugerir la búsqueda del género *Aeromonas*, de manera rutinaria, en muestras de alimentos de origen marino como los ostiones y otros, para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

AGRADECIMIENTOS

Graciela Castro-Escarpulli y Miguel Antonio Ibañez Hernández recibe el apoyo de Estímulos al Desempeño en Investigación, de la Comisión y Fomento de Actividades Académicas del Instituto Politécnico Nacional y del Sistema Nacional de Investigadores (SNI, CONACyT). Este estudio fue financiado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (SIP 20194936). Luis Uriel González Ávila es becario CONACyT.

REFERENCIAS

- Abbott S L, Cheung W K, Janda J. M. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41: 2348-2357.
- Al-shalah L A. The study characters of *Aeromonas hydrophila* on some media. *Mesopotamia Environment Journal* 2017; Special Issue A: 121-129.
- Aravena-Román M, Beaz-Hidalgo R, Inglis T J, Riley T V, Martínez-Murcia A J, Chang B J, & Figueras M J. *Aeromonas australiensis* sp. nov., isolated from irrigation water. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 2013; 63(6): 2270-2276.
- Beaz Hidalgo R, Alperi A, Buján N, Romalde J L, Figueras M J. Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish. *Systematic and Applied Microbiology* 2010; 33: 149-153.
- Castro Escarpulli G, Figueras M J, Aguilera Arreola G, Soler L, Fernández Rendón L, Aparicio G, Guarro J, Chacón MR. Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 84: 41-9.
- Chacón M R, Castro Escarpulli G, Soler L, Guarro J, Figueras M J. A DNA probe specific for *Aeromonas* colonies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2003; 44: 221-225.
- Chopra A K, Jian S, Kozlova E V. Role of Various Enterotoxins in *Aeromonas hydrophila*-Induced Gastroenteritis: Generation of Enterotoxin Gene-Deficient Mutants and Evaluation of Their Enterotoxic Activity. *Infection and Immunity* 2003; 70: 1924-1935.
- Chopra A K, Ferguson M R, Xu X J, Houston C W, Peterson J W, Coppenhaver D H, & Popov V L. Hyperproduction, Purification, and Mechanism of Action of the Cytotoxic Enterotoxin Produced by *Aeromonas hydrophila*. *Infection and Immunity* 1997; 4299-4308.
- Figueras M J, Beaz-Hidalgo R. *Aeromonas*. Connecticut USA: Caister Academic Press, 2015. 65-108.
- Hernández A S, Ruiz-Moyano M J, Serradilla M C, Villalobosa A, Martínez M G. Spoilage yeasts: What are the sources of contamination of foods and beverages?. *International Journal of Food Microbiology* 2018. 286: 99-100.
- Janda J M, & Abbott S L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010; 23(1): 35-73.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. Estados Unidos. 2015
- Versalovic J, Koeuth T, Lupski J R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research* 1991. 19: 6823-6830.

Determinación de metahemoglobina en individuos con exposición crónica a nitratos.

²García Torres Edgar, ²Pérez Morales Rebeca, ⁴González Zamora Alberto, ²Ríos Sánchez Efraín, ³Alba Romero José de Jesús, ^{1*}Calleros Rincón Esperanza Yasmín ¹Salud y Medio Ambiente, FCQ-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Artículo 123 s/n, Col. Filadelfia, Mpio. Gómez Palacio, Dgo. ²Laboratorio de Biología Molecular, FCQ-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Artículo 123 s/n, Col. Filadelfia, Mpio. Gómez Palacio, Dgo. ³Laboratorio de Microbiología Clínica, FCQ-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Artículo 123 s/n, Col. Filadelfia, Mpio. Gómez Palacio, Dgo. ⁴Laboratorio de Biología Evolutiva, FCB-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Av. Universidad S/N, Fracc. Filadelfia, 35010 Gómez.

*Email: peracalleros@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Los nitratos (NO_3^-) son compuestos iónicos que se encuentran diseminados en la naturaleza. Por medio de la acción microbiana los NO_3^- puede ser reducido a nitritos, donde estos últimos representan la forma iónica más reactiva. Estos compuestos están implicados en la formación de metahemoglobina (MetHb), que es la forma oxidada de la hemoglobina (Hb) la cual no permite un correcto transporte de oxígeno, además de enfermedades como el cáncer (por compuestos N-nitrosos) y alteraciones en el sistema endocrino. La MetHb circulante en condiciones normales no sobrepasa el 1.5% del total de Hb, cuando esto ocurre, se puede dar paso a un cuadro clínico de gravedad caracterizado por cianosis. Las comunidades de la zona rural de la Ciudad de Lerdo, Durango, se caracterizan por tener actividades antropogénicas que han sido relacionadas a una contaminación de suelos y mantos acuíferos por NO_3^- . **Objetivo:** Determinar los niveles de MetHb en individuos con exposición crónica a NO_3^- . **Materiales y métodos:** Estudio transversal, realizado en 5 comunidades de la zona rural de la Ciudad de Lerdo, Durango. Como universo de estudio, fueron individuos residentes de las comunidades, previa invitación, firmaron una carta de consentimiento informado y contestaron un cuestionario. El tamaño de muestra fue de 87 individuos con residencia mayor a 1 año y consumo de agua, para beber y cocinar alimentos, directamente de la llave. Se tomó muestra sanguínea por venopunción en tubo con EDTA. La MetHb se determinó utilizando el método empleado por Sakata y cols., (1982). Se realizó análisis estadístico univariado y bivariado, utilizando el software R Studio. **Resultados:** Se encontró un 82% de la población estudiada con niveles de MetHb que sobrepasan el nivel de referencia. **Conclusiones:** La exposición crónica a niveles altos de nitratos está relacionada a la presencia y aumento de metahemoglobina por encima de los valores considerados como normales.

Palabras clave: Nitratos, Metahemoglobina, agua de bebida contaminada.

ABSTRACT

Introduction: Nitrates (NO_3^-) are ionic compounds that are distributed in nature. Through the microbial action NO_3^- can be reduced to nitrites, where the latter represents the most reactive ionic form. These compounds are involved in the formation of methemoglobin (MetHb), which is the oxidized form of hemoglobin (Hb), which does not allow a correct transport of oxygen, and also related to diseases such as cancer (by N-nitrous compounds) and alterations in the endocrine system. Circulating MetHb under normal conditions does not exceed 1.5% of the total Hb, when this occurs, a clinical sign of severity can occur characterized as cyanosis. The communities of the rural area of the City of Lerdo, Durango, are characterized by anthropogenic activities that have been related to contamination of soil and aquifers by NO_3^- . **Objective:** To determine MetHb levels in individuals with chronic exposure to NO_3^- . **Materials and methods:** Cross-sectional study, conducted in 5 communities in the rural area of the City of Lerdo, Durango. The universe of the study were resident individuals of the communities, upon invitation, signed an informed consent letter and answered a questionnaire. The sample size was 87 people with residence over 1 year and water consumption, to drink and cook food, directly from the tap. The blood sample was obtained by vein puncture in a tube with EDTA. MetHb was determined using the method used by Sakata et al., (1982). The statistical analysis was univariate and bivariate, R Studio Software was used. **Results:** 82% of the population studied was found with MetHb levels that exceed the reference level. **Conclusions:** Chronic exposure to high levels of nitrates is related to the presence and increase of methemoglobin above the values determined as normal.

Keywords: Nitrates, Methemoglobin, contaminated drinking water.

INTRODUCCIÓN

El ciclo del nitrógeno (N), tradicionalmente, comprende tres etapas principales, las cuales son la fijación del N, la nitrificación y por último la desnitrificación; sin embargo, el entendimiento de muchos procesos de transformación y de estados de oxidación del N siguen sin descifrarse por completo (Stein y Klotz, 2016). Los nitratos (NO_3^-) son compuestos iónicos, que conforman parte del ciclo del N, y que se encuentran de manera natural y artificial diseminados en la naturaleza. Los NO_3^- son el resultado de la oxidación del N, se considera a estos como la forma oxidada más estable de estos compuestos, sin embargo, frente a la presencia de condiciones anaerobias y mediante la presencia de una fuente de carbono y la acción de microbiana pueden ser reducidos a nitritos (NO_2^-) la cual es la forma menos estable y más reactiva (WHO, 2017). Los NO_3^- tienen una gran importancia como nutrientes para las plantas, su principal uso en la agricultura es en forma de fertilizantes, en la industria alimentaria se utilizan NO_3^- y principalmente NO_2^- como conservadores y realzadores del sabor y color en embutidos y carnes curadas, en la industria farmacéutica se utilizan como antihipertensivos (ATSDR, 2017). Los NO_3^- se encuentran tanto en suelos como en agua, y son un producto final de la descomposición de plantas y animales; la ganadería intensiva, la agricultura desmedida y las aguas residuales son las principales fuentes productoras de estos compuestos y es gracias a la lixiviación que sufren que se depositan en mantos acuíferos en grandes cantidades, resultando en una forma importante de contaminación (Sahoo et al, 2015; Wongsanit et al, 2015). En los mamíferos las dos principales fuentes de exposición a estos compuestos se dan por dos vías, la primera es endógena y contempla la producción de óxido nítrico (ON) para después formar productos resultantes de su oxidación como NO_3^- y NO_2^- (Lundberg et al, 2018), lo anterior, a partir del grupo guanidilo que se encuentra en la L-arginina en el endotelio vascular, por medio de un grupo de enzimas óxido-nítrico-sintetasa (Duarte et al, 2008), la reacción de ON y oxihemoglobina produce NO_3^- y metahemoglobina (MetHb) (Moncada y Higgs, 1993). La segunda vía es exógena y contempla a los NO_3^- obtenidos a través de la dieta y la ingesta de agua contaminada con estos compuestos (Nujic y Stanic, 2017). Aquí, los NO_3^- inorgánicos obtenidos de la dieta son rápidamente absorbidos por el intestino delgado, la mayor parte es eliminada por la orina, pero cerca del 25% es captado por las glándulas salivales y depositado en la boca a través de la saliva, aquí, las bacterias anaerobias facultativas de

la boca en conjunto con enzimas-nitrato-reductasas reducen el NO_3^- a NO_2^- , después son nuevamente absorbidas por el intestino delgado y otra parte no absorbida se elimina por los riñones, para completar y reanudar así la circulación entero-salivar de los NO_3^- (Lundberg et al, 2008). Dado a que la principal vía de exposición a estos compuestos es a través de la dieta y específicamente del agua de bebida contaminada, diversas instancias reguladoras han establecido límites permisibles para estos compuestos a fin de tener una calidad en el agua de consumo humano. La Organización Mundial de la Salud, establece para el NO_3^- un límite de 50 mg/L como ion NO_3^- en agua de consumo (equivalente a 11 mg/L de N-de NO_3^-); mientras que para el NO_2^- establece 3 mg/L como ion NO_2^- (equivalente a 0.9 mg/L de N-de nitrito) (WHO, 2017). Mientras que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos determinó como nivel máximo de contaminante (MCL, por sus siglas en inglés) y máximo nivel de contaminante óptimo (MCLG, por sus siglas en inglés) para NO_3^- 10 mg/L de N-de NO_3^- (10 partes por millón o 44 mg/L de ion NO_3^-) y para NO_2^- 1 mg/L de N- NO_2^- (1 parte por millón o 3.3 mg/L de ion NO_2^-) (US EPA, 2018). En México, existe la Norma Oficial Mexicana 127-SSA con modificación en el año 2000, que establece un límite de 10 mg/L de N- NO_3^- y de 1 mg/L de N- NO_2^- , para el agua de consumo humano (NOM-127-SSA). Estos límites se establecieron a partir de un estudio realizado en Estados Unidos, llevado a cabo por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA, por sus siglas en inglés) en 1951, donde se detectaron 278 casos de MetHb, donde ningún caso se observó en áreas donde se tuvo un consumo de agua con concentraciones < 10 mg/L N- NO_3^- (Walton, 1951).

La MetHb, es el resultado de la oxidación del hierro dentro de la hemoglobina (Hb), provocando un cambio de su estado ferroso a férrico, que provoca un inadecuado transporte de oxígeno hacia los tejidos y ocasiona hipoxia y cianosis, cuadros clínicos que pueden desembocar en una condición mortal, sobre todo en niños, quienes tienen la enzima metahemoglobina reductasa (citocromo b5 reductasa) dependiente de NADPH (Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato) de forma inmadura o incapaz de contrarrestar tal oxidación de la Hb (Johnson, 2019; Zarate et al, 2013). En condiciones normales, el porcentaje de MetHb circulante en el organismo es del 1.5-2% del total de la Hb (WHO, 2017; ATSDR, 2017). La MetHb puede ser congénita o adquirida, la primera relacionada a defectos moleculares o funcionales del citocromo b5 reductasa, mientras que la segunda está ligada a la ingesta o por el contacto

con agentes químicos oxidantes, en cualquiera de sus presentaciones sean estas la alimentaria, farmacéutica, química o agrícola de manera intencional o presentes de manera natural en el medio ambiente. La forma adquirida es la principal causa de esta condición en la sangre (Herranz y Clerigue, 2013; Larios, 2009). La Comarca Lagunera, representa la principal cuenca lechera del país, que en 1949 iniciaba un camino hacia las actividades ganaderas tras el colapso de las actividades agrícolas que, aunadas al crecimiento urbano, representan las principales actividades antropogénicas de la región y que permiten una acumulación de compuestos nitrogenados en el medio ambiente, los suelos y mantos acuíferos utilizados para el riego y consumo humano (Cerutt y Rivas, 2008). Se han determinado concentraciones de NO_3^- en agua para consumo humano de hasta 11.8 mg/L de N-de NO_3^- y de hasta 124 mg/L de N-de NO_3^- en agua destinada para riego agrícola (Calleros et al, 2012). En estudios previos, realizados por el grupo de trabajo, se ha propuesto a la MetHb como un biomarcador de exposición, dadas las condiciones de la zona de estudio (Calleros et al, 2018). Por todo lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la MetHb en individuos con exposición crónica a NO_3^- a través del consumo de agua, a fin de conocer el impacto de estos compuestos en la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal, mismo que se llevó a cabo en cinco localidades rurales de la Ciudad de Lerdo, Durango. A saber, Villa La Loma, San Jacinto, 21 de marzo, Villa Juan E. García y Villa Nazareno. El universo de estudio contemplo a los habitantes de dichas localidades, el muestreo se realizó por medio de conglomerados, donde cada localidad represento un conglomerado, el tamaño de la muestra fue por conveniencia dando un total de 87 individuos. Dentro de los criterios de inclusión se tiene cualquier sexo,

cualquier edad, residentes de su localidad por más de un año, utilizar agua, para beber y cocinar alimentos, directamente de la llave. Previa información e invitación a participar en el estudio, a los habitantes se les dio a firmar una carta de consentimiento informado y la aplicación de un cuestionario con preguntas de interés para el estudio. Acto seguido, se les tomo muestra sanguínea por venopunción, recolectada en tubo con EDTA como anticoagulante. La determinación de metHb se realizó mediante el método espectrofotométrico reportado por Sakata y cols., (1982), que se basa en la determinación de 4 lecturas a 630nm. Para su determinación se emplearon 100 μL de sangre con los cuales se realiza un hemolizado que contenía 3.9 mL de agua destilada, 4 mL de regulador de fosfatos pH 6.6. Posteriormente, se colocó 1 mL de hemolizado en una celdilla para espectrofotómetro y se realizó la primera lectura (D1). A la muestra anterior se le añadieron 100 μL de azida de sodio 70 mM/L y se mezcló brevemente para realizar la segunda lectura (D2). En una segunda celdilla se colocó 1 mL de hemolizado nuevamente y se le adicionó 100 μL de ferricianuro de potasio al 5%, se incubó durante 2 minutos a temperatura ambiente para su posterior lectura (D3). Finalmente, a la celdilla anterior se le adicionaron 100 μL de azida de sodio 70 mM/L y se obtuvo la absorbancia (D4). Es importante mencionar que cada lectura se realizó contra un blanco que contenía regulador de fosfatos, pH 6.6. El nivel considerado como normal fue de 1.5% de MetHb, el cálculo del porcentaje de metahemoglobina se determinó mediante la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de MetHb} = \frac{D1 - D2}{D3/D4} \times 100$$

El análisis estadístico univariado y bivariado se realizó utilizando el paquete estadístico de libre acceso R Studio, 2019.

Tabla 1. Características generales de la población de estudio.

n=87	Media (mín-máx)	Frecuencia	%
Edad	21 (2-72)		
Sexo			
Hombres		27	31
Mujeres		60	69
Ocupación			
Ama de casa/Hogar		46	53
Estudiante		30	34.5
Campesino		1	1
Otras ocupaciones		10	11.5
Agua para consumo			
Hervida		2	2
No hervida		85	98

RESULTADOS

En la tabla 1, se muestran las características de la población de estudio. En la tabla 2, se muestra la distribución del porcentaje de metahemoglobina en la población de estudio.

