

ESCHERICHIA COLI Y COLIFAGOS SOMÁTICOS:

bioindicadores de contaminación
fecal en el Lago Guamuez

Grupo de investigación
de Biología Matemática
y Matemática Aplicada
(GIBIMMA)

Grupo de investigación
de Biotecnología
Microbiana

Grupo de Investigación
en Salud Pública



Editorial
Universidad de Nariño



Editorial

Universidad de Nariño

***Escherichia coli* y colifagos somáticos:**
bioindicadores de contaminación fecal en el
Lago Guamuez



***Escherichia coli* y colifagos somáticos:**
bioindicadores de contaminación fecal en el
Lago Guamuez



Grupo de investigación de Biología Matemática y
Matemática Aplicada (GIBIMMA)

Grupo de investigación de Biotecnología Microbiana

Grupo de Investigación en Salud Pública



Editorial
Universidad de Nariño

Grupo de investigación de Biología Matemática y Matemática Aplicada (GIBIMMA), Grupo de investigación de Biotecnología Microbiana, Grupo de Investigación en Salud Pública
Escherichia coli y colifagos somáticos : bioindicadores de contaminación fecal en el Lago Guamuez/
Grupo de investigación de Biología Matemática y Matemática Aplicada (GIBIMMA), Grupo de investigación de Biotecnología Microbiana, Grupo de Investigación en Salud Pública. --1ª Ed.-- San Juan de Pasto : Editorial Universidad de Nariño, 2023
228 p. : il. byn., col., tablas, diagramas, mapas

Incluye bibliografía al final de cada capítulo

ISBN: 9786287679009 Digital

ISBN: 9786287509993 Impreso

1. Escherichia coli--Biología 2. Escherichia coli --Bioindicador 3. Bacteriófagos--Ecología 4. Bacteriófagos--Biología 5. Contaminación Lago Guamuez--Bioindicadores 6. Contaminación fecal 7. Aguas residuales--Contaminación I. Burbano Rosero, Edith Mariela ... [et al.]

363.7394 G892es – SCDD-Ed. 22



Sección de Biblioteca
"Alberto Quijano Guerrero"

Escherichia coli y colifagos somáticos: Bioindicadores de contaminación fecal en el Lago Guamuez

© Editorial Universidad de Nariño

© Edith Mariela Burbano Rosero
Jenny Dimelza Gómez Arrieta MSc. PhD.
Deisy Lorena Guerrero Ceballos MSc.
Arsenio Hidalgo Troya
Eddy Patricia López Molano PhD.
Mario Andrés Pantoja España
Juan Camilo Paz García
María Alejandra Mármol Martínez
Eduardo Ibarquen Mondragón MSc. PhD.
Miller Cerón Gómez MSc. PhD.
Raúl Mauricio Insuasty Ing.
Pablo Heyman Fernández Izquierdo PhD.

ISBN Digital: 9786287679009

ISBN Impreso: 9786287509993

Primera Edición

Corrección de estilo: **Ana Cristina Chávez López**

Diseño y Diagramación: **Manuel Alejandro Insandara Arteaga**

Fecha de Publicación: Septiembre 2023

San Juan de Pasto - Nariño - Colombia.

Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio o con cualquier propósito, sin la autorización escrita de su Autor o de la Editorial Universidad de Nariño.

*Dedicado a todos los niños y sus familias
que han sufrido por la falta de acceso al
agua potable en las regiones colombianas.*



Contenido

Introducción.....12

CÁPITULO I

EL CONTEXTO DEL RECURSO HÍDRICO.....15

1.1 Problemas de salud pública causados por la contaminación de fuentes hídricas 15

1.2 Organismos enteropatógenos: problema de salud pública.....21

1.3 Principales agentes entéricos con mayor incidencia en la población 27

1.4 Epidemiología de enfermedades entéricas en Colombia29

1.5 Epidemiología de enfermedades entéricas en Nariño - Colombia..... 38

1.6 Uso de bioindicadores para detectar el grado de contaminación fecal del agua 41

1.7 Conclusiones del capítulo..... 44

Referencias.....45

CÁPITULO II

BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE ***Escherichia coli*** COMO BIOINDICADOR DE LA CONTAMINACIÓN

FECAL DEL AGUA.....51

2.1 *Escherichia coli* como bioindicador de contaminación fecal52

2.2 Hábitats 54

2.3 Patotipos de ***Escherichia coli***..... 62

2.3.1 *E. coli* enterohemorrágica (EHEC).....65

2.3.2 *E. coli* enteroagregativa (EAEC).....66

2.3.3 *E. coli* enteropatógena (EPEC).....67

2.3.4 *E. coli* enterotoxigénica (ETEC).....67

2.3.5 *E. coli* Shigatoxigénica (STEC).....68

2.3.6 *E. coli* enteroinvasiva (EIEC).....69

2.3.7 <i>E. coli</i> uropatogénica (UPEC).....	70
2.3.8 <i>E. coli</i> de adherencia difusa (DAEC).....	71
2.3.9 <i>E. coli</i> de adherencia invasiva (AIEC).....	71
2.4 Mecanismos de modificación genética y recambio: Papel en la evolución de los patógenos	
(Transferencia horizontal de genes, islas de patogenicidad y evolución de patógenos).....	72
2.5 Factores de virulencia de <i>E. coli</i>	
(Toxinas, sistema de secreción, resistencia a los antibióticos) .	74
2.5.1 Adhesinas.....	75
2.5.2 Cápsulas y biopelículas.....	76
2.5.3 Toxinas.....	77
2.5.4 Islas de patogenicidad.....	79
2.5.5 Sideróforos.....	80
2.5.6 Sistemas de secreción.....	80
2.5.7 Resistencia a antibióticos.....	81
2.5.7.1 Mecanismos contra antibióticos betalactámicos.....	82
2.5.7.2 Mecanismos contra quinolonas.....	83
2.5.7.3 Mecanismos contra tetraciclinas.....	84
2.5.7.4 Mecanismos contra trimetopim sulfametoxazol.....	85
2.5.7.5 Mecanismos contra cloranfenicol.....	85
2.5.8 Mecanismos de acción / infección de las cepas patógenas de <i>E. coli</i> sobre las células de su hospedero.....	88
2.5.8.1 <i>E. coli</i> enteropatógena (EPEC).....	88
2.5.8.2 <i>E. coli</i> Shigatoxigénica (STEC).....	90
2.5.8.3 <i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC).....	92
2.5.8.4 <i>E. coli</i> enteroagregativa (EAEC).....	94
2.5.8.5 <i>E. coli</i> enteroinvasiva (EIEC).....	95
2.6 <i>Escherichia coli</i> como un problema de salud global	97
2.7 Conclusiones del capítulo.....	101

Referencias.....	103
CAPÍTULO III	
BIOLOGÍA DE BACTERIÓFAGOS /	
COLIFAGOS SOMÁTICOS.....	116
3.1 Generalidades	119
3.2 Estructura y biología de los bacteriófagos	121
3.3 Relación entre bacteriófagos y <i>E coli</i>	122
3.4 Uso de colifagos como bioindicadores de	
contaminación fecal en muestras de agua.....	124
3.4.1 Colifagos somáticos.....	127
3.4.2 Bacteriófagos F-específicos.....	129
3.5 Ciclo viral.....	130
3.5.1. Ciclo lítico.....	131
3.5.2 Ciclo lisogénico.....	133
3.6 Ecología de los fagos	134
3.7 Aspectos asociados a la virulencia	135
3.8 Perspectivas de los bacteriófagos	143
3.8.1 Biosensores.....	143
3.8.2 Aplicaciones de los fagos en agricultura	
y seguridad de los alimentos.....	144
3.8.3 Fagos y resistencia a antibióticos.....	145
3.8.4 Aplicaciones en el área médica.....	147
Referencias.....	159
CAPÍTULO IV	
BIOINDICADORES DE CONTAMINACIÓN	
FECAL EN EL LAGO GUAMUEZ.....	167
4.1 Descripción del área de estudio	168
4.2 Materiales y métodos.....	171
4.2.1 Selección de puntos y toma de muestras en el	
Lago Guamuez.....	172

4.2.2 Aislamiento de <i>E. coli</i>	173
4.2.3 Aislamiento de colifagos somáticos.....	176
4.2.4 Extracción de ADN.....	178
4.2.4.1 Extracción, cuantificación y análisis de ADN cromosomal de <i>E. coli</i> por electroforesis en geles de agarosa.....	178
4.2.4.2 Extracción, cuantificación y análisis de ADN de los colifagos somáticos por electroforesis en geles de agarosa.....	179
4.2.5 Identificación molecular de las cepas de <i>E. coli</i> , por amplificación del gen 16S ARNr.....	180
4.2.6 Análisis de variabilidad genética por BOX – PCR para <i>E. coli</i> y colifagos somáticos.....	181
4.2.7 Amplificación de genes asociados a patogenicidad.....	182
4.2.8 Modelamiento matemático.....	183
4.2.9 Análisis estadístico.....	184
4.3 Resultados y Discusión	184
4.3.1 Análisis fisicoquímicos.....	187
4.3.2 Análisis Factorial con Componentes Principales.....	188
4.3.3 Recuentos de <i>E. coli</i> y colifagos somáticos en los puntos de muestreo del Lago Guamuez.....	190
4.3.4 Análisis estadísticos de correlación entre análisis microbiológicos y fisicoquímicos.....	194
4.3.5 Caracterización microbiológica de <i>E. coli</i>	196
4.3.6. Extracción de ácido nucleico de los biondicadores <i>E. coli</i> y colifagos somáticos.....	198
4.3.7. Análisis molecular del gen 16s RNAr de <i>E. coli</i>	199
4.3.8. Verificación de los perfiles de BOX-PCR en <i>E. coli</i> y colifagos somáticos.....	200
4.3.9. Amplificación de genes de virulencia.....	204
4.3.10. Modelado Matemático de la dinámica <i>E. coli</i> -colifagos en fase lítica en el lago Guamuez.....	207
4.4. Conclusiones del capítulo	209
Referencias.....	211

Acerca de los autores.....216

Edith Mariela Burbano Rosero
Jenny Dimelza Gómez Arrieta MSc. PhD.
Deisy Lorena Guerrero Ceballos MSc.
Arsenio Hidalgo Troya
Eddy Patricia López Molano PhD.
Mario Andrés Pantoja España
Juan Camilo Paz García
María Alejandra Mármol Martínez
Eduardo Ibarguen Mondragón MSc. PhD.
Miller Cerón Gómez MSc. PhD.
Raúl Mauricio Insuasty Ing.
Pablo Heyman Fernández Izquierdo PhD.

Lista de tablas.....220

Lista de figuras.....222

INTRODUCCIÓN



Este documento es el resultado del proyecto de investigación titulado ‘Estudio de la diversidad de *Escherichia coli* y colifagos somáticos aislados de muestras de agua del Lago Guamuez (Nariño-Colombia)’, financiado por la Gobernación de Nariño, la Universidad de Nariño y el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias), en el Programa Nacional de Ciencia, Tecnología e innovación en Ambiente, Biodiversidad y Hábitat, Convocatoria 818-2018 I+D+i Nariño, código 65200.

Este texto representa un recurso importante de información para diferentes públicos objeto, especializados y no, que requieran de conocimiento científico sobre la calidad de agua en Colombia, la biología de los bioindicadores (*Escherichia coli* y colifagos somáticos), como también de las metodologías de laboratorio para detectar la presencia de ellos, y técnicas moleculares detalladas para determinar la variabilidad, tanto microbiológica como molecular. Para esta última parte hemos tomado como modelo, el Lago Guamuez, ubicado en el corregimiento del Encano, departamento de Nariño.

La presencia de *E. coli* en el agua es una fuerte indicación de una reciente contaminación de aguas residuales o contaminación de residuos de animales. Es importante tener en cuenta que *E. coli* y los residuos de animales/humanos pueden contaminar los cuerpos hídricos de muchas maneras diferentes. Las fuentes de contaminación fecal de humanos y animales representan un grave riesgo para la salud, debido a la alta probabilidad de la existencia de agentes patógenos en los residuos fecales. Un patógeno es un microorganismo que puede causar enfermedad, dependiendo de los genes asociados a la virulencia que este contenga. Por lo tanto, la presencia de *E. coli* es de preocupación y atención a nivel de la salud pública, y más aún, si se detecta en ella, genes de virulencia asociados a islas de patogenicidad.

Las normas internacionales indican que los colifagos somáticos son un modelo muy útil para predecir el comportamiento de los virus entéricos; estos tienden a persistir en el medio ambiente y son moderadamente resistentes a los factores estresantes naturales y antropogénicos; son muy buenos indicadores, porque persisten generalmente más tiempo que las bacterias en el medio ambiente. Cuando hay colifagos, otros virus pueden estar presentes en el ambiente, pero con concentraciones más bajas. Monitorear a través de este indicador viral puede entonces, prevenir algunas enfermedades relacionadas con virus humanos.

La implementación de controles de calidad de agua más estrictos, el conocimiento de los microorganismos presentes, la descripción del comportamiento de enfermedades y los estudios de análisis de riesgo, permitirán diseñar estrategias que contribuyan a una disminución significativa en la incidencia de diarreas y otras enfermedades de transmisión hídrica y, por lo tanto, una mejora en la calidad de vida de la población.

En el primer capítulo se recopila información de la problemática de acceso al agua potable, abordando la contaminación del recurso por microorganismos patógenos y sus consecuencias directas en el incremento de enfermedades de origen entérico en la población. Como resultado de este proceso infectivo, derivan múltiples hospitalizaciones por cuadros diarreicos agudos que pueden hasta causar la muerte por deshidratación.