En la tabla 3, se muestran los niveles de MetHb, en las diferentes localidades, distribuido según la concentración de NO_3^- en el agua de consumo humano.

Un resultado interesante fue la correlación de Pearson entre los niveles de MetHb y las concentraciones de NO_3^- en el agua de consumo humano, tabla 4; a pesar de no tener una significancia estadística, se puede observar una correlación en la cual a mayor concentración de NO_3^- se presentan mayores niveles de MetHb, gráfica 1.

Tabla 2. Determinación del porcentaje de metahemoglobina en la población de estudio.

Parámetro	n	Mediana (mín-máx.)	Referencia	n (%) Superior a referencia
MetHb (%)	87	2.41 (0.26-12.35)	1.5	71 (82)

Tabla 3. Niveles de MetHb distribuidos por concentración de NO_3^- en agua para consumo, en las diferentes localidades de estudio.

n	Localidad	Concentración de NO_3^- (mg/L) en agua para consumo*	MetHb Media \pm D.E.
24	21 de Marzo	32.19	2.56 \pm 1.82
17	Villa Nazareno	45	2.54 \pm 1.26
24	Villa Juan E. García	47.08	2.58 \pm 1.84
10	San Jacinto	48.58	2.73 \pm 2.18
12	Villa La Loma	56.09	4.25 \pm 1.64

* Datos obtenidos en un estudio previo, llevado a cabo por el equipo de trabajo en el 2018.

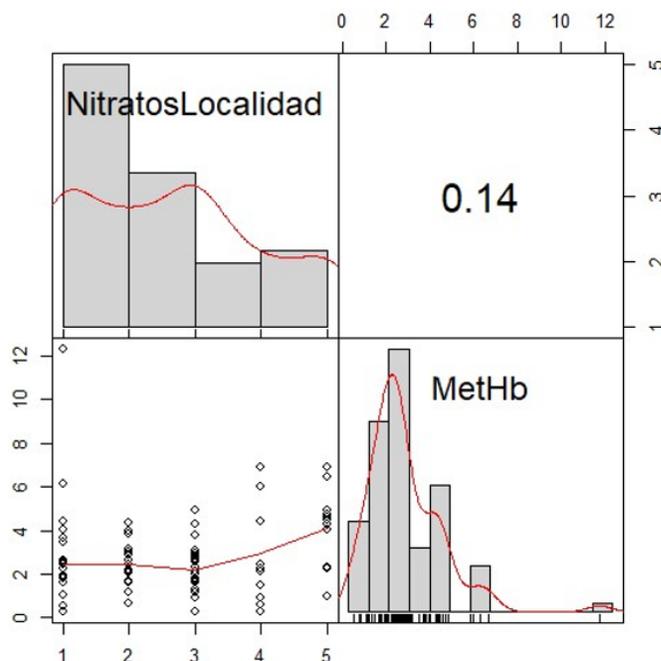
Tabla 4. Análisis de correlación de Pearson entre la concentración de NO_3^- en el agua de consumo humano y los niveles de MetHb.

		Concentración de NO_3^- en agua de consumo humano por localidad	Niveles de MetHb
Concentración de NO_3^- en agua de consumo humano por localidad	Correlación Pearson	1	0.14
	Sig. (Bilateral)		0.18
	N	87	87
Niveles de MetHb	Correlación Pearson	0.14	1
	Sig. (Bilateral)	0.18	
	N	87	87

Tabla 5. Análisis de correlación de Pearson entre la edad y los niveles de MetHb.

		Edad	Niveles de MetHb
Edad	Correlación Pearson	1	0.13
	Sig. (Bilateral)		0.22
	N	87	87
Niveles de MetHb	Correlación Pearson	0.13	1
	Sig. (Bilateral)	0.22	
	N	87	87

Gráfico 1. Correlación de Pearson entre los niveles de MetHb y las concentraciones de NO_3^- en el agua de consumo humano.



Recuadro inferior izquierdo. Eje Y: 0-12, Niveles de MetHb (%). Eje X: 1, 21 de marzo; 2, Villa Nazareno; 3, Villa Juan E. García; 4, San Jacinto; 5, Villa La Loma, concentración de NO_3^- en agua de consumo humano por localidad.

El análisis de correlación de Pearson entre la edad y los niveles de MetHb se observan en la tabla 5.

DISCUSIÓN

Una de las formas para medir el impacto de las actividades antropogénicas en el suelo y el agua es a través de la determinación de NO_3^- , NO_2^- , sulfatos y fosfatos, considerados como indicadores de contaminación humana. Altas concentraciones de estos compuestos, que alcanzan y sobrepasan los niveles permisibles, en zonas urbanas y regiones dedicadas a la agricultura y ganadera demuestran un uso desmedido de fertilizantes nitrogenados, producción excesiva de aguas residuales y excretas animales que terminan en los mantos acuíferos por medio de la lixiviación, resultando en una contaminación del agua destinada para el consumo humano y animal (Bolaños et al, 2017; Mabroka et al, 2018). Las concentraciones de NO_3^- determinadas en los pozos de agua para el consumo humano en la región rural de Ciudad Lerdo, en estudios previos, ponen de manifiesto el problema actual de contaminación acuífera que tienen esta zona dedicada a la agricultura y ganadería, y del riesgo que representa para la salud sus pobladores.

Se ha mencionado que la exposición crónica a concentraciones por encima de los niveles permisibles de NO_3^- , tiene relación con enfermedades como cáncer de colon, alteraciones endocrinas, y defectos del tubo neural, además de Metahemoglobinemia (Ward, 2018; Khazenzi et al, 2014). Esto coincide con los resultados de este estudio, pues el 82% de las personas expuestas de manera crónica a concentraciones altas de estos compuestos presentan alteración de los niveles de MetHb siguiendo una tendencia, aunque no significativa, si perceptible a medida que aumentan las concentraciones en el agua. Por otra parte, la principal causa de metahemoglobinemia, es por una exposición aguda a compuestos oxidantes, fármacos y agentes químicos en su mayoría (Gómez et al, 2017; Lepe et al, 2015; Alanazi, 2017), afectando principalmente a niños. Los niveles de MetHb presentes en la población de estudio contemplan mediciones tanto en niños como en adultos, y se atribuye esta condición a la exposición por compuestos nitrogenados en el agua de bebida, como lo son los NO_3^- , pues mediante el cuestionario, se descarta la exposición a otro tipo de elementos que pudieran desencadenar esta afección.

CONCLUSIÓN

La exposición crónica a niveles altos de nitratos está relacionada a la presencia y aumento de metahemoglobina por encima de los valores considerados como normales.

REFERENCIAS

Stein L Y, Klotz M G. The nitrogen cycle. *Current Biology* 2016;26 suppl 3: R94-R98. doi: 10.1016/j.cub.2015.12.021

Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2017. Toxicological profile for Nitrate and Nitrite. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Sahoo PK, Kim K, Powell MA. Managing Groundwater Nitrate Contamination from Livestock Farms: Implication for Nitrate Management Guidelines. *Curr Pollution Rep* 2016; 2: 178. <https://doi.org/10.1007/s40726-016-0033-5>

Wongsanit J, Teartisup P, Kerdsueb P, et al. Contamination of nitrate in groundwater and its potential human health: a case study of lower Mae Klong river basin, Thailand. *Environ Sci Pollut Res* 2015;22: 11504. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4347-4>

Lundberg J O, Carlström M, Weitzberg E. Metabolic Effects of Dietary Nitrate in Health and Disease. *Cell Metabolism* 2018;28 suppl 1: 9-22. doi: 10.1016/j.cmet.2018.06.007

Duarte MJ, Espinosa LRF, Díaz MS, Sánchez RG, et al. Óxido nítrico: metabolismo e implicaciones clínicas. *Med Int Mex* 2008;24 suppl 6:397-406

Moncada S, Higgs, A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 329, 2002-2012 (1993)

Marija Nujić, Mirna Habuda-Stanić. Nitrates and nitrites. *Food in Health and Disease, scientific-professional journal of nutrition and dietetics* 2017; 6 suppl 2 63-72

Lundberg J O, Weitzberg E, Gladwin M T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery* 2008;7 suppl 2, 156-167. doi:10.1038/nrd2466

US EPA. Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories, 2018

Norma Oficial Mexicana. NOM- 127-SSA, modificación año 2000.

Walton G. Survey of literature relating to infant methemoglobinemia due to nitrate-contaminated water. *Am J Public Health Nations Health* 1951;41(8 Pt 1):986-996. doi:10.2105/ajph.41.8_pt_1.986

Johnson S F. Methemoglobinemia: Infants at risk. *Current problems in pediatric and adolescent health care* 2019; 49 suppl 3, 57-67.

Zárate-Aspiros R, Rosas-Sumano A B, Sánchez-Ramírez A R, Trujillo-Martínez G. Metahemoglobinemia congénita. Informe de un caso. *Acta Pediátrica de México* 2013; 34 suppl 1, 39-42.

Herranz M, Clerigué N. Intoxicación en niños: Metahemoglobinemia. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* 2013;26 suppl 1, 209-223.

Larios Ortiz Luis. Metahemoglobinemia en niños: situación Actual. *Revista Archivo Médico de Camagüey* 2009;13 suppl 3

Cerutti Mario, Rivas Sada Eva. La construcción de la cuenca lechera en la Laguna (1948-1975). *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)* 2008;16 suppl 31, 165-204

Calleros Rincón Esperanza Yasmín, et al. Caracterización de una zona contaminada por nitratos y su impacto en la salud humana. Género, ambiente y contaminación por sustancias químicas 2012; p. 35.

Esperanza Yasmin Calleros Rincón, Rebeca Pérez Morales, Alberto González Zamora, José de Jesús Alba Romero, Bertha Yasmín Ávalos Calleros, Edgar Héctor Olivas Calderón. Metahemoglobina y cuerpos de Heinz como biomarcador de exposición a nitratos en niños. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* 2018; 9 suppl 21: 15-29

Bolaños-Alfaro John Diego, Cordero-Castro Gloriana, Segura-Araya Gloriana. Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). *Revista Tecnología en Marcha*, 2017; 30 suppl 4:15-27.

Daw Mabroka Mohamed, Ali Elhadi Ramadan, Toriman Mohd Ekhwan. Nitrate contamination in groundwater agricultural of Samno and Elzegan area, Fazan region, Libya. *Int J Eng Technol* 2018;7 suppl 2.29: 56-59.

Ward Mary H, et al. Drinking water nitrate and human health: an updated review. *International journal of environmental research and public health*, 2018; 15 suppl 7:1557.

Khazenzi Judith A, et al. Risk among consumers of nitrate contaminated groundwater in Langas, Eldoret, Kenya. *Baraton Interdisciplinary Research Journal* 2014;3 suppl 2: 41-50.

Gómez Vega Iván, Franyuti Kelly Giorgio, Hornelas Vargas Anapaula. Metahemoglobinemia severa secundaria a sobredosis de dapsona, reporte de caso. *Medicina crítica (Colegio Mexicano de Medicina Crítica)* 2017;31 suppl 5:285-287.

Lepe-Zúñiga José L, Aguilar-Gómez Luis E, Godínez-Téllez Noemí C. Metahemoglobinemia adquirida en el recién nacido asociada con benzocaína y paracetamol. *Boletín médico del Hospital Infantil de México* 2015;72 suppl 4:271-275.

Alanazi Menyfah Q. Drugs may be induced methemoglobinemia. *J Hematol Thrombo Dis* 2017;5 suppl 3: 1-5.

Cuerpo Académico UJE-CA-131 Ciencias Farmacoquímicas de Productos Naturales

LGAC: Farmacoquímica de los Productos Naturales

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Resistencia bacteriana a los antibióticos y búsqueda de serotipos bacterianos de interés clínico	<p data-bbox="672 625 1000 657">Concepción García Luján</p> 	
Productos naturales con propiedades bioactivas en plantas del semidesierto y en productos de la colmena		
Desarrollo de diversos productos a base de cera de candelilla (<i>Euphorbia Antisiphylitica</i>)	<p data-bbox="704 1066 967 1098">Miguel Téllez López</p> 	
Aislamiento e identificación de alcaloides presentes en las hojas de <i>Coffea arabica</i>		
Evaluación hipoglucemiante de diversas especies vegetales		
Actividad biológica, farmacológica e inhibición enzimática de los géneros <i>Cirsium Silybum</i>	<p data-bbox="695 1577 977 1608">Ruth Alanís Bañuelos</p> 	
Relevancia de polimorfismos genéticos para las reacciones adversas y la respuesta clínica a fármacos		
Biofortificación de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. con selenio		

INGENIERIO QUÍMICO EN ALIMENTOS

Perfil de Ingreso

Conocimientos básicos e interés en las áreas de: Química, Física, Matemáticas y Biología.

Ser creativo y observador, capacidad de síntesis y análisis crítico, afinidad y gusto por la investigación y el trabajo en laboratorio.

Ser responsable, perseverante, propositivo y tener interés por el mejoramiento sociocultural y económico.

Perfil de Egreso

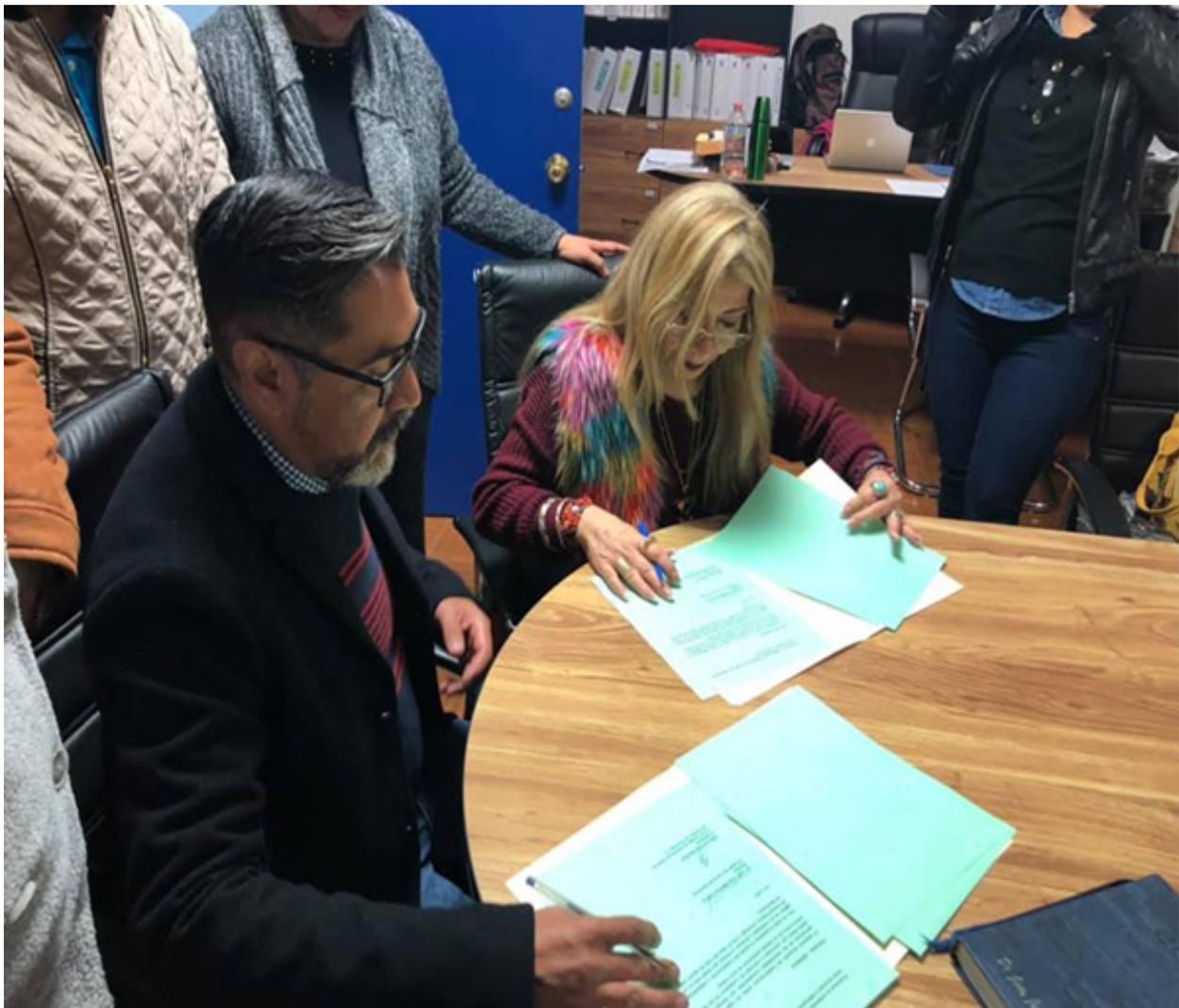
Controlar, diseñar y analizar proceso fisicoquímicos y biológicos en alimentos.