Las enfermedades de origen entérico están vinculadas al uso de agua y alimentos contaminados con organismos patógenos, por lo que actualmente se han tornado un problema de salud pública.

En el segundo capítulo se describe la biología y ecología de *E. coli*, como una de las bacterias entéricas más conocidas como bioindicadores de contaminación fecal, sus características morfológicas, bioquímicas, moleculares y su ecología.

En el tercer capítulo se relacionan la biología, patogenicidad y ecología de los colifagos somáticos.

Finalmente, en el cuarto capítulo se presenta algunos datos, resultados del proyecto de investigación y generalidades de importancia para el ambiente estudiado, como también, un modelado matemático preliminar que explica las interacciones de los parámetros fisicoquímicos

en la dinámica poblacional de los bioindicadores que puntualizan este estudio.

Estos datos permitirán dar al lector la primicia de la estimación de la calidad de agua del lago; asimismo, concientizarse sobre la importancia de conservar este ecosistema de valor incalculable para la humanidad, por su riqueza ecológica, estabilidad de ecosistemas y fuente de biodiversidad y sustento.

Esperamos que este texto sea de su agrado.

Los autores.

CÁPITULO I

EL CONTEXTO DEL RECURSO HÍDRICO



1.1 Problemas de salud pública causados por la contaminación de fuentes hídricas

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2006), el agua pura y de fácil acceso es fundamental para la salud pública, ya sea que se utilice para consumo, la producción de alimentos, uso doméstico o fines recreativos. Lamentablemente, datos del Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF, 2019), muestran que, “una de cada tres personas en el mundo no tiene acceso al agua potable” (párr. 1). Este hecho se observa con mayor preocupación en los países en vía de desarrollo; se estima que, en el mundo, al menos dos mil millones de personas se abastecen de una fuente de agua potable que pudo haber sido contaminada por heces u organismos patógenos o, por residuos tóxicos (OMS, 2019a). El consumo de agua contaminada por dichos tipos de desechos está relacionado con la transmisión de graves enfermedades en los seres humanos; entre estas enfermedades se encuentran las de origen entérico, como: diarrea, cólera, disentería, hepatitis A y la fiebre tifoidea (OMS, 2019a). El agua no tratada o que no ha sido debidamente saneada, así como el consumo de alimentos no higienizados, generan graves riesgos para la salud, ya que estos pueden contener altos niveles de desechos de origen fecal, que pueden acarrear organismos patógenos como bacterias (p. ej. *Escherichia coli*, *Salmonella spp*), virus (*Enterovirus*, *Adenovirus*) y parásitos (*Cryptosporidium*, Helmintos) (Madigan et al., 2015). La Figura 1.1 muestra el ciclo general de enfermedades transmitidas por agua contaminada, teniendo como modelo la bacteria entérica *E. coli*.

“Se calcula que la contaminación del agua potable provoca en el mundo más de 502.000 muertes por diarrea al año” (OMS, 2019a, párr. 5) y, corresponde a una de las causas más importantes de mortalidad en países en vía de desarrollo. Se estima que, en estos países, cada año mueren cerca de 3.3 millones de niños menores de cinco años por esta causa (López-Barón et al., 2016). Cabe resaltar que, las enfermedades gastroin-

testinales transmitidas por agua o por alimentos, no están asociadas solamente a poblaciones marginadas de África, Asia y Latinoamérica, sino que, también pueden presentarse en países industrializados (Gómez-Duarte, 2014; OMS, 2017; Organización Panamericana de la Salud (OPS) y OMS (s.f., 2019). En estos países, a pesar de tener unas mejores condiciones sanitarias, la gastroenteritis aguda sigue siendo una de las principales causas de morbilidad infantil y de demanda de atención sanitaria (Gómez-Duarte, 2014; OMS, 2017; OPS y OMS, s.f. 2019).

Una de las consecuencias más graves para la salud de los seres humanos son las enfermedades gastrointestinales transmitidas por agua o por alimentos, las cuales pueden agravarse y generar la denominada Enfermedad Diarreica Aguda o EDA. Durante esta patología ocurre un proceso inflamatorio gastrointestinal que puede ser de origen infeccioso y que se encuentra asociado a un aumento en la frecuencia de deposiciones fecales y vómito, derivando a la deshidratación que, si no es debidamente tratada, puede ser mortal (Gómez-Duarte, 2014).

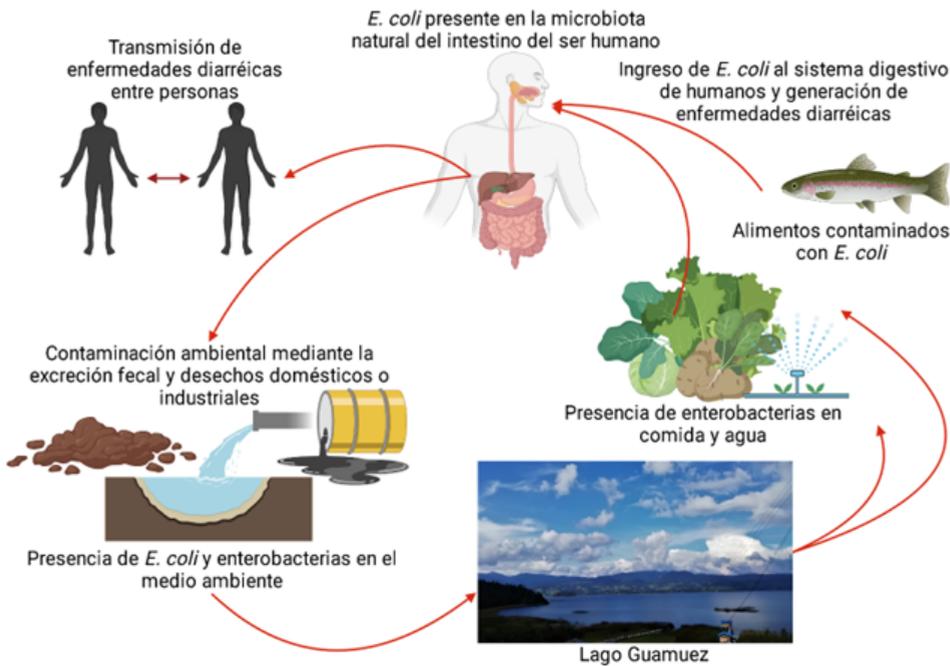


Figura 1.1. Ciclo de enfermedades transmitidas por agua contaminada, teniendo como modelo la bacteria entérica *E. coli*, presente en el Lago Guamuez

En la Figura 1.1 se observa el ciclo por el cual las enterobacterias y *E. coli* presentes en el intestino delgado de animales homeotermos como el ser humano, llegan hasta el medio ambiente por la defecación a campo abierto y los desechos domésticos o industriales. A partir de ahí y, gracias a la ingesta de cultivos contaminados debido al uso del agua del Lago Guamués en el riego y en la ingesta de trucha (*Oncorhynchus mykiss*), llegan hasta el intestino del ser humano y producen enfermedades diarreicas.

De acuerdo con el Ministerio de Salud y Protección Social (2020), en Colombia la EDA es una de las enfermedades más comunes en niños menores de cinco años y, es la segunda causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. En países en vía de desarrollo, los niños menores de tres años sufren, en promedio, tres episodios de diarrea al año (Manrique-Abril et al., 2006). En América latina, según datos de la OPS y la OMS (s.f. 2019), “los países con mayores porcentajes de mortalidad por diarrea en niños menores de cinco años son: Haití (23 %), Guatemala (10 %), Bolivia (7 %) y Venezuela (5 %)” (párr. 7). Estos países presentan bajas tasas de saneamiento básico (UNICEF, 2016); este hecho, sumado a la alta incidencia de enfermedades entéricas, las cuales contribuyen con el retraso en el crecimiento y desarrollo cognitivo en niños, pueden generar un problema social en dichas poblaciones.

En Colombia, a pesar de que las tasas de mortalidad por EDA han disminuido considerablemente en un 77,82 %, entre 2005 y 2017, pasando de 13.4 a 3.0 muertes por cada cien mil menores de cinco años (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020), no ha ocurrido lo mismo con la morbilidad, de manera que la EDA es, actualmente, la segunda causa más común de morbilidad en menores de 5 años, solo por debajo de las enfermedades respiratorias. Este hecho se evidencia especialmente en los municipios menos desarrollados del país (Gómez-Duarte, 2014). La causa principal es que, lamentablemente, en algunas regiones, las condiciones de salubridad del agua son menores y, en otras regiones más apartadas, se presenta un saneamiento insuficiente o inexistente de las fuentes hídricas y de alcantarillado, por lo cual se incrementa la incidencia de estas enfermedades gastrointestinales (Gómez-Duarte, 2014).

Las enfermedades transmitidas por el agua pueden prevenirse; esto contribuiría a la disminución de las tasas de muerte por insalubridad

del agua, sobre todo en poblaciones de riesgo, como niños y ancianos (OMS, 2019b). Un factor importante para la disminución de la contaminación de las fuentes de agua y de los ecosistemas acuáticos naturales es mejorar la disposición de desechos sólidos y líquidos, cerca de los cuerpos de agua; también, se puede mejorar la gestión de las aguas residuales urbanas, industriales, agrícolas y de origen doméstico; si estos factores no mejoran, la calidad del agua se ve comprometida, debido a que estos residuos pueden aumentar la presencia de altas concentraciones de materia orgánica e inorgánica. Esta eutrofización del recurso hídrico induce a la descomposición del agua, mortalidad de especies animales y sobrecrecimiento de microorganismos, entre estos, patógenos entéricos que, como consecuencia, ocasionan serios problemas a nivel ambiental y de salud en las poblaciones (Gómez-Duarte, 2014).

Además de la contaminación de los cuerpos hídricos, existe otro factor que puede incidir en el incremento de las enfermedades de origen entérico y, corresponde a la dificultad del acceso de la población al agua potable (Rojas et al., 2021). Esta dificultad puede verse agravada por la disminución de fuentes hídricas para el consumo, ya que se estima en este momento que, de los 1.351 millones de km³ de agua que tiene la tierra, solo un 0.003 % es agua dulce; es decir, es apta para el consumo humano. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2013) consideró que, solo de 9.000 a 14.000 km³ de agua se encuentran disponibles para consumo cada año y, esta disponibilidad tiende a disminuir con el tiempo.

Por otra parte, el cambio climático es otro factor que incide en la disponibilidad de fuentes acuáticas; según Uribe (2015), este altera los ciclos del agua y las lluvias del planeta y, conllevará mudanzas en la calidad y cantidad de agua en todas las regiones; este hecho, sumado al deterioro de los ecosistemas como páramos y glaciares que son claves en la renovación hídrica, el crecimiento de centros urbanos a causa del aumento de la población mundial que, según la FAO (2013), es de aproximadamente 1,2 % al año, tiende a aumentar y, por ende, a agravar el problema de disponibilidad de agua. En función de esto, se estima que en el año 2030 la población aumentará a 9.000 millones y que, en 2025, la mitad de la población mundial vivirá en zonas con escasez de agua (UNICEF, 2021).

Debido a la previsión de la disminución de disponibilidad del recurso hídrico, varios países ya están implementando como estrategia, la reutilización de las aguas residuales para riego y producción de energía (FAO, 2013). No obstante, esta práctica supone un riesgo para la salud, ya que, si no se realiza correctamente, podría incidir en el incremento de las enfermedades entéricas transmitidas por el agua. La principal razón es que esta agua de reúso podría estar contaminada con organismos patógenos y, al no realizar un correcto saneamiento, estos microorganismos podrían entrar en contacto con productos agrícolas de consumo humano y contaminarlos de forma directa (FAO, 2013).

Como consecuencia de la problemática de disminución global de fuentes de agua potable, la OMS (2019b) y varias entidades internacionales han venido encabezando esfuerzos a nivel mundial, para asesorar a los Estados acerca del buen uso y saneamiento del agua para consumo, del uso seguro de las aguas residuales y de la salubridad de las fuentes hídricas. Es importante resaltar que, con el fin de prevenir y disminuir la transmisión de enfermedades entéricas por el agua y alimento, cuyo impacto tiene efecto socioeconómico en las poblaciones de riesgo y en países de ingresos bajos (UNICEF, 2021), las entidades nacionales de sanidad ambiental de cada país han venido implementando evaluaciones rutinarias de la calidad microbiológica y fisicoquímica en fuentes de agua para consumo. Estos protocolos permitirán establecer el estado general de este recurso, para garantizar así la protección de la salud pública de sus habitantes (OMS, 2019a).

En Colombia, las normativas que rigen la reglamentación de la calidad del agua están amparadas en el Decreto número 1575 de 2007 expedido por el Ministerio de Ambiente, junto con las Guías para la calidad del agua potable emitidas por la OMS, por la directiva europea 98/83/CE1 y otras normas internacionales, las cuales recomiendan los requisitos mínimos de calidad que debe tener el agua para que ésta sea apta para el consumo humano (OMS, 2019a). La normativa establece que, el agua es apta para el consumo humano si se encuentra exenta de agentes infecciosos, productos tóxicos y contaminantes radiológicos, los cuales son factores que ponen en riesgo la salud de las poblaciones (OMS, 2019a). De acuerdo con las recomendaciones de la OMS, es importante realizar un control riguroso de la calidad del agua, el mismo que se debe

implementar desde la fuente hídrica, con monitoreos frecuentes y adecuados que permitan ajustar protocolos para la detección oportuna de la contaminación y afectaciones a la calidad en estas fuentes, así como durante el almacenamiento y el proceso de distribución (OMS, 2019a).