Desarrollar tecnología propia para el procesamiento, conservación y empaques de alimentos.

Investigación y desarrollo de nuevos productos alimenticios.

MICROBIOLOGÍA

(Clínica, Veterinaria, Vegetal)



"Más vale vergüenza en el rostro que mancha en el corazón"
Miguel de Cervantes Saavedra (1547-1616); escritor español.

Factores putativos de virulencia de cepas de *Aeromonas* aisladas en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México

¹Pelcastre-Rodríguez Leda Ivonne; ¹Colmenero-Solís Raúl de Jesús; ¹González-Ávila Luis Uriel;
²Hernández-Sánchez Eva Aurora; ^{1*}Castro-Escarpulli Graciela

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n. Colonia Plutarco Elías Calles, Alcaldía Miguel Hidalgo. cp. 11340. Ciudad de México, México.

² Hospital de Infectología Centro Médico Nacional "La Raza", IMSS, Calzada Vallejo, Paseo de las Jacarandas S/N, La Raza, Gustavo A. Madero, 02990 Ciudad de México, México.

*Email: chelacastro@hotmail.com

RESUMEN

El ambiente hospitalario constituye un reservorio importante de microorganismos capaces de generar infecciones. Los microorganismos de origen ambiental pueden transmitirse por diferentes rutas y se relacionan con áreas, concéntricas y confluentes, en función a la proximidad que tienen con el paciente. Por otro lado, en ocasiones, no se dispone de recomendaciones para prevenir, monitorizar o controlar la presencia de estos, como es el caso del género *Aeromonas* considerado como un patógeno emergente, ya que posee múltiples factores putativos de virulencia que se asocian al desarrollo de infecciones. El objetivo del presente trabajo fue: Demostrar la presencia del género *Aeromonas* en el ambiente hospitalario, así como detectar los genes que codifican para algunos factores putativos de virulencia, lo que permitirá reconocer cepas potencialmente virulentas como un factor de riesgo de infección.

Se identificaron los aislamientos a nivel de género por la detección del gen *gcat*, posteriormente se realizó la identificación a nivel de especie por la técnica de RFLP-PCR del gen *16S rRNA* y *rpoD*, por otro lado, la tipificación se realizó por la técnica de ERIC-PCR, además se realizó la detección de seis factores putativos de virulencia.

Se obtuvieron 24 aislamientos identificados como *A. caviae* (15/24), *A. hydrophila* (2/24), *A. media* (1/24), *A. rivuli* (1/24) y *A. enteropelogenes* (5/24). No se presentaron eventos de clonalidad entre estas y se detectaron diferentes genes que codifican para algunos factores putativos de virulencia como *exu* (6/24), *lafA* (3/24), *amoA* (11/24), *hgp* (12/24) *aer/hem* (12/24), *stx1* (0/24), *stx2* (0/24), *ast* (7/24) y *alt* (5/24). La presencia de especies del género *Aeromonas* en el ambiente hospitalario podría representar un riesgo de infección para los pacientes que son tratados en dicho hospital.

Palabras clave: *Aeromonas*, Factores putativos de virulencia, ambiente hospitalario.

ABSTRACT

The hospital environment constitutes an important reservoir of microorganisms capable of generating infections. The microorganisms of environmental origin can be transmitted by different routes and are related to concentric and confluent areas, depending on the proximity they have with the patient. Alternatively, sometimes, there are no recommendations to prevent, monitor or control their presence, as is the case of the genus *Aeromonas* considered an emerging pathogen, since it has multiple putative virulence factors that are associated with the development of infections. The objective of this study was: to demonstrate the presence of the genus *Aeromonas* in the hospital environment, as well as to detect genes coding for some putative virulence factors, which will allow to recognize potentially virulent strains as a risk factor for infection. The isolates were identified to genus level by the detection of the *gcat* gene, subsequently identification to species level was performed by the RFLP-PCR technique of the *16S rRNA* and *rpoD* gene. Moreover, the typing was performed by ERIC-PCR technique, in addition, six putative virulence factors were detected by endpoint PCR. 24 isolates identified as *A. caviae* (15/24), *A. hydrophila* (2/24), *A. media* (1/24), *A. rivuli* (1/24) and *A. enteropelogenes* (5/24) were obtained. There were no clonal events between them, and different genes coding for some putative virulence factors such as *exu* (6/24), *lafA* (3/24), *amoA* (11/24), *hgp* (12/24) *aer/hem* (12/24), *stx1* (0/24), *stx2* (0/24), *ast* (7/24), and *alt* (5/24) were detected. The presence of species of the *Aeromonas* genus in the hospital environment could represent a risk of infection for patients who are treated in the hospital.

Key words: *Aeromonas*, putative virulence factors, hospital environment.

}

INTRODUCCIÓN

Una Infección adquirida en el hospital (IAH), también llamada Infección asociada a la atención de la salud (IAAS), es aquella condición localizada o generalizada, resultante de la reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o su toxina, que se adquiere durante el curso del tratamiento para otras condiciones y se hace aparente después de 48 h del ingreso del paciente al hospital, o después de transcurridas 48 a 72 h del egreso hospitalario que no se encontraba presente, o en periodo de incubación, al momento del ingreso (Chávez, B., 2004; Cardoso, T., *et al.*; 2014).

Las infecciones hospitalarias se producen por el contacto del paciente con tres posibles fuentes: su propia microbiota, los patógenos presentes en otros pacientes o en el personal sanitario y por patógenos presentes en el ambiente hospitalario. Se considera que el origen más importante de infección nosocomial es la microbiota endógena, pero se estima que el 20 - 40 % de las infecciones se adquieren de forma horizontal de otros pacientes o personal y el 20 %, del ambiente (Weinstein, R., 1991). Los microorganismos de origen ambiental pueden transmitirse tanto por contacto directo o indirecto, por inhalación, a través del agua, de la comida o de las soluciones intravenosas (Schulster, L., *et al.*; 2003).

Estas infecciones están relacionadas con patógenos específicos y para establecer una causa ambiental es necesario demostrar de modo eficiente la transmisión y la relación genética entre los aislados clínicos y ambientales mediante métodos de tipificación con suficiente capacidad discriminativa (Ruiz-Camps, I., *et al.*; 2010).

En muchas ocasiones, a pesar de conocerse la relación causal con el ambiente hospitalario, no se dispone de recomendaciones para prevenir, monitorizar o controlar estos patógenos como es el caso del género *Aeromonas* el cual esta ampliamente distribuido en el ambiente y los principales factores putativos de virulencia asociados a enfermedades son principalmente exotoxinas, exoenzimas, endotoxinas, sideróforos, flagelos, cápsula, así como la capacidad de adherencia (Arteaga-Garibay, R., *et al.*; 2006). Se han realizado numerosos estudios para elucidar los mecanismos de patogenicidad en las infecciones causadas por este microorganismo y no se ha logrado establecer de forma contundente, por lo cual se considera que es un proceso multifactorial. Por otro lado, en México son pocos los estudios en donde ha reportado el aislamiento de este género en ambientes hospitalarios como uno de ellos es el estudio realizado

por Alba-Romero y colaboradores en el 2014 en donde se aislaron especies del género *Aeromonas* en aire acondicionado de hospitales e instituciones públicas de Gómez Palacio en Durango, donde se sugiere se realicen monitoreos bacteriológicos de rutina ya que representa un riesgo para la mayoría de los pacientes hospitalizados. El género *Aeromonas* posee múltiples factores putativos de virulencia que se asocian al desarrollo de infecciones. El detectar los genes que codifican para algunos de estos factores permitirá reconocer cepas potencialmente virulentas que podría considerarse un factor de riesgo de infecciones y la relación con la presencia de dicha bacteria en el sistema de agua potable, alimentos, insumos y pacientes en hospitales de tercer nivel en la ciudad de México. Por lo que en este trabajo se propone evidenciar la presencia del género *Aeromonas* en ambiente hospitalario, así como detectar algunos factores putativos de virulencia que permitirá reconocer cepas potencialmente virulentas como un factor de riesgo de infección.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajaron 24 aislamientos del Hospital de Infectología Centro Médico Nacional "La Raza" y del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional "Siglo XXI", estos se identificaron previamente por el sistema automatizado VITEK 2 como *Aeromonas hydrophila / caviae* o *Aeromonas salmonicida* adicionalmente se determinó el perfil de resistencia a antimicrobianos se clasificaron las cepas con base en lo establecido por Magiorakos, A. y colaboradores en el 2012. Dichas cepas fueron aisladas de muestras de agua, alimentos como dietas poliméricas e hidrolizados de fórmulas lácteas, detergentes de uso quirúrgico y de biopsias de pacientes recolectadas en un periodo de agosto del 2017 a agosto del 2018.

Extracción de DNA

Se realizó la extracción de DNA con el sistema comercial InstaGene Matrix® (Bio-Rad), con base en las indicaciones del fabricante. Se tomaron de 2 a 3 colonias para hacer una suspensión en agua estéril, se centrifugó a 11 269 x g durante 1 min, el botón se resuspendió en 200 µL de la matriz del kit y fue llevado a incubación en baño maría a 56 °C durante 30 min, al finalizar se llevó a ebullición durante 8 min, posterior a este paso se centrifugó a 11 269 x g durante 2 min, y se recuperó el sobrenadante en donde se encontraba el DNA, el cual se conservó a -20 °C hasta su uso.

Reacción en Cadena de la Polimerasa

La amplificación mediante la PCR del gen *gcat* se llevó a cabo en un termociclador (Biometra). Aproximadamente 300 ng del DNA genómico se sometió a la amplificación, en un volumen final de 25 μ L. La mezcla de reacción contenía 2.5 μ L de regulador de PCR 10X (20 mM Tris-HCl pH 8.4, 50 mM KCl), 0.5 μ L de iniciador-F (0.3 μ M), 0.5 μ L iniciador-R (0.1 μ M), 0.9 μ L MgCl₂ (50mM), 3.8 μ L de la mezcla de dNTP's (2 mM), 0.25 μ L *Taq* polimerasa (1.2 U) y 14 μ L de agua. Los iniciadores empleados fueron R-5' GCAGGTTGAACAGTATCT 3, F-5' CTGGAATCCCAAGTATCAG 3 (Chacón, M, *et al.*; 2002). Las condiciones en el termociclador consistieron en un ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C por cinco min, seguida de 30 ciclos de: una fase de desnaturalización a 95 °C por un min, una fase de alineamiento a 56 °C por un min y otra fase de extensión a 72 °C por un min para finalmente, tener una fase de extensión final a 72 °C por 10 min. El DNA de la cepa tipo *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966^T fue utilizado como control positivo de la PCR.

Demostración de amplicones

Los productos de amplificación de la PCR fueron demostrados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, la agarosa fue disuelta en una solución de TAE 1X (Tris base 2 M-ácido acético-EDTA 0.5 M) y se calentó hasta su completa disolución, se colocó la mezcla en una cama de electroforesis y tras su gelificación las muestras se colocaron dentro de los pozos del gel, mezclando 5 μ L de densificante 1X tipo IV (azul de bromofenol al 0.25 %, 40 % de sacarosa (w/v) en agua) con 2 μ L de la muestra amplificada. El gel montado se corrió a 60 V/cm durante 90 mins. Transcurrido el tiempo se reveló con 2.5 μ L de bromuro de etidio (0.5 μ g/ μ L) y se visualizó en un documentador de geles con luz ultravioleta. La fotografía del gel fue tomada con el programa Carestream®. El producto esperado es un fragmento amplificado de 237 pb, correspondiente al gen *gcat*; además de las muestras a analizar, se corrió en paralelo 2 μ L (1 μ g/ μ L) del marcador de talla molecular Kapa Ladder (100 pb, Kapa Universal, México).

Identificación genética gen 16S rRNA

La amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del gen 16S *rRNA* se llevó a cabo en un termociclador (Biometra). Aproximadamente 2-3 μ g del DNA genómico se sometieron a la amplificación, en un volumen final de 50 μ L. La mezcla de reacción contenía 5 μ L de regulador de PCR 10X (20 mM Tris-

HCl pH8.4, 50 mM KCl), 1 μ L de iniciador Anti 1⁵ AGA GTT TGA TCA TGG CTC A³ (0.3 μ M), 1 μ L iniciador S⁵GGT TAC CTT GTT ACG ACT T³ (0.3 μ M), 1.8 μ L MgCl₂ (50mM), 7.5 μ L de una mezcla de dexoxirribonucleòsidos trifosfato dNTP's (dATP, dCTP, dGTP y dTTP a 2 mM), 0.5 μ L *Taq* polimerasa (2.5U) adicionada en Hot Start y 28.2 μ L H₂O. Las condiciones para cada ciclo de reacción programada fueron: 96°C 5 min (desnaturalización), 94°C 1 min (desnaturalización), 56°C 1 min (hibridación), 72 °C 1.30 min (extensión), estas condiciones se repitieron por 35 ciclos y al finalizar se efectuó una última extensión durante 5 min a 72°C.

Los productos de la amplificación fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa al 1% (agarosa Invitrogene, México) disuelta en una solución reguladora TAE1x (trismabase 2M-ácidoacético-EDTA 0.5 M) se calentó hasta su disolución, se le adicionó 5 μ L de bromuro de etidio (0.5 μ g/ml). Después de su gelificación las muestras se colocaron dentro de los pocillos, mezclando 2 μ L de densificante 6X tipo IV (azul de bromofenol al 0.25%, 40% de sacarosa (w/v) en agua) con 5 μ L de la muestra amplificada. Estas se corrieron a 55 V/cm durante 60 min. Al término del tiempo se visualizaron en un documentador de geles con luz ultravioleta, fotografiando el gel con La fotografía del gel fue tomada con el programa Carestream®. Para esta reacción de PCR se esperaba un fragmento amplificado de 1502 pb. Además de la muestra a analizar se corrió en paralelo 5 μ L (1 μ g/ μ L) del marcador de peso molecular ladder (50-2000 pb) (Invitrogene, México).

Restricción de los productos de la PCR del gen 16S rRNA

Previamente a la digestión se procedió a la limpieza del producto amplificado empleando el sistema Purification PCR (Invitrogen, México), el cual está diseñado para la purificación rápida de los productos de PCR. Los componentes de la PCR, así como la *Taq* polimerasa, regulador PCR 10X, exceso de iniciadores y dNTP's fueron eliminados por un simple proceso de centrifugación del producto a través de la columna. El producto resultante de la limpieza se sometió a la digestión enzimática doble, se preparó una mezcla la cual contenía 12 μ L del amplificado, 1 μ L del regulador de digestión (10x), 1 μ L de la enzima Alu I (10U/ μ L), 1 μ L de la enzima Mbo I (10U/ μ L) (Invitrogene, México), 5 μ L de agua obteniendo un volumen final de 20 μ L, la mezcla se incubó a 37 °C durante toda la noche. Los amplificados del gen 16S *rRNA* ya digeridos, fueron separados mediante electroforesis

en geles de poliacrilamida (Biorad, México) al 17 % a 300 V/56mA durante 3 horas. Al término del tiempo se tiñeron los geles con bromuro de etidio (0.5 µg/mL) durante 30 min. Al término del tiempo se visualizaron en un documentador de geles con luz ultravioleta, fotografiando el gel con el programa Carestream®. En todos los geles se corrió en paralelo 5 µL de marcador de peso molecular Marker V (587-8 pb) (Roche Diagnostics, México). Las fotografías de los RFLP-PCR obtenidos de las digestiones dobles con las enzimas Alu I y Mbo I fueron comparadas con los patrones obtenidos para las cepas tipo de cada una de las especies, para asignar a cada cepa la especie correspondiente.

Para las cepas que presentaban patrones atípicos con la técnica anterior se utilizó la identificación con la técnica de RFLP-PCR del gen *rpoD* con los iniciadores Aero-F: ⁵YGARATCGAYATCGCCAARCGB³ y Aero-R: ⁵GRCCDATGCTCATRCGRCGGTT³ para la amplificación la mezcla de reacción de 25 µL que contenía 2.5 µL de regulador de PCR (10X), 3.7 µL de solución de desoxinucleotidos (2 µM), 0.9 µL cloruro de Magnesio (50 mM), 0.5 µL del iniciador directo (0.3 µM), 0.5 µL del iniciador reverso (0.3 µM), 0.25 µL *Taq* DNA polimerasa (5 u/µL), 2 µL de DNA molde (200-300 ng/µL) y 14.4 µL agua grado biología molecular.

La mezcla se desnaturalizó a 95 °C durante 5 min, seguido de 40 ciclos de 95 °C durante 30 seg, 60 °C durante 30 seg y 72 °C durante 1 min, y una extensión final a 72 °C durante 7 min. Se obtuvo un producto entre 770-782 pb el cual se evidencio en un gel de agarosa al 1.5 %. Posteriormente se realizó la

digestión con una mezcla que contenía 8.5 µL del producto de amplificación 1 µL de regulador con 0.5 µL de enzima AluI se incubo por 30 min a 37 °C, la reacción se terminó con una incubación de 20 min a 80 °C, los productos obtenidos se analizaron en geles de agarosa al 2 % (Puah, S., et al.; 2018).