Para Colombia, son importantes la seguridad hídrica y la sostenibilidad ambiental (Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio, 2021). Es por ello por lo que el gobierno colombiano tiene entre sus objetivos principales, garantizar a la población el acceso a este recurso, por lo cual este propone mejorar la gestión de los entes del gobierno que garantizan el uso adecuado e integral del recurso hídrico, así como su conservación, preservación, uso y aprovechamiento (Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio, 2021).

Si bien en las últimas décadas Colombia ha registrado importantes avances en el acceso a agua potable y saneamiento básico, son muchas las poblaciones existentes que aún no cuentan con un sistema de abastecimiento. Según el Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio (2021), entre 1985 y 2018, la cobertura de agua potable pasó del 58 % al 90 %, mientras que la cobertura de saneamiento básico se incrementó del 47 % al 93 % en el mismo periodo. Sin embargo, a pesar de estos avances, en agosto de 2018, más de 5,6 millones de colombianos no contaban con acceso a agua potable y más de seis millones no tenían una solución de saneamiento básico. Es por esto por lo que son imprescindibles los estudios de la calidad del agua de consumo de la población colombiana, que permitan tomar medidas, involucrando a la población y a las entidades del gobierno encargadas como el Ministerio de Ambiente y las corporaciones regionales ambientales de cada departamento, que permitan mejorar el acceso y la calidad del recurso a la población colombiana. Esto, inevitablemente tendrá como consecuencia, una disminución en los índices de enfermedades transmitidas por agua que afectan gravemente a la población colombiana.

Actualmente, los programas de vigilancia y control de la calidad microbiológica del agua en diferentes países, entre ellos Colombia, emplean microorganismos indicadores para conocer la calidad del agua de consumo. Estos indicadores generalmente utilizan las bacterias coliformes, las cuales son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal –(entéricos) del hombre y animales. Entre los microorganismos

que conforman el grupo de coliformes totales se encuentra: *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Citrobacter* (Rios Tobón et al., 2017). La detección y presencia de estos permite inferir la presencia de bacterias patógenas. El uso de estos bioindicadores es recomendado debido a que son relativamente económicos, facilitan la manipulación y permiten obtener resultados rápidamente; no obstante, aunque estas bacterias ofrecen buenas alternativas como bioindicadores, algunos estudios han demostrado que no son tan efectivos para determinar la presencia de otros agentes patógenos, como virus, protozoos y helmintos en el agua (Peláez-Carvajal et al., 2016); por esto, se puede aumentar la fiabilidad de los resultados, cuando se incluye a los colifagos somáticos, como bioindicadores de contaminación, lo cual se explicará con más detalle, más adelante en este libro, en los capítulos II y III.

Con todo lo descrito hasta aquí, es importante resaltar que, el control y el estudio de la calidad del agua de consumo en el mundo y, especialmente en Colombia, debería ser de obligatoriedad, ya que la falta de seguridad de esta puede exponer a la población a diversas enfermedades de transmisión hídrica, como son las enfermedades de origen entérico, las cuales, al propagarse por el agua o alimentos contaminados, son de fácil dispersión, tienen una alta capacidad de propagación y pueden infectar simultáneamente a un gran número de personas y, potencialmente, a una gran proporción de la comunidad (OMS, 2019b).

1.2 Organismos enteropatógenos: problema de salud pública

Los organismos enteropatógenos (organismos que causan una enfermedad intestinal), además de habitar en el ambiente, habitan en el intestino de los humanos y animales homeotermos (animales que pueden regular su temperatura, independiente de la temperatura corporal). Durante los procesos infecciosos, altas concentraciones de los organismos enteropatógenos ingresan al organismo, generalmente, por vía oral, por medio del consumo de agua y alimentos contaminados o, por el contacto directo con heces de personas infectadas, de manera que se produce sintomatología relacionada con el tracto intestinal, como: diarrea, fiebre y vómito, síntomas, que si no son debidamente atendidos, pueden ocasionar desbalance electrolítico e incluso causar la muerte (Baker y Chung, 2018; McMurry et al., 2021).

Una de las enfermedades más comunes causadas por estos agentes enteropatógenos corresponde a la Enfermedad Diarreica Aguda EDA (Gómez-Duarte, 2014), la cual se clasifica en aguda, cuando la evolución de la diarrea es menor a los catorce días; y en persistente, cuando la duración es mayor a este periodo de tiempo (Instituto Nacional de Salud, INS, 2021a). La incidencia, frecuencia y las características epidemiológicas de los patógenos entéricos que causan la EDA varían, dependiendo del país, la región o la comunidad (Manrique-Abril et al., 2006). No obstante, se sabe que los enteropatógenos que causan mayor mortalidad y morbilidad incluyen organismos como bacterias, hongos, virus y, en menor medida, parásitos (Albarado et al., 2005; Baker y Chung, 2018).

Entre los organismos enteropatógenos de interés, por la alta incidencia relacionada con estas patologías, se encuentran las bacterias, agentes causales de graves patologías intestinales como la salmonelosis causada por la bacteria *Salmonella spp.*, la shigelosis causada por *Shigella dysenteriae*, la gastroenteritis causada por *Escherichia coli* enteropatógena (En el capítulo II se describe de forma detallada los aspectos microbiológicos de este agente patogénico), el cólera por *Vibrio cholerae* y, alteraciones gastrointestinales causadas por *Helicobacter pylori* y *Campylobacter jejuni*, entre otras (OMS, 2018; Madigan, et al., 2015). El grupo de bacterias enteropatógenas es de gran importancia, ya que se estima que es causante entre 10 y 20 % de las diarreas infecciosas y, en menor medida, es a causa de virus y parásitos (Madigan, et al., 2015). Los patógenos bacterianos responsables con mayor frecuencia de cuadros diarreicos son: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.* Los patotipos de, *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteropatógena (ECEP) y *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) (Albarado et al., 2005).

El tratamiento para las infecciones causadas por bacterias, en algunas ocasiones requiere del uso de antibióticos después del restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico causado por la diarrea. Cuando estas infecciones afectan un número grande de individuos, se debe realizar vigilancia epidemiológica rigurosa en la zona, ante la posibilidad de un brote epidémico por bacterias altamente peligrosas como es el caso de *Vibrio cholerae* o de agentes altamente virulentos como *Shigella spp.*, *Salmonella Typhi* y *E. coli* diarreogénica, entre otras. Un ejemplo reciente de brotes en la población fue reportado en Europa, en donde

se presentó un grave brote epidemiológico a causa de cepas de *E. coli* enteropatógenas, específicamente la cepa ECEA-ECST (cepas que contenían la combinación de genes de virulencia del patotipo ECST: *E. coli* productor de shiga toxina y ECEA: *E. coli* enteroagregativo); esta cepa fue transmitida a través de guisantes y causó en varios pacientes, diarrea disentérica grave con síndrome urémico hemolítico y alta mortalidad (Gómez-Duarte, 2014).