Tipificación ERIC-PCR

La Tipificación genética por se llevó a cabo por la técnica de ERIC-PCR para determinar la relación clonal de las cepas identificadas como *Aeromonas*, se utilizaron los iniciadores ERIC-1 F: ⁵ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC³ y ERIC-2 R: ⁵AAGTAAGTGACTGGGGGT³. La amplificación se llevó a cabo con una mezcla de reacción de 50 µL que contenía 5 µL de regulador de PCR (10X), 7.5 µL de solución de desoxinucleotidos (2 µM), 3 µL cloruro de Magnesio (50 mM), 1 µL del iniciador directo (0.3 µM), 1 µL del iniciador reverso (0.3 µM), 0.5 µL *Taq* DNA polimerasa (5 u/µL), 2 µL de DNA molde (50 ng/µL) y 30 µL agua grado biología molecular. La mezcla se desnaturalizó a 94 °C durante 1 min, seguido de 30 ciclos de 94 °C durante 1 min, 52 °C durante 1 min y 65 °C durante 8 min, y una extensión final a 65 °C durante 16 min (Versalovic, J., et al.; 1991).

Los productos se observaron en geles de poliacrilamida al 12 % para su análisis se generó una matriz de ausencias y presencias con la cual se calculó la similitud genética con un coeficiente de Jaccard con el programa Past 3.24 (Hammer Ø., 2001), se obtuvo el dendrograma para determinar la relación clonal y el grado de similitud de las cepas.

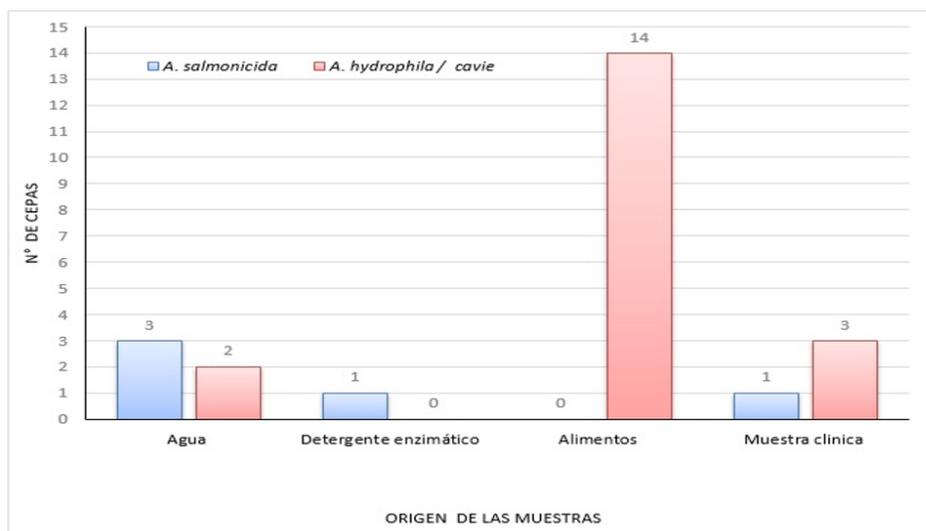


Figura 1. Clasificación de las cepas aisladas de diferentes muestras. De color rojo se muestran las cepas identificadas como *Aeromonas hydrophila / caviae* y de azul se muestran las identificadas como *Aeromonas salmonicida*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se analizaron 24 cepas las cuales se agruparon según su identificación y procedencia (figura 1), fueron identificadas por el sistema automatizado VITEK 2 compact de BioMerieux. Se reportaron 2 cepas como *A. salmonicida* y 22 cepas como *A. hydrophila / caviae*, dado que se requiere una prueba bioquímica adicional para la diferenciación de estas dos especies.

Por otra parte, se ha observado que el uso de equipos automatizados está diseñado principalmente para la identificación de bacterias Gram negativas, oxidasa negativas y aerobias o anaerobias facultativas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y se da poca relevancia a bacterias oxidasa positivas y pertenecientes al género *Aeromonas* (Abbott, S., et al.; 1998). Para este equipo se sabe que tiene un porcentaje de precisión que va de 77.1 % a un 95.5 % para este género, esto en estudios de cepas de origen clínico en donde la identificación a nivel de especie es mucho más compleja dado que el género presenta propiedades bioquímicas heterogéneas por lo que frecuentemente se presentan identificaciones erróneas debido a que este sistema tiene una base de datos obsoleta, algoritmos inexactos que deben compensarse con pruebas adicionales poco prácticas que requieren de más tiempo para poder determinar la especie (Janda, M., 2010). Debido a esto es importante identificar las cepas de *Aeromonas* mediante técnicas genéticas esto provoca que la incidencia real de las especies del género esté desvirtuada (Castro-Escarpulli, G. et al., 2003).

En este sentido, Chacón y colaboradores en el 2002 propusieron un marcador molecular para la detección de un fragmento de 237 pb del gen que codifica para la glicerofosfolípido-colesterol aciltransferasa (*gcat*) para la identificación inequívoca de cepas a nivel de género. Logrando detectar este gen en todas las cepas analizadas.

La identificación a nivel de especie de manera más fiable, se establece con un método basado en el análisis de los patrones de RFLP-PCR del gen 16S *rRNA* obtenidos tras digerir el gen completo de 1 502 pb con las endonucleasas AluI-MboI en donde se pueden identificar 14 de las especies con mayor prevalencia clínica y ambiental (Figueras, M., et al.; 2000). Con la aplicación de esta técnica se logró identificar a 17/24 cepas como *A. caviae* y 7/24 cepas presentaron un patrón atípico, esto puede ser debido a que en el lugar de restricción del gen 16S *rRNA* exista variabilidad intraespecífica o a la posibilidad de que

se trate de una especie diferente ya que actualmente se reconocen a 36 especies (Figueras, M., et al.; 2011; Martínez-Murcia, A., et al.; 2013).

Por lo que se implementó la técnica de RFLP-PCR del gen *rpoD* digerido con la endonucleasa AluI con la finalidad de identificar las cepas restantes, ya que con esta técnica tiene un mayor poder de discriminación y se pueden identificar a 27 especies (Puah, S., et al.; 2018). Con este método alternativo se identificaron cepas de *A. enteropelogens*, (5/7), *A. media* (1/7) y *A. rivuli* (1/7), comparando ambos métodos se obtuvo mayor ventaja con la técnica de restricción del gen *rpoD* ya que es una técnica de menor costos y se realiza en menor tiempo, además de que no se requiere de la purificación del producto de amplificación y para realizar la digestión se requiere solo una endonucleasa y los fragmentos se pueden evidenciar en geles de agarosa, a diferencia de la restricción del gen 16S *rRNA* que requiere de mayor tiempo ya que la restricción y los fragmentos de esta se analizan en geles de poliacrilamida.

Los perfiles de resistencia a antimicrobianos de cada aislamiento se observan en el cuadro 2, los fenotipos obtenidos fueron 22/24 cepas como no multidrogosresistentes (NMDR), 1/24 cepas multidrogosresistentes (MDR) y 1/24 extensamente drogosresistentes (XDR), se presentó resistencia a ampicilina en un 91.6 % (22/24) de las cepas analizadas, esto está asociado principalmente a la producción de β -lactamasas la cual es una característica específica del género, teniéndola en casi todas las especies a excepción de *A. trola* y algunas veces se presenta en *A. caviae*, sin embargo se recomienda la combinación del ácido clavulánico o subactam con ampicilina, para el tratamiento de infecciones con este agente para reducir la resistencia de *Aeromonas* spp. (Vila, J., et al.; 2002).

Las cefalosporinas y fluoroquinolonas, presentaron una buena actividad frente a las cepas ensayadas con porcentaje de susceptibilidad del 95.8 % (23/24), lo cual concuerda con el estudio realizado por Ghenghes y colaboradores en el 2014. Los mecanismos de resistencia a las cefalosporinas de tercera generación en *Aeromonas* se han atribuido a la producción de beta-lactamasas, bombas de eflujo y alteraciones en la membrana externa. La aparición de estos mecanismos de resistencia es importante ya que este género es considerado como un agente de diseminación de material genético asociado a la resistencia antimicrobiana (Isoken, H., et al.; 2012).

Cuadro 2. Perfiles de resistencia de las cepas de *Aeromonas*

Folio	Pencilinas			Cefalosporinas 3 ^a y 4 ^a generación			Carbapenems		Aminoglucósidos		Fluoroquinolonas		Tetraciclinas	Nitroimidazoles	Inhibidores de la vía del folato	Fenotipo	Origen
	AM	SAM	TZP	CAZ	CRO	FEP	IPM	MEM	GM	TM	CIP	MF	TGC	FT	STX		
9840	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	Alimentos
6352	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6452	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6338	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6456	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6507	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6610	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6570	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6875	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
9878	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
7287	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
7481	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
8562	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
10076	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6120	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6455	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	Agua
6086	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
6504	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
8854	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
2352	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	Clínico
8764	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
200H	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	NMDR	
7033	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	XDR	
199H	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	MDR	

Sensibles
 Resistentes

NMDR Resistente a menos de 3 familias.

MDR Resistente a 1 o más antimicrobiano en 3 o más familias.

XDR Resistente a uno o más antimicrobiano en todas las familias excepto en 2 o menos.

PDR Resistente a todos los antimicrobianos enlistados.

En el caso de los aminoglucósidos como gentamicina y tobramicina se presentó un porcentaje de susceptibilidad del 91.6 % (22/24) y 95.6 % (23/24) respectivamente, los mecanismos que pueden presentar los aislados que proporcionan resistencia a estos fármacos son las mutaciones puntuales en las proteínas ribosómicas que confieren resistencia a aminoglucósidos, tetraciclinas y resistencia a los macrólidos, estos mecanismos no se han sido reportados tan frecuentemente en aislamientos de origen ambiental. En contraste con lo reportado por Soler y colaboradores en el 2002 en donde ellos reportan el 100 % de susceptibilidad ante estos antimicrobianos.

En otros estudios se describen que la resistencia adquirida a antimicrobianos en cepas del género *Aeromonas* presenta un porcentaje alto, lo cual puede explicar la variabilidad de los patrones de resistencia en cepas de origen ambiental comparadas con las cepas de origen clínico. Esto se asocia a que en el ambiente hospitalario las cepas están en contacto con otros géneros bacterianos que pueden transferir genes mediante la presencia de integrones, plásmidos y algunos otros elementos genéticos móviles (Bello-López *et al.*, 2019).

En el caso de aislados clínicos el tratamiento de primera línea es cotrimoxazol y fluoroquinolonas en infecciones graves provocadas por este género utilizando también aminoglucósidos, cefalosporinas

de tercera generación, piperacilina/tazobactam y carbapenems especialmente imipenem (Morris, P., *et al.*; 2011). No obstante, existen discrepancias entre los diversos estudios con respecto a la actividad y eficacia de los mismos, en este trabajo se observó un porcentaje de susceptibilidad al imipenem del 91.6 % (22/24) el cual es mayor comparado con lo reportado por Overman y colaboradores en 1985 en donde se reporta susceptibilidad en el 50 % en aislados de *A. hydrophila* de origen acuático y peces.

En cuanto a los inhibidores de la vía del folato se reporta un porcentaje de susceptibilidad del 75 % (18/24). La resistencia a estos compuestos se asocia principalmente con la modificación de las enzimas diana ácido dihidropteroico sintasa (DHPS) y dihidrofolato reductasa (DHFR), Sólo se han descrito tres variantes móviles de los genes de resistencia a la sulfonamida; *sul1*, *sul2* y *sul3*. Estos genes se encuentran generalmente en plásmidos y material genético móvil asociados con la familia de transposones Tn21. Existen pocos estudios sobre la prevalencia de estos genes en el género *Aeromonas* se reporta de 25 al 52 % en aislamientos de peces (Chang, Y., *et al.*; 2008).

Donde se puede observar los antibióticos probados, de color azul se representan los antibióticos donde las cepas fueron sensibles y de color rojo los antibióticos que presentaron resistencia.

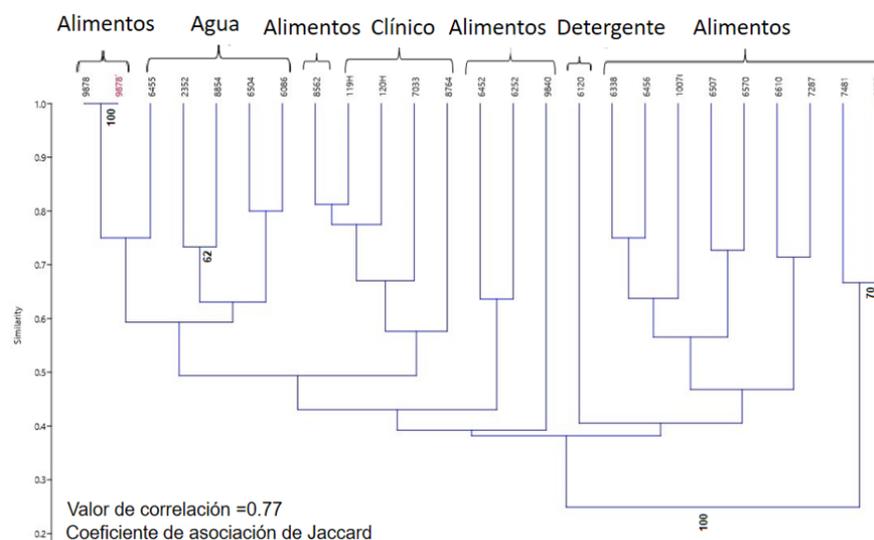


Figura 2. Relación genética de las cepas de *Aeromonas* spp., de diferentes orígenes. A partir de la información obtenida por las secuencias ERIC.

La tipificación genética se realizó con el análisis de los diferentes patrones de bandeo, donde se identificaron 21 marcadores de las secuencias ERIC, se obtuvo un dendrograma (figura 2) con un coeficiente de correlación de $r=0.77$ que demuestra que la construcción de este no ocurrió por eventos al azar, y se realizó con un *bootstrap* de 100 que determinó la relación genética de las cepas y no se presentaron eventos de clonalidad lo que indica que ninguna de estas cepas provenía de la misma fuente. En cuanto a la agrupación obtenida, las cepas se clasificaron por origen en los aislados de origen clínico, detergente enzimático y el agua, sin embargo, en los aislamientos de alimentos se tienen una distribución más amplia lo que podría indicar que al ser alimentos que se reconstituyen en agua posiblemente la contaminación provenga de esta.

En este estudio se determinó la distribución y se detectaron genes que codifican para diferentes factores putativos de virulencia como *exu* (6/24), *lafA* (3/24), *amoA* (11/24), *hgp* (12/24) *aer/hem* (12/24), *stx1* (0/24), *stx2* (0/24) *ast* (7/24) y *alt* (5/24) en donde el gen que se presentó con mayor frecuencia fue *aer/hem* 50 % (12/24) el cual corresponde a las hemolisinas originalmente denominada aerolisina estas son un grupo diverso de enzimas multifuncionales, su secuencia de aminoácidos es parcialmente semejante a la de la toxina α de *Staphylococcus aureus* y con la enterotoxina A de *Clostridium perfringens*, esta se caracteriza por la formación de poros en la membrana de las células hospedero, se le asocia principalmente con la producción de cuadros de

gastroenteritis, se encuentra aproximadamente en un 80 % de las cepas aisladas (Rasmussen-Ivey, C., *et al.*; 2016). Algunas cepas presentan más de un gen que codifica para las hemolisinas lo que podría dificultar la detección de este gen, en otros estudios realizados por Chacón y colaboradores en el 2003 encontraron significativamente más la presencia de dicho gen en cepas clínicas que ambientales. En *A. caviae*, la presencia de la aerolisina/hemolisina, así como la actividad β -hemolítica se demostró en menor proporción en un 40 % y 37.5 %, respectivamente lo cual concuerda con lo reportado en este estudio. Las enterotoxinas *alt* (codifica una toxina lábil al calor que reacciona de forma cruzada con la enterotoxina de tipo Shiga) y *ast* (codifica para la enterotoxina termolábil y esta tiende a producir reacción cruzada con la toxina colérica), se detectó un 20.8 % (5/24) y 29.1 % (7/25) respectivamente en otros estudios la presencia de estos genes en *A. caviae* corresponden a un 36 %, en el caso de los aislado de alimentos; La presencia de estos genes implica un riesgo de intoxicación alimentaria, y su detección es esencial ya que estos factores ayudan a establecer un infección gastrointestinal siendo estas un riesgo para los pacientes de los nosocomios en estudio (Latif, E., 2015).