Un problema para el tratamiento de estas afecciones de origen bacteriano se debe a que la gastroenteritis causada por bacterias patógenas, a menudo se confunde con infecciones entéricas causada por agentes infecciosos virales, fúngicos o parásitos, como en el caso de la *shigelosis*, la cual puede presentar manifestaciones clínicas similares a los causados por otros patógenos entéricos como virus (Albarado et al., 2005). Esta dificultad para diferenciar entre una infección bacteriana y una viral deriva en un uso inadecuado, excesivo o indiscriminado de los antibióticos, cuando estos no son necesarios, que no solo afectaría la microbiota del paciente, sino que incrementaría el problema de la resistencia a antimicrobianos, problema de gran relevancia actualmente en bacterias patogénicas entéricas (Vandenberg et al., 2018). Actualmente se ha aumentado la incidencia de infecciones por *Salmonella* spp, tanto en países subdesarrollados como en desarrollados, junto con *Campylobacter* spp. La salmonelosis es la enfermedad bacteriana con mayores reportes de transmisión por alimentos, resultado de las malas prácticas de manipulación y procesamiento de estos (Peláez-Carvajal et al., 2016). Además de la importancia de estas bacterias en la salud pública, su alta persistencia en los sistemas de tratamiento de aguas para consumo es de mucho cuidado (Tabla 1) (OMS, 2019^a).

Por otro lado, algunos virus entéricos también son de gran importancia en la salud pública, dado que son responsables de numerosas enfermedades como la gastroenteritis, la hepatitis, la meningitis, la encefalitis, etc., y son transmitidos principalmente por vía oral-fecal (Peláez-Carvajal et al., 2016). Entre las familias de virus más representativas por su impacto en la salud humana están: los enterovirus (polio, virus Coxsackie), los calicivirus (norovirus y sapovirus), los adenovirus entéricos, los rotavirus y los virus de la hepatitis A y E (OMS, 2019a; Peláez-Carvajal et al., 2016). El agua es el principal vehículo de transmisión de estos virus; han sido identificadas más de 100 especies diferentes de

virus patógenos en muestras de agua, que pueden afectar la salud de las comunidades y de diferentes especies animales (Fong y Lipp, 2005).

Entre las características más importantes de estos virus se resalta que, aunque no poseen envoltura, poseen cápsides que les permiten resistir a condiciones ambientales adversas y sobrevivir a los tratamientos con cloro en aguas tratadas para consumo (OMS, 2019b) (Tabla 1.1). Además de eso, los virus tienen la capacidad de resistir los bajos niveles de acidez estomacal y, pueden infectar rápidamente las células epiteliales vulnerables, generando en algunos casos, síntomas de infección en el hospedero como fiebre, escalofrío y diarrea (OMS, 2019a). Particularmente, estos virus se excretan en grandes cantidades en las heces de (10^5 - 10^{11} partículas virales/g), por lo que resulta un problema relevante para el tratamiento de aguas residuales (Fong y Lipp, 2005; Peláez-Carvajal et al., 2016). Los virus, después de salir de su hospedero, llegan al medio ambiente a través del alcantarillado y, como consecuencia, contaminan fuentes de aguas subterráneas y de consumo, aumentando el riesgo de afectar la salud de la población (Fong y Lipp, 2005), principalmente, por la resistencia a desinfectantes comúnmente usados en la desinfección para el agua de consumo, como el cloro (OMS, 2019b); esta resistencia al cloro también se puede encontrar en otros microorganismos (ver Tabla 1.1).

Otros organismos patógenos que pueden ser transmitidos por el consumo de agua contaminada corresponden a los grupos de protozoos o helmintos parásitos, los cuales pueden producir otras patologías graves. En la Tabla 1.1 se puede observar las especies o género de parásitos enteropatógenos. Algunas de las más representativas son: la giardiasis causada por *Giardia lamblia*; criptosporidiosis, causada por *Cryptosporidium* spp.; amebiasis, causada por *Entamoeba histolytica* y, la esquistosomiasis, por *Schistosoma mansoni*, algunos de estos con alta persistencia en el suministro de agua (OMS, 2018; Madigan, et al., 2015). Estos organismos también producen diarrea, aunque en menor proporción que los anteriormente descritos y, algunos de los portadores pueden ser asintomáticos (Madigan et al., 2015).

Con respecto a los hongos enteropatógenos, son organismos que se presentan en baja frecuencia, en especial en pacientes inmunocomprometidos. El más representativo corresponde la levadura patógena *Candida albicans* (Katthab et al., 2016).

Tabla 1.1

Ejemplo de algunos agentes enteropatógenos transmitidos por el agua

Agente patógeno	Tipo de especie/género/grupo	Importancia para la salud	Persistencia en el suministro de agua	Resistencia al cloro
Bacterias				
<i>Burkholderia</i>	<i>B. pseudomallei</i>	Alta	Puede multiplicarse	Baja
<i>Campylobacter</i>	<i>C. coli</i> <i>C. jejuni</i>	Alta	Moderada	Baja
<i>Escherichia coli</i> diarrogénica	<i>E. coli</i> diarrogénica	Alta	Moderada	Baja
<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica	<i>E. coli</i> O157	Alta	Moderada	Baja
<i>Francisella</i>	<i>F. tularensis</i>	Alta	Larga	Moderada
<i>Legionella</i>	<i>L. pneumophila</i>	Alta	Puede multiplicarse	Baja
<i>Micobacteria</i> (no tuberculosa)	<i>Mycobacterium avium</i> complex	Baja	Puede multiplicarse	Alta
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i>	Alta	Moderada	Baja
Otras <i>Salmonellas</i>	<i>S. enterica</i> <i>S. bongori</i>	Alta	Puede multiplicarse	Baja
<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i>	Alta	Corta	Baja
<i>Vibrio</i>	<i>V. cholerae</i> O1 y O139	Alta	Corta a larga h	Baja
Virus				
<i>Adenoviridae</i>	<i>Adenovirus</i>	Moderada	Larga	Moderada
<i>Astroviridae</i>	<i>Astrovirus</i>	Moderada	Larga	Moderada
<i>Caliciviridae</i>	<i>Norovirus</i> <i>Sapovirus</i>	Alta	Larga	Moderada
<i>Hepeviridae</i>	<i>Virus de la hepatitis E</i>	Alta	Larga	Moderada

Agente patógeno	Tipo de especie/género/grupo	Importancia para la salud	Persistencia en el suministro de agua	Resistencia al cloro
<i>Picornaviridae</i>	<i>Enterovirus, parechovirus, virus de la hepatitis A</i>	Alta	Larga	Moderada
<i>Reoviridae</i>	<i>Rotavirus</i>	Alta	Larga	Moderada
Protozoos				
<i>Acanthamoeba</i>	<i>A. culbertsoni</i>	Alta	Puede multiplicarse	Alta
<i>Cryptosporidium</i>	<i>C. hominis/parvum</i>	Alta	Larga	Alta
<i>Cyclospora</i>	<i>C. cayetanensis</i>	Alta	Larga	Alta
<i>Entamoeba</i>	<i>E. histolytica</i>	Alta	Moderada	Alta
<i>Giardia</i>	<i>G. intestinalis</i>	Alta	Moderada	Alta
<i>Naegleria</i>	<i>N. fowleri</i>	Alta	Puede multiplicarse	Baja
Helmintos				
<i>Dracunculus</i>	<i>D. medinensis</i>	Alta	Moderada	Moderada

Fuente: Guidelines for drinking-water quality, 2018.