Otro factor de virulencia estudiado fueron los genes *stx1* y *stx2* que codifican para la toxina tipo Shiga, esta tiene relevancia clínica ya que podría ser considerada causante de diarrea principalmente en pacientes pediátricos (Hernández-Cortez, C., *et al.*; 2011; Figueras, M., 2015). No obstante, este género es de importancia, ya que se asocia como un patógeno que

causa Síndrome Urémico Hemolítico. En este estudio no se logró detectar estos genes.

La producción de las desoxirribonucleasas codificadas en el gen *exu* puede expresarse de manera diferente dependiendo del ambiente, es considerado un elemento de la evasión de la respuesta inmunológica del hospedero, aunque no muestra cambios significativos en la actividad hemolítica en *Aeromonas*, en estudios existentes sobre las DNAsas, se han descrito y caracterizado tres genes, además de que en cepas de origen clínico se ha presentado en un 95 % y en cepas ambiental un 85 % aunque a un se desconoce la distribución de éstas en las especies del género debido a esto con los iniciadores utilizados se logró detectar solo en el 25 % (6/24) de las cepas, fenotípicamente se demostró la presencia de esta enzima en un 70.83 % (17/24) (Chacón M. *et al.*, 2003).

Por otro lado, los sideróforos, tienen un papel importante en la adquisición de hierro. Este género presenta la amonabactina, en algunas cepas de *A. hydrophila* pueden expresar un mecanismo secundario para mejorar la eficacia de la adquisición de hierro mediante la expresión de receptores de membrana externa específicos (Stintzi A. *et al.*, 2000), las cuales consisten en proteínas bacterianas de la membrana externa capaces de unirse a proteínas específicas de unión al hierro o al grupo hemo del hospedero sin la intervención de sideróforos (Ebanks R. *et al.*, 2004). Tal es el caso del gen *hgp*, el cual codifica para el receptor putativo de membrana externa del grupo hemo, algunos estudios han demostrado que *hgp* está involucrado en la utilización de hierro unido al grupo hemo. En este trabajo se identificó 45.8 % (11 /24) cepas en las cuales se encontraba el gen *hgp* y para el gen *amoA* se presentó 50 % (12/24) y la combinación de ambos genes se presentó en 37.5 % (9/24) por lo que se podría relacionar como un factor que favorece la colonización del hospedero (Maltz M. *et al.*, 2015).

La diversidad del género *Aeromonas* a nivel genético en cuanto a su amplia distribución de factores putativos de virulencia, como se reporta en este trabajo, varía según la especie y origen. La proporción de diferentes determinantes putativos de virulencia detectados en las cepas sugiere que cada cepa podría usar diferentes mecanismos para colonizar, infectar y causar una enfermedad en el hospedero, por lo que los hospitales deberían implementar un protocolo para la detección del género *Aeromonas* en los alimentos, agua y detergentes para evitar un riesgo en la salud de los pacientes.

CONCLUSIÓN

La proporción de los factores putativos de virulencia detectados en las cepas sugiere que cada cepa podría usar diferentes mecanismos para colonizar, infectar y causar una enfermedad como patógenos oportunistas en estos hospitales.

AGRADECIMIENTOS

Graciela Castro-Escarpulli recibe el apoyo de Estímulos al Desempeño en Investigación, de la Comisión y Fomento de Actividades Académicas del Instituto Politécnico Nacional y del Sistema Nacional de Investigadores (SNI, CONACyT). Este estudio fue financiado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (SIP 20194936). Luis Uriel Gonzalez Avila es becario CONACyT.

REFERENCIAS

- Abbott S, Seli L, Catino M, Hartley M, Janda J. Misidentification of unusual *Aeromonas* species as members of the genus *Vibrio*: a continuing problem. *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36 suppl 4: 1103-1104.
- Aguilera-Arreola M, Hernández-Rodríguez C, Zúñiga G, Figueras M, Castro-Escarpulli G. *Aeromonas hydrophila* clinical and environmental ecotypes as revealed by genetic diversity and virulence genes. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters* 2005; 242 suppl 2: 231-240.
- Alba-Romero J, Ortega-Sánchez J, Perez-Morales R, Sierra-Campos E, Calleros-Rincón E, Hernández-Barajas K, García-Barrios M, Martínez-Romero A. Aislamiento de bacterias del género *Aeromonas* en aires acondicionados de hospitales e instituciones públicas de Gómez Palacio, Dgo. Órgano de investigación y Difusión de la federación Nacional de químicos Clínicos NOTICONAQUIC, A.C. 2014; 64; 8-12.
- Arteaga-Garibay R, Aguilera-Arreola M, Navarro-Ocaña A, Giono-Cerezo S, Sánchez- Mendoza M, Molina-López J, Castro-Escarpulli G. Serogroups, K1 antigen, and antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* spp. strains isolated from different sources in Mexico. *Memories do Institute Oswaldo Cruz* 2006; 101 suppl 2: 157-161.

- Bello-López J, Cabrero-Martínez O, Ibáñez-Cervantes G, Hernández-Cortez C, Pelcastre-Rodríguez L, Gonzalez-Avila L, Castro-Escarpulli G. Horizontal Gene Transfer and Its Association with Antibiotic Resistance in the Genus *Aeromonas* spp. *Microorganismos* 2019; 7 suppl 363: 1-11.
- Cardoso T, Almeida M, Friedman N, Aragão I, Costa-Pereira A, Sarmento A, Azevedo L. Classification of healthcare-associated infection: a systematic review 10 years after the first proposal. *BMC Medicine* 2014; 12 suppl 40; 1-13.
- Castro-Escarpulli G, Figueras M, Aguilera-Arreola G, Soler L, Fernández-Rendón E, Aparicio G, Guarro J, Chacón M. Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in México. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 84: 41-49.
- Chacón M, Castro-Escarpulli G, Soler L, Guarro J, Figueras M. A DNA probe specific for *Aeromonas* colonies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2002; 44: 221-22.
- Chacón M, Figueras M, Castro-Escarpulli G, Soler L, Guarro J. Distribution of virulence genes in clinical and environmental isolates of *Aeromonas* spp. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2003; 84 suppl 4: 269-278.
- Chang Y, Wang J, Selvam A, Kao S, Yang S, Shih D. Multiplex PCR detection of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. from suspect food samples in northern Taiwan. *Journal of Food Protection* 2008; 71: 2094-2099.
- Chávez B. Infecciones intrahospitalarias ¿Qué ha pasado en 23 años?. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 2004; 24 suppl 3: 89-92.
- Ebanks R, Dacanay A, Goguen M, Pinto D, Ross N. Differential proteomic analysis of *Aeromonas salmonicida* outer membrane proteins in response to low iron and in vivo growth conditions. *Proteomics* 2004; 4 suppl 4: 1074-1085.
- Figueras M, Guarro J, Martínez-Murcia A. Use of restriction fragment length polymorphism of the PCR-amplified *16S rRNA* gene for the identification of *Aeromonas* spp. *Journal Clinic Microbiology* 2000; 38: 2023-2025.
- Figueras M, Beaz-Hidalgo R. *Aeromonas* infections in humans. En: *Aeromonas*. EEUU: Graf J. Caister Academic Press, 2015. 65-108.
- Figueras M, Alperi A, Beaz-Hidalgo R, Stackebrandt E, Brambilla E, Monera A, MartínezMurcia A. *Aeromonas rivuli* sp. nov., isolated from the upstream region of a karst water rivulet. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2011; 61 suppl 2: 242-248.
- Figueras M, Guarro J, Martínez-Murcia A. Use of restriction fragment length polymorphism of the PCR-amplified *16S rRNA* gene for the identification of *Aeromonas* spp. *Journal Clinic Microbiology* 2000; 38: 2023-2025.
- Ghenghesh K, Ahmed S, Cappuccinelli P, Klena J. Genospecies and virulence factors of *Aeromonas* species in different sources in a North African country. *Libyan Journal of Medicine* 2014; 9: 25497.
- Hammer Ø, harper D, Ryan P. PAST: Paleontological Statistics Software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 2001; 4: 1-9.
- Hernández-Cortez C, Aguilera-Arreola M, Chávez-Méndez Y, Arzate-Barbosa P. Identificación genética de cepas de *Aeromonas* spp. aisladas en el Instituto Nacional de Pediatría. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría* 2011; 24:157-165.
- Isoken H, Igbiosa U, Igumbor F, Mvuyo T, Anthony I. Emerging *Aeromonas* Species Infections and Their Significance in Public Health. *The Scientific World Journal* 2012; 625023:1-13.
- Janda M, Abbott S. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *American Society for Microbiology* 2010; 23: 35-73.
- Latif EF. *Aeromonas*, un microorganismo ambiental de importancia en salud humana y animal (Tesis Doctoral). Tarragona: Universitat Rovira i Virgili, 2015.
- Martínez-Ruiz A. identificación de genes en el sistema de captación de hierro en el género *Aeromonas*. (Tesis Maestría). CDMX: ENCB, IPN, 2017.
- Magiorakos A, Srinivasan A, Carey B, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, Harbarth S, Hindler J, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson D, Rice B, Stelling J, Struelens M, Vatopoulos A, Weber J, Monnet D. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2012; 18 suppl 3: 268-281.

- Maltz M, Leverage B, Graf J. Identification of iron and heme utilization genes in *Aeromonas* and their role in the colonization of the leech digestive tract. *Frontiers in Microbiology* 2015; 6: 763.
- Martínez-Murcia A, Beaz-Hidalgo R, Svec P, Saavedra M, Figueras M, Sedlacek I. *Aeromonas cavernicola* sp. nov., isolated from fresh water of a brook in a cavern. *Current microbiology* 2013; 66 suppl 2: 197-204.
- Morris P, Johnson W, Pisani J, Bossart G, Adams J, Reif J, Fair P. Isolation of culturable microorganisms from free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the southeastern United States. *Veterinary Microbiology* 2011;148: 440-447.
- Overman T, Kessler J, Seabolt J. Comparison of API 20E, API Rapid E, and API Rapid NFT for identification of members of the family *Vibrionaceae*. *Journal Clinical Microbiology* 1985; 22: 778-781.
- Puah S, Khor W, Kee B, Tan M, Puthuchery S, Chua K. Development of a species-specific PCR-RFLP targeting *rpoD* gene fragment for discrimination of *Aeromonas* species. *Journal of Medical Microbiology* 2019;163: 1-8.
- Rasmussen-Ivey C, Figueras M, McGarey D, Liles M. Virulence Factors of *Aeromonas hydrophila*: In the Wake of Reclassification. *Frontiers in Microbiology* 2016; 7: 1337.
- Ruiz-Camps I, Aguado J, Almirante B, Bouza E, Ferrer-Barbera C, Len O. Grupo de Estudio de Micología Médica de la SEIMC. Recomendaciones sobre la prevención de la infección fúngica invasora por hongos filamentosos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2010; 28: 1-21.
- Sehulster L, Chinn R, Arduino M, Carpenter J, Donlan R, Ashford D. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Guidelines for the control of environmental infections in sanitary facilities. *Weekly report on morbidity and mortality Recommendations and reports* 2003;1: 88-89.
- Soler L, Figueras M, Chacón M, Vila J, Marco F, Martínez-Murcia A, Guarro J. Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas popoffii* recovered from freshwater and seawater. *FEMS immunology med microbiology* 2002; 32: 243-247.
- Stintzi A, Raymond K. Amonabactin-mediated iron acquisition from transferrin and lactoferrin by *Aeromonas hydrophila*: direct measurement of individual microscopic rate constants. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 2000;5: 57-66.
- Versalovic J, Koeuth T, Lupski R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to finger of bacteria genomes. *Nucleic Acids Research* 1991; 19:6823 -6831.
- Vila J, Marco F, Soler L, Chacón M, Figueras M. In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, and *Aeromonas veronii* biotype *sobria*. *Journal Antimicrob Chemother* 2002; 49 suppl 2: 701-2.
- Weinstein R. Epidemiology and control of nosocomial infections in adult intensive care units. *The American Journal of Medicine* 1991; 91 Suppl 3B:179S-184S.

Biogrupos y complejos de cepas de *Aeromonas* aisladas de carne de pollo en la Ciudad de México

¹Medina-De La Cruz Roger Orlando, ¹González-Ávila Luis Uriel, ¹Colmenero-Solis Raúl De Jesús, ²Hernández-Cortez Cecilia, ¹Castro-Escarpulli Graciela.

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, ²Laboratorio de Bioquímica Microbiana, Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n. Colonia Plutarco Elías Calles, Alcaldía Miguel Hidalgo. cp. 11340. Ciudad de México, México.

*Email: chelacastro@hotmail.com

RESUMEN

El género *Aeromonas* comprende más de treinta especies de bacilos Gram negativos, distribuidos ampliamente en el medio ambiente. Esta bacteria se aísla de humanos, animales, cuerpos de agua y alimentos, siendo los últimos, de gran importancia por ser una fuente de infección intestinal; entre los alimentos más comunes de los cuales se aísla, están pescados, crustáceos, vegetales y carne de pollo, lo cual convierte a estos alimentos en un riesgo sanitario; por lo tanto en el presente estudio se propuso realizar la identificación y clasificación de cepas de *Aeromonas* spp., aisladas de muestras de carne de pollo obtenidas de diferentes lugares comerciales de la Ciudad de México, para demostrar que estos alimentos contaminados por *Aeromonas* son un riesgo para la salud.

Un total de 173 aislados de *Aeromonas* spp., fueron evaluados mediante PCR y pruebas bioquímicas para su clasificación en biogrupos y complejos, logrando clasificar a 140 de 173 aislados (80.92 %), lo que permite conocer de manera más amplia los biogrupos y complejos involucrados. Por lo anterior, se considera que la presencia de *Aeromonas* spp., en el pollo representa una mala calidad sanitaria del alimento.

Palabras clave: *Aeromonas*, biogrupos, complejos, pruebas bioquímicas.

ABSTRACT

The genus *Aeromonas* comprises more than thirty species of Gram negative bacilli, widely distributed in the environment. This bacterium is isolated in humans, animals, water bodies and food, the latter being of great importance as a source of intestinal infection; among the most common foods of which the bacterium is isolated are: fish, crustaceans, vegetables, and chicken meat, which makes these foods a health risk. Therefore, in the present study it was proposed to identify and classify strains of *Aeromonas* spp., isolated from chicken meat samples obtained from different commercial places in Mexico City, to demonstrate that this contaminated food by *Aeromonas* are a health risk.

A total of 173 *Aeromonas* spp. isolates were evaluated by PCR and biochemical tests for their classification into bio-groups and complexes, managing to classify 140 of 173 isolates (80.92%), which allows to know in a comprehensive manner the bio-groups and complexes involved. Therefore, it is considered that the presence of *Aeromonas* spp., in chicken represents a poor sanitary quality of the food.

Key words: *Aeromonas*, bio-groups, complexes, biochemical test.

INTRODUCCIÓN

El género *Aeromonas* está clasificado taxonómicamente en la clase *Gammaproteobacteria*, orden *Aeromonadales*, familia *Aeromonadaceae*. Este género comprende más de treinta especies de bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, capaces de fermentar la glucosa, oxidasa y catalasa positiva.

Los miembros de este género presentan diferentes elementos, conocidos como factores putativos de virulencia, que promueven la adhesión y colonización de las células hospederas. Estos factores putativos de virulencia tales como enzimas, toxinas y componentes membranales, aumentan la virulencia de algunas cepas. Poseen cinco tipos de sistemas de secreción (0, II, III, IV, VI). Estos sistemas de secreción son responsables de la liberación de productos celulares al espacio extracelular o incluso dentro de la célula hospedera (Gonçalves, R., et al.; 2019).

Debido a que el cuadro clínico que se produce tras su infección (intestinales y extraintestinales) suele confundirse fácilmente con el de otros microorganismos a los que se les da mayor importancia clínica, por lo que es fundamental la detección oportuna entre estos agentes para lograr la diferenciación e importancia que ha adquirido *Aeromonas* en los últimos años (Castro-Escarpulli, G., et al.; 2002).

La identificación del género mediante pruebas bioquímicas convencionales es complicada, debido a su heterogeneidad. En los últimos años, la mejor opción para la identificación de este género se basa en técnicas moleculares, tras la amplificación de genes constitutivos, a través de una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). El gen *gcat* (glicerofosfolípido colesterol aciltransferasa) ha sido usado como un marcador molecular específico para este microorganismo (Gonçalves, R., et al.; 2019).

La identificación y clasificación a nivel de especies lleva consigo ciertas dificultades, por lo que Janda y Abbott en 2003 propusieron un esquema que agrupa algunas especies en biogrupos y complejos, para facilitar su identificación en el laboratorio clínico. El primero se clasifica mediante pruebas de descarboxilación de aminoácidos en base de Moeller, por otro lado, los complejos se clasifican con base en las pruebas de Voges-Proskauer e hidrólisis de Bilis Esculina (Abbott, S., et al.; 2003).