Tabla 1.2

Características de los organismos patógenos transmitidos por agua contaminada

- Tienen la capacidad de contaminar fuentes hídricas y pueden causar efectos graves y también crónicos sobre la salud de sus hospederos.
- Pueden sobrevivir, reproducirse y proliferar en el ambiente acuático.
- Se encuentran en un número discreto en el medio ambiente; es decir, fuera de sus hospederos.
- Tienen la facultad de agregarse o adherirse a los sólidos suspendidos en el agua y, su concentración varía durante el tiempo.
- El establecimiento del patógeno a su hospedero depende de la dosis (concentración del organismo ingerido), del proceso invasivo y de la virulencia del organismo patógeno.
- Algunos agentes patógenos del agua pueden multiplicarse fácilmente en los alimentos u otras bebidas, con lo que se aumenta la probabilidad de infección.

Fuente: OMS (2006; 2007; 2017; 2019a)

Los organismos patógenos mencionados, cuya vía de transmisión es a menudo el agua, generalmente presentan algunas características similares como su fácil dispersión y difícil control. En la Tabla 1.2 se relaciona algunas de las características que se destaca en los organismos patógenos transmitidos por el agua contaminada.

A continuación, se describe en detalle, algunos de los principales agentes entéricos con mayor incidencia en la población y sus principales características; no se incluye a *E. coli* o colifagos somáticos, debido a que serán tenidos en cuenta detalladamente más adelante, en los capítulos II y III de este libro.

1.3 Principales agentes entéricos con mayor incidencia en la población

• *Salmonella* spp.

Salmonella spp. hace parte de la familia Enterobacteriaceae. Posee estructura de bacilos; es Gram negativo móvil, no fermenta la lactosa y produce sulfuro de hidrógeno o gas por fermentación de los carbohidratos (OMS, 2019b). El género *Salmonella* está compuesto por dos especies patógenas en humanos: *S. entérica* y *S. bongori*. Las dos especies causan la salmonelosis con manifestaciones clínicas como la gastroenteritis, que produce diarrea, náuseas y vómitos. En ocasiones, cuando la infección no se trata a tiempo, puede presentarse la septicemia; es decir, las bacterias pasan al torrente sanguíneo, la sintomatología presentada comúnmente es fiebre alta, fiebre tifoidea y diarrea. La transmisión de *Salmonella* se da por vía fecal - oral (Fernández et al., 2002), por la ingesta de alimentos contaminados con heces de animales como aves, reptiles, gatos, vacas y cerdos o, por contacto persona a persona. La infección por especies tifoideas está relacionada directamente con el consumo de agua y alimentos contaminados y no, por contacto interpersonal (OMS, 2018a).

• *Shigella*

Al igual que *Salmonella* spp., el género *Shigella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Poseen forma de bacilos, son Gram negativas, no móviles, no esporuladas y anaerobios facultativos. *Shigella* spp es el agente causal de la shigelosis humana (Baker y Chung, 2018; Elika, 2021). Existen cuatro especies principales de bacterias dentro del gé-

nero, que pueden provocar enfermedades intestinales graves, incluida la disentería bacilar: *Shigella sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, y *S. boydii*. Cada año se reporta más de dos millones de infecciones por *Shigella* y, se le han atribuido hasta 600.000 muertes; la población más afectada por esta enfermedad son niños menores de 10 años (Baker y Chung, 2018; Red Nacional de Protección de Alimentos, RENAPRA, s.f.). Durante la infección, aparecen síntomas como cólicos, fiebre y diarrea acuosa y, en algunas ocasiones, pueden ocasionar úlceras en conjunto con diarrea hemorrágica. *Shigella* spp es un agente entérico que se transmite por la vía fecal-oral; también puede adquirirse a través del agua y alimentos contaminados y, por contacto con personas infectadas (Baker y Chung, 2018). Hasta la fecha, han sido documentados varios brotes de shigelosis transmitidos por agua contaminada, convirtiéndola en una de las enfermedades entéricas más frecuentes y altamente infectivas entre este tipo de patologías (Giersing et al., 2019).

• Rotavirus

Además de las bacterias mencionadas, existen diferentes tipos de enterovirus que pueden causar patologías gastrointestinales, como los rotavirus. Los virus del género Rotavirus tienen el genoma conformado por ARN bicatenario y pertenecen a la familia Reoviridae junto con el género *Ortorreovirus*. El género está conformado por diez grupos serológicos (A-J); algunos de estos infectan específicamente al ser humano (A-C), mientras que los demás infectan a animales como cerdos y aves (Crawford et al., 2017). Los rotavirus humanos son responsables de más de tres cuartas partes del total de las diarreas infecciosas que se presentan en el mundo y, afectan principalmente a los niños menores de 5 años (Crawford et al., 2017). En 2011, la OMS estimó que hubo cerca de 800 000 niños fallecidos por gastroenteritis severa, causada por rotavirus (García-Fariñas et al., 2019).

Se estima que, entre el 50 y el 60 % de los niños hospitalizados por gastroenteritis aguda tienen a los rotavirus, como agente causal. Estos virus son transmitidos por vía fecal-oral, de persona a persona, por aerosoles y, en menor medida, por ingesta de agua y alimentos contaminados (OMS, 2007). El mecanismo de infección viral ocurre cuando los virus atacan los enterocitos de las vellosidades del intestino delgado, interrumpiendo así, el transporte de glucosa y sodio. Como resultado, se

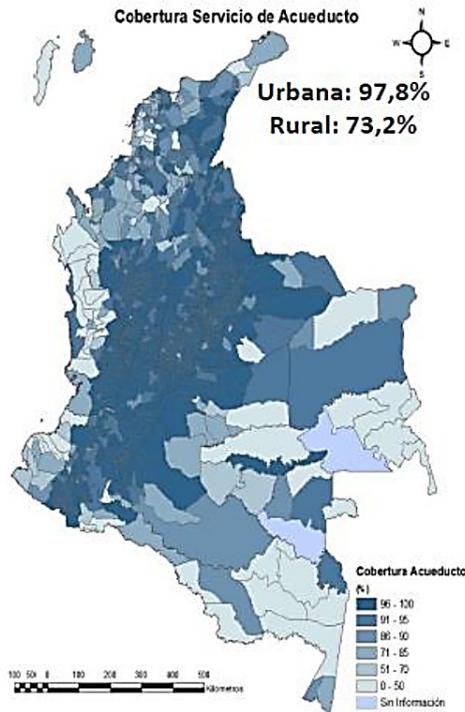
presentan síntomas como diarrea acuosa aguda, fiebre, dolor abdominal y vómito, que pueden conducir a un desbalance de electrolitos, produciendo deshidratación, acidosis metabólica y, finalmente, pueden causar la muerte. La presencia de estos virus es frecuente en aguas residuales domiciliarias, ríos y lagos contaminados con heces humanas (Crawford et al., 2017; Ríos-Tobón et al., 2017).