Debido a que el género *Aeromonas*, es un patógeno de animales y humanos que causa infecciones intestinales y extraintestinales; y que se ha aislado

de humanos, animales, cuerpos de agua y alimentos (pescados, crustáceos, vegetales y carne de pollo), siendo los últimos de gran importancia por ser una fuente de infección intestinal convirtiéndolos así en un riesgo sanitario; en el presente estudio se propuso realizar la identificación y clasificación de aislados de *Aeromonas* spp., de muestras de carne de pollo obtenidas de diferentes lugares comerciales de la Ciudad de México, para demostrar que estos alimentos contaminados por este grupo bacteriano son un riesgo para la salud.

MÉTODOS

Recuperación de los aislados

Se realizó la recuperación de 173 aislados a partir de carne de pollo en placas de gelosa sangre al 5 % y gelosa Mac Conkey, a partir de medios de conservación a mediano plazo (polipeptona 10 g/L, NaCl 8.5 g/L, agar bacteriológico 5 g/L, extracto de levadura 0.3 g/L) que se encontraban conservados a temperatura ambiente; las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h, posteriormente, se seleccionaron colonias con el morfotipo sugerente de miembros del género *Aeromonas*.

Extracción de DNA

Los aislados seleccionados se sembraron en placas de gelosa soya tripticaseína (TSA) durante 18 h a 37 °C para la extracción del DNA bacteriano mediante la técnica de choque térmico. Transcurrido este tiempo, se realizó una suspensión de 3 a 4 colonias en 200 µL de agua destilada estéril, la suspensión se agitó y se colocó en un baño de agua a 96 °C durante 15 min, al finalizar este tiempo, el microtubo se colocó de inmediato en hielo, se centrifugó a 11 269 \times g durante 5 min, recuperando el sobrenadante con el DNA genómico en un microtubo limpio, y se conservó a -20 °C hasta su uso. También se realizó la extracción de DNA de la cepa tipo *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966^T.

Reacción en Cadena de la Polimerasa

La amplificación mediante la PCR del gen *gcat* se llevó a cabo en un termociclador (Biometra). Aproximadamente 300 ng del DNA genómico se sometió a la amplificación, en un volumen final de 25 µL. La mezcla de reacción contenía 2.5 µL de regulador de PCR 10X (20 mM Tris-HCl pH 8.4, 50 mM KCl), 0.5 µL de iniciador-F (0.3 µM), 0.5 µL iniciador-R (0.1µM), 0.9 µL MgCl₂ (50mM), 3.8 µL de la mezcla de dNTP's (2 mM), 0.25 µL *Taq*

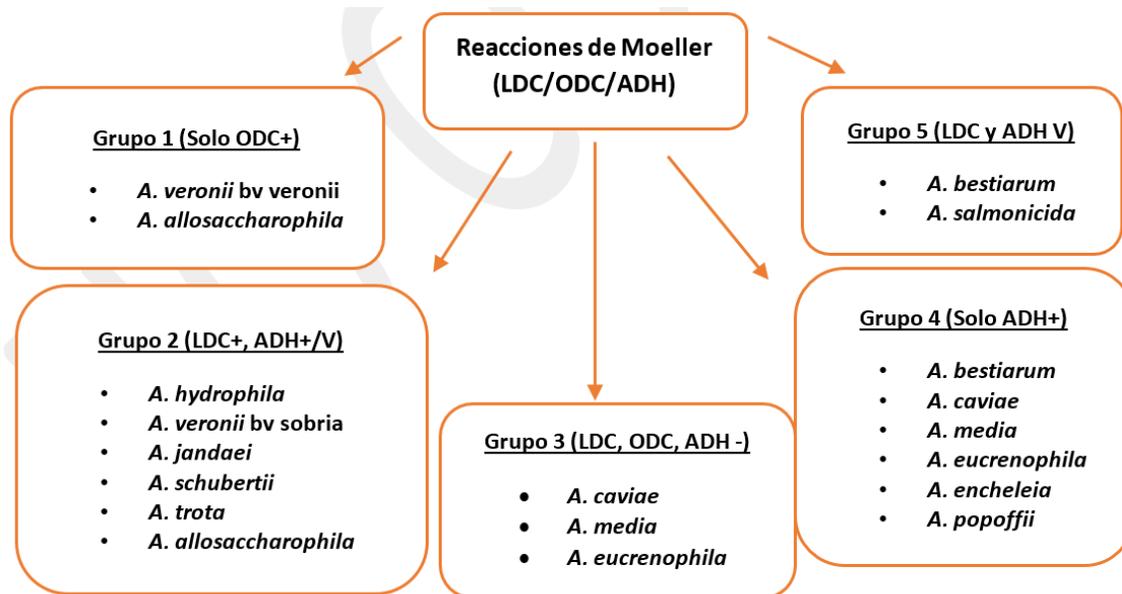


Figura 1. Clasificación de *Aeromonas* spp., en biogrupos con base en las reacciones de Moeller. LDC, ODC, ADH, V, variable (Abbott, S., *et al.*; 2003).

Cuadro 1. Pruebas bioquímicas para los complejos fenotípicos de *Aeromonas*

PRUEBAS	Complejo <i>A. hydrophila</i> (<i>A. hydrophila</i> , <i>A. bestiarum</i> , <i>A. salmonicida</i>)		Complejo <i>A. caviae</i> (<i>A. caviae</i> , <i>A. media</i> , <i>A. eucrenophila</i>)		Complejo <i>A. veronii</i> (<i>A. veronii</i> , <i>A. jandaei</i> , <i>A. schubertii</i> , <i>A. trota</i>)	
	Esculina	87	(92, 81, 85)	71	(76, 55, 78)	0
Voges-Proskauer	75	(88, 63, 62)	0	0	54	(88,87,17,0)

polimerasa (1.2 U) y 14 μ L de agua. Los iniciadores empleados fueron R-5' GCAGGTTGAACAGTATCT 3, F-5' CTGGAATCCCAAGTATCAG 3 (Chacón, M, *et al.*; 2002). Las condiciones en el termociclador consistieron en un ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C por cinco min, seguida de 30 ciclos de: una fase de desnaturalización a 95 °C por un min, una fase de alineamiento a 56 °C por un min y otra fase de extensión a 72 °C por un min para finalmente, tener una fase de extensión final a 72 °C por 10 min. El DNA de la cepa tipo *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966^T fue utilizado como control positivo de la PCR.

Demostración de amplicones

Los productos de amplificación de la PCR fueron demostrados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, la agarosa fue disuelta en una solución de TAE 1X (Tris base 2 M-ácido acético-EDTA 0.5 M) y se calentó hasta su completa disolución, se colocó la mezcla en

una cama de electroforesis y tras su gelificación las muestras se colocaron dentro de los pozos del gel, mezclando 5 μ L de densificante 1X tipo IV (azul de bromofenol al 0.25 %, 40 % de sacarosa (w/v) en agua) con 2 μ L de la muestra amplificada. El gel montado se corrió a 60 V/cm durante 90 minutos. Transcurrido el tiempo se reveló con 2.5 μ L de bromuro de etidio (0.5 μ g/ μ L) y se visualizó en un documentador de geles con luz ultravioleta. Al término del tiempo se visualizaron en un documentador de geles con luz ultravioleta, fotografiando el gel con La fotografía del gel fue tomada con el programa Carestream®. El producto esperado es un fragmento amplificado de 237 pb, correspondiente al gen *gcat*; además de las muestras a analizar, se corrió en paralelo 2 μ L (1 μ g/ μ L) del marcador de talla molecular Kapa Ladder (100 pb, Kapa Universal, México).

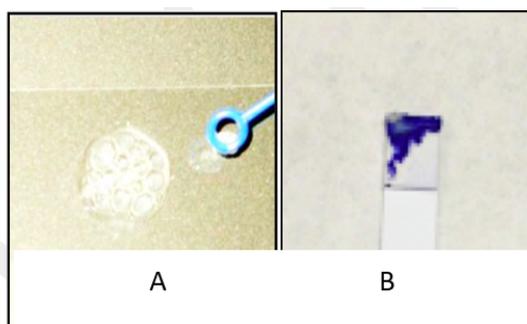


Figura 2. Pruebas para la identificación presuntiva de *Aeromonas* spp.

A) Prueba de catalasa, B) Prueba de oxidasa



Figura 3. Electroferograma del producto de amplificación por PCR del gen *gcat* a partir de DNA de las cepas aisladas de carne de pollo. Carriles: MTM Marcador de talla molecular (RTU 100 pb). 1-5) Cepas aisladas de carne de pollo. 6) Control negativo de la PCR. 7) Control positivo de la PCR (cepa tipo *A. hydrophila* ATCC 7966^T)

Pruebas bioquímicas

A los aislados que presentaron el gen *gcat* se les realizaron pruebas de descarboxilación de aminoácidos en base de Moeller con sello de aceite mineral para su clasificación en grupos bioquímicos, los aminoácidos utilizados fueron arginina, lisina y ornitina. Además, se montaron las pruebas de Voges-Proskauer e hidrólisis de Bilis Esculina para la agrupación en complejos bioquímicos. Estas pruebas se incubaron a 37 °C durante 18 h para la observación de resultados (figura 1 y cuadro 1).

Los primeros números son el porcentaje de positividad para cada grupo, y los números entre paréntesis son los porcentajes para cada especie que constituye el complejo. ^a biovariedad sobria la que se diferencia

bioquímicamente con *A. veronii* bv. *veronii* porque la bv. *veronii* es ornitina descarboxilasa e hidrólisis de la esculina positivo, negativo arginina dehidrolasa. Modificado de: Abbott, S., *et al.*; 2003.

RESULTADOS

Los 173 aislados procesados fueron positivos a las pruebas de catalasa y oxidasa (figura 2).

De los 173 aislados obtenidos, en 140 (80.92 %) se detectó la presencia del gen *gcat* (figura 3).

De las 140 cepas, 1 (0.71 %) se clasificó en el grupo 1, mientras que en los grupos 2, 3 y 4 fueron los grupos en donde se clasificaron la mayoría de las cepas (44 [31.42 %], 39 [27.85 %] y 56 [40 %], respectivamente);

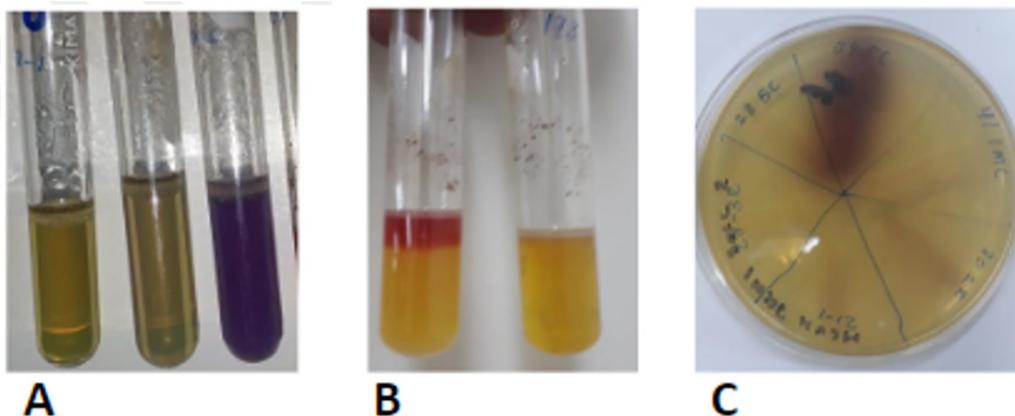


Figura 4. Pruebas bioquímicas para clasificación y agrupación de *Aeromonas* spp. A) Reacción de descarboxilación de aminoácidos. B) Reacción de Voges-Proskauer. C) Prueba de hidrólisis de Bilis Esculina.

sin embargo, ninguna cepa fue clasificada en el grupo 5 (*A. bestiarum* y *A. salmonicida*). Asimismo, las cepas se agruparon en complejos bioquímicos, en donde 84 cepas (60 %) pertenecen al complejo *A. sobria*, seguido del complejo *A. caviae* agrupándose 34 cepas (24.28 %) y, por último, pero no menos importante, el complejo *A. hydrophila*, en el cual se conjuntaron 22 cepas (15.71 %) (figura 4).

DISCUSIÓN

La contaminación de alimentos por bacterias genera una problemática en salud pública, al ser una posible fuente de infección y enfermedades tanto para el humano como para los animales. Es por esto la necesidad de tener un control riguroso en el manejo de alimentos para comercialización y consumo, además de que se requieren estrategias para la detección e identificación de estos patógenos. En los últimos años, técnicas basadas en la biología molecular han facilitado la detección de microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), estas técnicas proporcionan resultados con mayor rapidez y con alta especificidad y sensibilidad.

Una de estas técnicas es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que permite la obtención de múltiples copias del fragmento de DNA tras su amplificación, con bajas concentraciones de este es posible la detección de un gen que tenga relación con el microorganismo de interés (Hernández-Cortez, C, *et al.*; 2013).

En México, no es reconocido el papel que tiene *Aeromonas* como agente causal de infecciones intestinales y se da más importancia a otros géneros bacterianos como *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *E.coli* entre otros, a diferencia de países como España en

donde algunas especies del género *Aeromonas* es la tercera causa de enfermedades gastrointestinales y se reporta en el boletín epidemiológico del Instituto de Salud Carlos III, las especies que se aíslan con mayor frecuencia de procesos gastrointestinales son *A. caviae*, *A. dhakensis*, *A. veronii* bv. *sobria* y *A. hydrophila*, que representan el 91 % de las cepas del género identificadas utilizando métodos genéticos (Castro-Escarpulli, G, *et al.*; 2002; Gonçalves-Pessoa R, *et al.*).

En el presente trabajo de investigación se identificó y clasificó aislados de *Aeromonas* spp., a partir de carne de pollo de distintos puntos comerciales de la Ciudad de México, con base en el metabolismo de aminoácidos y reacciones como Voges-Prokauer e hidrólisis de Bilis Esculina, estos esquemas de clasificación pueden ser de ayuda para su identificación en el laboratorio clínico y agrupan diferentes especies, ya que la diferenciación entre estas se dificulta debido a la falta de consistentes reacciones fenotípicas que permitan la identificación inequívoca de la especie (Abbott, S., *et al.*; 2003). Por ello Abbott y colaboradores en el 2003 propusieron protocolos bioquímicos para la caracterización de las especies de *Aeromonas* en tres grandes grupos fenotípicos tradicionales ("*A. hydrophila*", "*A. caviae*" y "*A. sobria*") lo que permite que en los laboratorios clínicos se puedan identificar.

140 (80.92 %) de los aislados fueron identificados como *Aeromonas* tras la detección del gen *gcat* mediante una PCR simple, este gen es un marcador molecular muy usado para la identificación de este género. Tras clasificar estos aislados en biogrupos y complejos, se observó un mayor número de aislados (84) agrupados en el complejo *A. sobria*, que se relaciona estrechamente con infecciones a animales,

en este caso el pollo, y recordando que *Aeromonas* está ampliamente distribuido, su alta prevalencia en este ambiente puede deberse al tratamiento que reciben los pollos en la granja, a través del agua o alimento que consumen, o incluso su presencia podría estar relacionada al suelo o a la cama húmeda donde habitan estas aves. Un análisis más detallado y con otras técnicas de estos aislados, permitiría conocer los factores putativos de virulencia que presentan.

CONCLUSIÓN

De 173 cepas identificadas presuntivamente como *Aeromonas* spp., aisladas de carne de pollo; se logró clasificar a 140 en biogrupos y complejos, siendo el complejo *A. sobria* el dominante entre los tres complejos existentes.

AGRADECIMIENTOS

Graciela Castro-Escarpulli recibe el apoyo de Estímulos al Desempeño en Investigación, de la Comisión y Fomento de Actividades Académicas del Instituto Politécnico Nacional y del Sistema Nacional de Investigadores (SNI, CONACyT). Este estudio fue financiado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (SIP 20194936). Luis Uriel Gonzalez Avila es becario CONACyT.

REFERENCIAS

- Castro-Escarpulli G., Aguilera-Arreola MG., Giono-Cerezo S., Hernández-Rodríguez CH, Rodríguez-Chacón M., Soler-Falgás L., Aparicio-Ozores G., Figueras-Salvat MJ. (2002). El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 22(4), 206.
- Gonçalves-Pessoa R. Felix-de Oliveira W., Santa Clara-Marques D., dos Santos-Correia MT., Maciel-de Carvalho EV., Barroso-Coelho LC. (2019). The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial Pathogenesis*, 130, 81-94.
- Abbott, S., Cheung, K. W., Janda, M. (2003). The Genus *Aeromonas*: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(6), 2348-2357.
- Chacón MR., Castro-Escarpulli G., Soler L., Guarro J., & Figueras MJ. (2002). A DNA probe specific for *Aeromonas* colonies. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 44(3), 221-225.
- Hernández-Cortez C., Méndez-Tenorio A., Aguilera-Arreola MG., & Castro-Escarpulli G. (2013). Design and standardization of four multiplex polymerase chain reactions to detect bacteria that cause gastrointestinal diseases. *African Journal of Microbiology Research*, 7(21), 2673-2681.

Cuerpo académico UJE- CA- 134 Química y Tecnología de Productos Alimenticios

LGAC: Química y Tecnología de Alimentos y Subproductos

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Contenido de licopeno en tomate orgánico y con fertilización química.	Guadalupe Candelas Cadillo	
PROPIEDADES FUNCIONALES Y DE TEXTURA DE SÁBILA (<i>Aloe vera barbadensis</i> Miller) FRESCA Y PROCESADA.		
Extracción de biocomponentes de diferentes matrices alimentarias aplicando ultrasonido de potencia	José Rafael Minjares Fuentes	
Aplicación de ultrasonidos de potencia al gel de Aloe vera		
Efecto de la temperatura y la velocidad de alimentación del secado por aspersion en las propiedades funcionales, la concentración de aloemodina y aloína, la actividad antioxidante y el perfil de carbohidratos del jugo de gel de <i>Aloe barbadensis</i> Miller	Juan José Martínez García	
Construcción de un extractor sólido – líquido didáctico	Víctor Manuel Rodríguez González	
Toxicidad de los subproductos mediante pruebas en líneas celulares.	María de los Ángeles Sáenz Esqueda	



Facultad de Ciencias Químicas

Gómez Palacio

REGLAMENTO

Artículo 5. El usuario tiene las siguientes obligaciones:

1. Trabajar en las áreas de los laboratorios bajo la supervisión de un catedrático o instructor.
2. Permanecer en las áreas de Laboratorios con bata blanca, limpia, abotonada, de manga larga **y de largo tres cuartos.**
3. Guardar la disciplina correspondiente dentro de las áreas de los laboratorios (No correr, jugar y/o gritar dentro de las áreas o pasillos). **De igual manera no colocar mochilas ni objetos personales en las mesas de trabajo, por el contrario deberán hacer uso de los estantes destinados para ello.**
4. No introducir ni consumir alimentos dentro de las áreas.
5. No masticar chicle, escupir, fumar, evitar el uso del celular dentro del laboratorio
6. No aplicarse cosméticos en el laboratorio, **ni peinarse.**
7. No entrar con cachucha, pantalones cortos, uñas largas y lo respectivo contemplado en el Reglamento Interno de la Facultad, **No debe ingresarse con sandalias ni calzado descubierto.**
8. Traer el pelo recogido para evitar accidentes.
9. Uso de gafas de seguridad para maestros y alumnos
10. Asegurarse de solicitar acertada y detalladamente el material y reactivos requeridos para la práctica. **Dicho material debe revisarse al ser recibido por el alumno y de igual manera entregarlo en las condiciones que se recibe.**

ADMINISTRACIÓN 2018-2024

SECCIÓN DE CARTELES

SICQ 2019



"No olvidemos jamás que lo bueno no se alcanza nunca"
Victor Hugo (1802-1885); novelista francés.

Demostración *in silico* del sistema de secreción tipo IV en *Porphyromonas gingivalis*

¹Miranda López Diana Concepción, ²Sánchez Vallejo Carlos Javier, ¹Castro Escarpulli Graciela

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, Depto. Microbiología, ²Laboratorio de Genética Molecular, Depto. Bioquímica, ENCB-IPN, Ciudad de México.

RESUMEN

Porphyromonas gingivalis es un bacilo Gram negativo, anaerobio obligado, no móvil y asacrolítico. Se han identificado diversos metabolitos y enzimas producidas por *P. gingivalis*, que podrían estar implicados en diversas infecciones como la periodontitis, enfermedades sistémicas, cardiovasculares, infecciones respiratorias y nacimientos prematuros. Por la importancia de la bacteria como patógeno de humanos, se determinó la presencia del sistema de secreción tipo IV mediante genómica comparativa, de tal forma que el generar relaciones funcionales entre los factores de virulencia permitirá comprender la biología celular de este microorganismo y las interacciones con otros organismos y su ambiente. Para tal fin se descargaron las secuencias del genoma, el ORFoma y proteoma de 18 cepas de *P. gingivalis*. Primero se descargaron las secuencias del NCBI, para conformar la minería del banco de datos, en archivos con los formatos *.fna, *.ffn, *.faa y *.ptt. Finalmente se realizó el análisis de genomas utilizando BLASTn y BLASTp con el fin de encontrar similitudes y diferencias entre los genomas. En el estudio se incluyó la búsqueda de familias de proteínas y su función empleando la ontología de genes. Derivado del análisis comparativo se eligió el servidor *GVIEW SERVER* ya que permite ejecutar un análisis genómico comparativo, con el cuál se obtiene un visor de genoma circular y lineal. Los análisis comparativos, mostraron tanto regiones conservadas, como regiones no compartidas. Por ello se realizó un análisis comparativo de los genomas completos, tomando como referencia a la cepa KCOM 2800 para corroborar que es lo que comparten o no con las cepas americanas. Lo anterior, se comprobó por medio del servidor *ISLAND VIEWER*, al comparar la cepa KCOM 2800 y la ATCC 33277, se demostró que la cepa KCOM 2800 posee una isla genómica donde se localiza por primera vez la presencia de genes que codifican para el sistema de secreción tipo IV el cual no está caracterizado para esta especie, en contraste con la cepa de referencia ATCC 33277 que no los presenta, lo que hace proponer caracterizarlos en la cepa KCOM 2800.

Evaluación del Cumplimiento a la NOM-251-SSA1-2009 de los Comedores de Hospitales del Sector Público en el Norte del Estado de Sinaloa

¹Verduzco Heredia María de los Ángeles, ²Vejar Cota Guadalupe

¹Laboratorios Verduzco, A. Flores 335, Guasave, Sinaloa, México,

*Email: mariverher@gmail.com

RESUMEN

Los comedores intrahospitalarios presentan riesgo de transmisión de enfermedades por los alimentos a los pacientes o al personal de la institución. **Justificación:** Estos riesgos se miden como puntos críticos de contaminación, y su reducción previene la transmisión de enfermedades por alimentos ahí preparados, así como proliferación de brotes, incrementado los costos y tiempo de atención de los pacientes, además de ausentismo del personal. **Objetivo:** Se identificó el grado de cumplimiento a la NOM-251-SSA1-2009. **Materiales y Métodos:** mediante un cuestionario en comedores intrahospitalarios del sector público (IMSS, ISSSTE y HG de la SSA) en el Norte de Sinaloa (municipios de Ahome, Guasave y Salvador Alvarado). Identificando, observando y generando recomendaciones. Se evaluaron mediante un diseño multifactorial en bloques tratado con el STSS, los puntos críticos de riesgo en 137 variables (cumple, no cumple y no aplica), aplicadas en cuatro conjuntos (Infraestructura, equipamiento, buenas prácticas y materias primas) y en trece áreas de acuerdo con las actividades. **Resultados:** En orden HG, IMSS, ISSSTE; La frecuencia de mayor desviación en variables evaluadas (%/v) en equipamiento 40.0; 34.8 y 5.6%/v; Infraestructura 33.3; 11.5 y 39.3%/v; Buenas prácticas 24.2; 13.2 y 13.8%/v; materias primas 16.7; 20.0 y 23.5%/v respectivamente. El comedor ISSSTE con mejor equipo, falta mantenimiento a infraestructura; IMSS con mayor aplicación de las Buenas Prácticas por personal y controles; HG tiene materias primas frescas y de calidad. **Conclusiones:** Reparando las instalaciones, equipando con termómetros refrigeradores, congeladores, ambientales y en cocimiento de alimentos; estaciones de lavado de manos en número y cumplimiento; iluminación adecuadas y con mica protectora; capacitación al personal e implementación de medidas correctivas a desviaciones. Se reducen los riesgos de transmitir enfermedades y proliferación de brotes en el personal y pacientes hospitalizados, con disminución de costos de tratamiento, tiempo de estancia y recuperación, además son herramientas para fortalecer el Plan de Prevención de Infecciones Intrahospitalarias.

Palabras claves: Comedores intrahospitalarios; Infecciones intrahospitalarias por alimentos; infecciones transmitidas por alimentos (ITAs); Hospitales Públicos en el Estado de Sinaloa; NOM-251-SSA1-2009.

Detección de integrón clase uno en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de pacientes de un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México

^{1,2}Ramírez Hernández Perla Isabel, ¹Pelcastre Rodríguez Leda Ivonne, ²Ruiz Ruiz Juan Manuel, ²Robles-Ramírez Roberto Joaquín, ¹Castro Escarpulli Graciela.

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, Departamento de Microbiología, ENCB-IPN.

²Laboratorio de Microbiología del Laboratorio Clínico del Hospital de Pediatría "Silvestre Frenk Freud" del CMN Siglo XXI, del IMSS.

RESUMEN

El integrón clase I se considera un elemento genético dinámico, que funciona como un sistema de captura de genes y provee un mecanismo para la adquisición y diseminación de genes de resistencia. Existen diversos estudios que involucran la presencia de este integrón con la resistencia antimicrobiana que se ha presentado en *Klebsiella pneumoniae* en las últimas décadas. Por tal motivo en este trabajo se detectó el gen *intl1* que codifica para la enzima integrasa en 23 cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de diversas muestras clínicas de pacientes que son tratados en el Hospital de Pediatría "Silvestre Frenk Freud" del Centro Médico Nacional Siglo XXI. La amplificación del gen *intl1* se logró mediante una PCR convencional y el uso de iniciadores y condiciones de reacción específicas y previamente estandarizadas por Sánchez-Garibay (2010). Se detectó que 86.95 % de las cepas estudiadas poseen el gen *intl 1*, por lo que se demostró que este se encuentra ampliamente distribuido, esto se relaciona directamente con el perfil de multidrogoresistencia (MDR) que las cepas poseen.

Palabras clave: integrón clase I, PCR, *Klebsiella pneumoniae*

Serotipificación de *Salmonella* aisladas de hemocultivos de pacientes pediátricos

¹Pelcastre-Rodríguez Leda Ivonne; ¹Zavala-Ramírez Luis Enrique; ¹Colmenero-Solís Raúl de Jesús; ²Navarro Ocaña Armando; ³Arzate Barbosa Patricia, ¹Castro- Escarpulli Graciela.

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, Departamento de Microbiología. ENCB-IPN.

²Departamento de Serología de la Facultad de Medicina de la UNAM.

³Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la UNAM.

RESUMEN

La salmonelosis es un cuadro clínico causado por bacterias del género *Salmonella* las cuales son bacilos Gram negativos, lactosa negativos, anaerobios facultativos y móviles. Actualmente se conocen más de 2600 serovariedades que la mayoría tienen la capacidad de desarrollar infecciones en humanos y animales. Las serovariedades que se aíslan con mayor frecuencia en México son: Typhimurium, Enteritidis y Typhi, estas poseen diferentes grados de patogenicidad, que causan infecciones intestinales agudas hasta infecciones invasivas y graves como bacteriemias. El objetivo de trabajo fue determinar las serovariedades de mayor frecuencia aisladas de hemocultivos procedentes de pacientes del Instituto Nacional de Pediatría. Se realizó la identificación de 23 cepas de *Salmonella* por espectrometría de masas, con el sistema MALDITOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight) utilizando el sistema VITEK® MS Plus (Biomerieux), también se realizó la tipificación de las cepas por la técnica de ERIC-PCR. Por otro lado, la serotipificación somática O y flagelar H se realizó con base en el siguiente protocolo que establece el InDRE (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica). Se identificaron las cepas como *Salmonella*, con un 99.80 % de intervalo de confianza y con un grado de patogenicidad crítico, en la tipificación se presentaron eventos de clonalidad entre cepas por otro lado, las serovariedades fueron: *Salmonella* Enteritidis 17/23 (73.91 %), *Salmonella* Typhimurium 3/23 (13.04 %) y *Salmonella* Typhi 3/23 (13.04 %). Por lo que este trabajo busca informar a las instituciones de salud pública la importancia de la presencia del género *Salmonella* como un agente causal de infecciones gastrointestinales que pueden evolucionar a un cuadro clínico severo, como lo es la bacteriemia en pacientes pediátricos que presentan un sistema inmunológico comprometido. No se descarta que en unos años posteriores existan nuevas variaciones en la frecuencia de serovariedades debido a factores como variación ambiental, variabilidad genética y resistencia antimicrobiana.

Palabras clave: *Salmonella*, serovariedades, tipificación.

Detección de los genes de las enterotoxinas citotónicas del género *Aeromonas* en muestras de ostiones distribuidas en la Ciudad de México

¹González-Ávila Luis Uriel, ¹Torres-Santiago Melissa, ²Hernández-Cortez Cecilia, ³Ibáñez-Hernández Miguel Ángel Antonio, ¹Castro-Escarpulli Graciela.

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, ²Laboratorio de Bioquímica Microbiana, Departamento de Microbiología. ³Laboratorio de Terapia Génica, Departamento de Bioquímica. ENCB-IPN, Ciudad de México.

RESUMEN

Los ostiones son alimentos que contienen gran cantidad de bacterias por lo que son focos para la adquisición de infecciones gastrointestinales, lo que puede representar un problema serio de salud pública. El género *Aeromonas* se considera un agente etiológico de infecciones gastrointestinales y se ha aislado frecuentemente de alimentos como vegetales, pollo y ostiones. Estos últimos podrían ser vectores importantes de patógenos debido a que los consumidores los ingieren generalmente sin cocción, lo que favorece la presencia de *Aeromonas* viables con sus correspondientes factores putativos de virulencia (FPV), como las enterotóxicas similares a la toxina colérica. El objetivo de presente trabajo fue: determinar la presencia de *Aeromonas* y los genes de las enterotoxinas *ast* y *alt* en muestras de ostiones de la Ciudad de México. Se recolectaron 20 muestras de ostiones que se distribuyen en comercios ambulantes de la Ciudad de México, para la búsqueda de *Aeromonas* spp., las muestras fueron enriquecidas en agua peptonada al 1 % con pH de 8, durante 6 horas a 37 °C, después se sembraron en gelosa MacConkey y Cromocen AGN. Se detectó el gen *gcat*, marcador molecular del género, por PCR, y los genes *ast* y *alt* por PCR múltiple. La clonalidad de los aislamientos se determinó mediante una ERIC-PCR. Del crecimiento bacteriano se tuvieron 120 aislamientos presuntivos del género *Aeromonas* y se conservaron a mediano plazo, de los cuales se analizaron 91, se detectó el gen *gcat* en 88 de los 91 aislamientos analizados, los positivos a la presencia de este gen dieron negativas. Mediante la técnica de ERIC-PCR, no se demostró relación clonal entre las cepas identificadas como *Aeromonas*. Por último, se detectó la presencia de los genes *ast* y *alt* por PCR múltiple, el gen *ast* en 8 cepas (9 %) y el gen *alt* en 22 cepas (25 %), en 11 de las cepas (13%) se encontraron ambos genes simultáneamente. Con base en los resultados, se concluye que los ostiones distribuidos en la Ciudad de México presentan *Aeromonas*, y estas contienen los genes que codifican para los FPV. Estos resultados permiten sugerir la búsqueda del género *Aeromonas*, de manera rutinaria, en muestras de alimentos de origen marino como los ostiones y otros, para prevenir las infecciones gastrointestinales.

Palabras clave: Ostiones, *Aeromonas*, infecciones gastrointestinales

Determinación de metahemoglobina en individuos con exposición crónica a nitratos.

²García Torres Edgar, ²Pérez Morales Rebeca, ⁴González Zamora Alberto, ²Ríos Sánchez Efraín, ³Alba Romero José de Jesús, ^{1*}Calleros Rincón Esperanza Yasmín

¹Salud y Medio Ambiente, FCQ-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Artículo 123 s/n, Col. Filadelfia, Mpio. Gómez Palacio, Dgo.

²Laboratorio de Biología Molecular, FCQ-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Artículo 123 s/n, Col. Filadelfia, Mpio. Gómez Palacio, Dgo.

³Laboratorio de Microbiología Clínica, FCQ-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Artículo 123 s/n, Col. Filadelfia, Mpio. Gómez Palacio, Dgo.

⁴Laboratorio de Biología Evolutiva, FCB-UJED, Gómez Palacio, Dgo. Av. Universidad S/N, Fracc. Filadelfia, 35010 Gómez.

*Email: dra.ecallerosrincon@ujed.mx

Introducción: Los nitratos (NO_3^-) son compuestos iónicos que se encuentran diseminados en la naturaleza. Por medio de la acción microbiana los NO_3^- puede ser reducido a nitritos, donde estos últimos representan la forma iónica más reactiva. Estos compuestos están implicados en la formación de metahemoglobina (MetHb), que es la forma oxidada de la hemoglobina (Hb) la cual no permite un correcto transporte de oxígeno, además de enfermedades como el cáncer (por compuestos N-nitrosos) y alteraciones en el sistema endocrino. La MetHb circulante en condiciones normales no sobrepasa el 1.5% del total de Hb, cuando esto ocurre, se puede dar paso a un cuadro clínico de gravedad caracterizado por cianosis. Las comunidades de la zona rural de la Ciudad de Lerdo, Durango, se caracterizan por tener actividades antropogénicas que han sido relacionadas a una contaminación de suelos y mantos acuíferos por NO_3^- . **Objetivo:** Determinar los niveles de MetHb en individuos con exposición crónica a NO_3^- . **Materiales y métodos:** Estudio transversal, realizado en 5 comunidades de la zona rural de la Ciudad de Lerdo, Durango. Como universo de estudio, fueron individuos residentes de las comunidades, previa invitación, firmaron una carta de consentimiento informado y contestaron un cuestionario. El tamaño de muestra fue de 87 individuos con residencia mayor a 1 año y consumo de agua, para beber y cocinar alimentos, directamente de la llave. Se tomó muestra sanguínea por venopunción en tubo con EDTA. La MetHb se determinó utilizando el método empleado por Sakata y cols., (1982). Se realizó análisis estadístico univariado y bivariado, utilizando el software R Studio. **Resultados:** Se encontró un 82% de la población estudiada con niveles de MetHb que sobrepasan el nivel de referencia. **Conclusiones:** La exposición crónica a niveles altos de nitratos está relacionada a la presencia y aumento de metahemoglobina por encima de los valores considerados como normales.

Palabras clave: Nitratos, Metahemoglobina, agua de bebida contaminada.

Factores Putativos de Virulencia de cepas de *Aeromonas* aisladas en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México

¹Pelcastre-Rodríguez Leda Ivonne, ¹Colmenero-Solís Raúl de Jesús, ¹González-Ávila Luis Uriel, ²Hernández-Sánchez Eva Aurora, ¹Castro-Escarpulli Graciela

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, Departamento de Microbiología. ENCB-IPN. ²Hospital de Infectología Centro Médico Nacional "La Raza", IMSS.

RESUMEN

El ambiente hospitalario constituye un reservorio importante de microorganismos capaces de generar infecciones. Los microorganismos de origen ambiental pueden transmitirse por diferentes rutas y se relacionan con áreas, concéntricas y confluentes, en función a la proximidad que tienen con el paciente. Por otro lado, en ocasiones, no se dispone de recomendaciones para prevenir, monitorizar o controlar la presencia de estos, como es el caso del género *Aeromonas* considerado como un patógeno emergente, ya que posee múltiples factores putativos de virulencia que se asocian al desarrollo de infecciones. El objetivo del presente trabajo fue: Demostrar la presencia del género *Aeromonas* en el ambiente hospitalario, así como detectar los genes que codifican para algunos factores putativos de virulencia, lo que permitirá reconocer cepas potencialmente virulentas como un factor de riesgo de infección. Se identificaron los aislamientos a nivel de género por la detección del gen *gcat*, posteriormente se realizó la identificación a nivel de especie por la técnica de RFLP-PCR del gen *16S rRNA* y *rpoD*, por otro lado, la tipificación se realizó por la técnica de ERIC-PCR, además se realizó la detección de seis factores putativos de virulencia por PCR punto final. Se obtuvieron 24 aislamientos identificados como *A. caviae* (15/24), *A. hydrophila* (2/24), *A. media* (1/24), *A. rivuli* (1/24) y *A. enteropelogenes* (5/24). No se presentaron eventos de clonalidad entre estas y se detectaron diferentes genes que codifican para algunos factores putativos de virulencia como *exu* (6/24), *lafA* (3/24), *amoA* (11/24), *hgp* (12/24) *aer/hem* (12/24), *stx1* (0/24), *stx2* (0/24), *ast* (7/24) y *alt* (5/24).

La presencia de especies del género *Aeromonas* en el ambiente hospitalario podría representar un riesgo de infección para los pacientes que son tratados en dicho hospital.

Palabras clave: *Aeromonas*, Factores putativos de virulencia, ambiente hospitalario.

Biogrupos y complejos de cepas de *Aeromonas* aisladas de carne de pollo en la Ciudad de México

¹Medina-De La Cruz Roger Orlando, ¹González-Ávila Luis Uriel, ¹Colmenero-Solís Raúl De Jesús, ²Hernández-Cortez Cecilia, ^{1*}Castro-Escarpulli Graciela.

¹Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, ²Laboratorio de Bioquímica Microbiana, Departamento de Microbiología. ENCB-IPN, Ciudad de México.

RESUMEN

El género *Aeromonas* comprende más de treinta especies de bacilos Gram negativos, distribuidos ampliamente en agua y otras fuentes. Esta bacteria se aísla de humanos, animales, fuentes de agua y alimentos, siendo los últimos, de gran importancia por ser una fuente de infección intestinal; entre estos los más comunes de los cuales se aísla, están pescados, crustáceos, vegetales y carne de pollo, lo cual convierte a estos en un riesgo sanitario; por lo tanto en el presente estudio se propuso realizar la identificación y clasificación de cepas de *Aeromonas* spp., aisladas de muestras de carne de pollo obtenidas de diferentes lugares comerciales de la Ciudad de México, para demostrar que estos alimentos contaminados por *Aeromonas* son un riesgo para la salud. Un total de 173 aislados de *Aeromonas* spp., fueron evaluados mediante PCR y pruebas bioquímicas para su clasificación en biogrupos y complejos, logrando la clasificación de 140 de 173 aislados (80.92%), lo que permite conocer de manera más amplia los biogrupos y complejos involucrados. Por lo anterior, se considera que la presencia de *Aeromonas* spp., en el pollo representa una mala calidad sanitaria del alimento.

Palabras clave: *Aeromonas*, biogrupos, complejos, pruebas bioquímicas

Cuerpo académico UJE-CA-125 Bacteriología Médica Diagnóstica y Salud Pública

LGAC: Factores de virulencia y drogosensibilidad de las enfermedades infecciosas y Salud Pública

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Perfil microbiológico de úlceras de pie diabético y actividad antimicrobiana	<p data-bbox="803 680 1089 709">Aurora Martínez Romero</p> 	
Identificación de fuentes de contaminación, una estrategia de saneamiento básico en la prevención de brucelosis humana		
Evaluación del efecto inhibitor y potenciador del plasma rico en plaquetas ante fármacos en microorganismos nosocomiales y su correlación con resistencia a fármacos		
Aplicación del árbol de neem en agricultura, industria, medicina y ambiente: una revisión.		
Diagnóstico de brucelosis caprina por serología y PCR múltiple		
Aislamiento de Mycobacterium abscessus en un paciente con afección cutánea		
Asociación entre el fenotipo del sistema sanguíneo ABO y leucemias		
Análisis de los factores de crecimiento y su efecto inhibitor en microorganismos de importancia clínica	<p data-bbox="795 1346 1097 1375">José de Jesús Alba Romero</p> 	
Aislamiento e identificación de Aeromonas productoras de biopelícula en peces del río Nazas		
Aislamiento e identificación de microorganismos nosocomiales más frecuentes y análisis de sus factores de virulencia		
Análisis de expresión de los genes que codifican para bombas de expulsión y su correlación con resistencia a fármacos de primera y segunda línea por el método de azul de alamar en cepas de micobacterias		
Análisis de los genes lasI/lasR y rhII/rhIR como reguladores de transcripción de los factores de virulencia dependientes del Quorum sensing y su correlación a fármacos en cepas de Pseudomana aeruginosa aislada de pacientes hospitalizados		
Evaluación de los métodos para el diagnóstico de salmonelosis por ELISA y aglutinación en pacientes crónicamente expuestos		
Determinación de Plomo (Pb) y Arsénico (As) en cápsulas de gelatina dura y blanda para uso farmacéutico	<p data-bbox="787 1709 1105 1738">Sandra Hernández González</p> 	

Cuerpo académico UJE-CA-103 Ciencia y Tecnología de Alimentos LGAC: Desarrollo e innovación de Alimentos

Nombre proyecto	Investigador responsable	
<p>Potencial nutracéutico de maíz pigmentado cultivado en la comarca lagunera.</p>	<p>Miguel Aguilera Ortiz</p> 	
<p>Caracterización y purificación de la enzima coagulante de la leche presente en la <i>Moringa oleifera</i> y su uso potencial en la elaboración del queso de soya.</p>	<p>Erick Sierra Campos</p> 	
<p>Purificación y caracterización bioquímica de las proteasas de la semilla de <i>Moringa oleifera</i> Lam. Y su uso potencial en la producción de péptidos bioactivos por la hidrólisis de la K-caseína y β-conglucina</p>		
<p>Los polifenoles del extracto de <i>Moringa oleifera</i> evitan la disfunción mitocondrial y estimular el estado redox celular en ratas con diabetes tipo II.</p>		
<p>Proteómica y genómica de especies bacterianas y virales aisladas de especies animales</p>		
<p>El extracto de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> protege contra la dislipidemia metabólica en ratas diabéticas al regular la paraoxonosa-1 y la oxidonitricosintasa</p>		
<p>Compuestos activos con capacidad hipoglucemiante en <i>Cnidioscolus chayamansa</i> (chaya), <i>Euphorbia prostrata</i> (Hierba de la golondrina), y <i>Jathrophia dioica</i> (Sangre de drago).</p>	<p>Juan Ramón Esparza Rivera</p> 	
<p>Producción de hortalizas de alta rentabilidad con sustratos y soluciones nutritivas orgánicas bajo invernadero.</p>		
<p>Diseño y uso de cubiertas comestibles a base de polisacáridos para aumentar la vida de anaquel de frutas y hortalizas</p>	<p>Jorge Armando Meza Velázquez</p> 	
<p>Aplicación de tecnologías emergentes para la conservación de alimentos</p>		



La Universidad Juárez del Estado de Durango Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio

a través de la
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Convoca

A todas las personas interesadas, egresadas de las carreras de Químico Farmacéutico Biólogo, Ingeniero Químico en Alimentos, Medicina, Biología, Ingeniería Química, Ingeniería Bioquímica, Agronomía, Ecología, Biotecnología entre otras áreas afines; que tengan conocimientos en el área de química, biología y estadística, destreza en el manejo de instrumental de laboratorio, habilidades orales escritas (En español e inglés) y habilidades en el uso de herramientas informáticas, que tengan iniciativa así como, interés en la investigación, creatividad, disciplina y con visión holística, para participar en el proceso de admisión y ser candidato a la:

Maestría en Ciencias Químicas

Líneas de Investigación:

- ✓ Desarrollo e Innovación de los Alimentos
- ✓ Bases Bioquímicas y Moleculares de la Salud Ambiental

Opciones terminales:

- ✓ Ciencia y Tecnología de los Alimentos
- ✓ Ciencias Bioquímicas

Fechas importantes

Venta de fichas: Del 18 de febrero al 10 de abril

1ª Etapa:

- Fecha límite para entrega de solicitudes y papelería: 12 de abril

2ª Etapa:

- Curso propedéutico el 29 de abril al 19 de junio
- Evaluación Psicométrica:
 - ✓ Entrevista: 13 – 17 de mayo
 - ✓ Examen psicométrico: 3 de junio
- Examen de conocimientos: 15 de abril
- EXANI III el 08 de junio

3ª Etapa:

- Presentación de proyecto, trabajo de tesis o artículo
- Entrevista con comité de selección: 20 y 21 de junio
- Publicación de resultados el 3 de julio
- Inscripciones nuevo ingreso: 5 de agosto
- Plática de inducción: 5 de agosto 2019
- **Inicio de clases el 12 de agosto 2019**

*Padrón Nacional
de Posgrados
de Calidad*



Requisitos para ficha.

- Copia de acta de nacimiento con formato nuevo
- Copia del certificado de licenciatura o constancia de estudios con calificaciones y promedio mínimo de ocho
- Copia notariada de título o acta de examen profesional
- CV con documentos probatorios
- 2 fotografías tamaño credencial
- CURP
- RFC
- Credencial de elector IFE o INE
- 2 cartas de recomendación de investigadores consolidados
- Recibo de pago de ficha

Mayores informes:

Dra. Concepción García Luján
posgradofcggp@ujed.mx

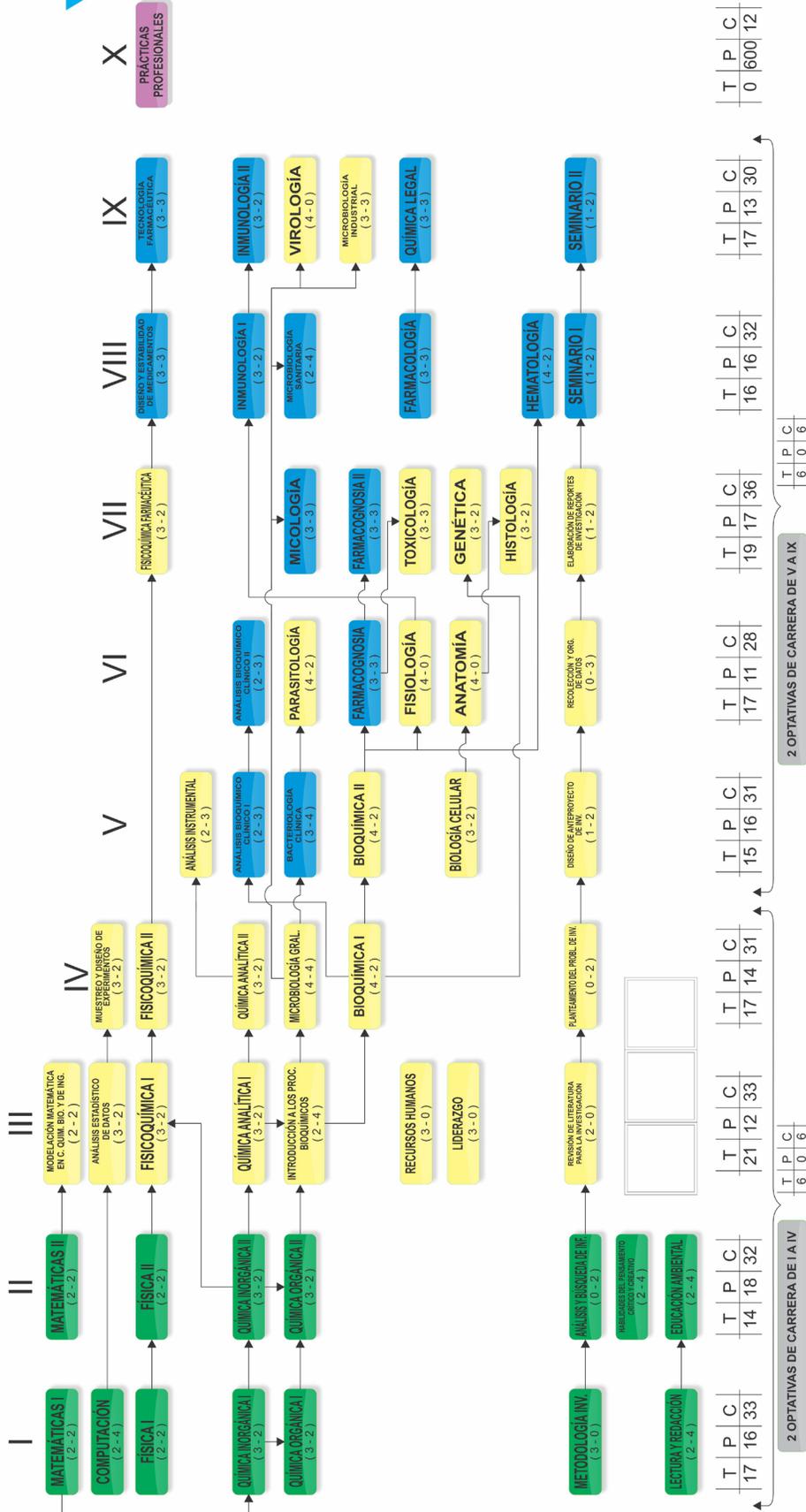
Tel: (871) 7158810 ext. 118 y 131

Pág. Web: www.fcggp.ujed.mx



QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

MAPA CURRICULAR



FORMACIÓN INTEGRAL

ÁREA BÁSICA	ÁREA DISCIPLINAR	EJERCICIO PROFESIONAL	OPTATIVAS	EJE TRANSVERSAL
2 OPTATIVAS DE CARRERA DE I A IV	2 OPTATIVAS DE CARRERA DE V A IX	8 CREDITOS.	10 CREDITOS.	PRÁCTICAS PROF. 12 CREDITOS EXP. RECEP. 4 CREDITOS



REMDIS (fcqgp.ujed.mx)

ISSN: 2594-1445

Publicación Semestral de Investigación Científica en
Ciencias Alimentarias y de Salud.

Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio

Universidad Juárez del Estado de Durango

www.ujed.mx

Artículo 123 S/N Col. Filadelfia, Gómez Palacio,
Durango, México CP 35010

Telefono (871) 715 8810 FAX (871) 715 2964

e-mail: editorremdis@gmail.com