• *Cryptosporidium*

Los protozoos y helmintos se encuentran entre las causas más comunes de infecciones entéricas, aunque, en menor medida que, bacterias y virus. Entre los parásitos de mayor importancia por el aumento del número de casos actualmente, está el género *Cryptosporidium*, protozoo causante de la criptosporidiosis. Este género se compone de 13 especies que pueden ser transmitidas por contacto persona a persona, por la vía fecal-oral o, por contacto directo con animales de granja o domésticos infectados (Chalmers et al., 2019). Los coccidios del género *Cryptosporidium* son parásitos intracelulares obligados que, al entrar al sistema digestivo del hospedero en forma de ooquistes, lo infectan y provocan síntomas como la diarrea aguda, que puede estar acompañada de náuseas, vómito y fiebre. La gravedad de esta enfermedad depende de la edad y el estado inmunitario del hospedero, además de la virulencia de la cepa, llegando en algunos casos a ocasionar la muerte, en especial en personas con problemas de inmunodeficiencia, por lo que se considera un problema de salud pública en todo el mundo (OMS, 2019a). El agua es un importante factor de transmisión de este patógeno. Este parásito es altamente resistente a desinfectantes comunes como el cloro (Tabla 1.1); sin embargo, los tratamientos a base de ozono o la luz UV suelen ser más efectivos (Chalmers et al., 2019).

1.4 Epidemiología de enfermedades entéricas en Colombia

Aunque en Colombia son pocos los estudios epidemiológicos que se tiene sobre enfermedades entéricas, se ha identificado que, el consumo de agua contaminada es una de las fuentes más importantes de transmisión de agentes patógenos entéricos, aunque también es frecuente la transmisión por malas prácticas en la manipulación de alimentos o el contacto directo con heces de un animal infectado (Gómez-Duarte, 2014; Gutiérrez, et al., 2005). En el mapa de la figura 1.2, se observa la



cobertura del servicio de agua potable.

Figura 1.2 Cobertura del servicio de acueducto. Análisis consolidado sobre cobertura y calidad del agua en las zonas rurales y urbanas del país

Nota: Se resalta en azul oscuro, las zonas en donde hay mayor cobertura del acueducto.
Fuente: Gualteros (2019)

En el mapa de Colombia se resalta las zonas en donde hay cobertura del acueducto y, un gráfico de barras en donde se observa una comparación entre el porcentaje de cobertura en la zona urbana vs. la zona rural. La figura 1.2 muestra el mapa de Colombia, resaltando las zonas en azul oscuro, en donde hay un porcentaje mayor de cobertura de acueducto; esta cobertura se puede relacionar con la disposición de agua de consumo en estas zonas (Gualteros 2019). Como se puede observar, la mayor cobertura se encuentra en el centro y en las ciudades principales del país; las zonas apartadas presentan un porcentaje de cobertura menor.

Según el Informe Nacional de Calidad del Agua para Consumo Humano del Ministerio de Salud y Protección Social (2018), la calidad del agua para el consumo en las áreas rurales en el país es, en general, muy deficiente, en comparación con la calidad del agua en las zonas urba-

nas. Según proyecciones basadas en el Censo Nacional de Población y Vivienda del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE, 2018), Colombia cuenta con una población de 48.2 millones de habitantes, de los cuales, aproximadamente once millones (23 %) habitan en el campo; de estos, alrededor de 3.8 millones de personas aún reciben agua no apta para el consumo, pues esta presenta algún nivel de riesgo de contaminación (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Hay una diferencia entre los porcentajes de cobertura de acueducto zona urbana y rural; en las áreas urbanas el porcentaje es mayor, con un porcentaje del 97,8 %; en las zonas rurales es más bajo, con una cobertura del 73,2 %. Esta diferencia entre zona urbana y rural también se ve claramente en los porcentajes de cobertura de agua y saneamiento de estas poblaciones, como se puede observar en la figura 1.3. Esta cobertura de agua y saneamiento se mantiene en mayor porcentaje en la zona urbana, comparada con la rural. A pesar de que estos porcentajes de acceso a estos servicios son relativamente altos frente a otros países de América latina como Ecuador, Perú y Bolivia (UNICEF, 2016), Colombia tiene grandes retos para disminuir la brecha en cuanto a la calidad y acceso de estos servicios, en especial en las zonas rurales y apartadas del centro del país.

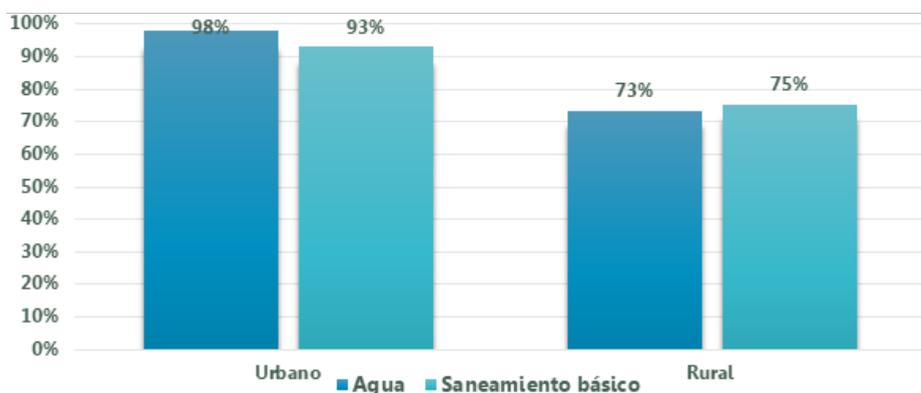


Figura 1.3 Cobertura de agua y saneamiento en zonas urbanas y rurales

Fuente: Archivo Nacional de Datos (ANDA) y DANE (2019)

En la figura 1.3 se compara el nivel de agua y el saneamiento básico entre las zonas urbanas y las zonas rurales. Si bien la cobertura de saneamiento en la zona urbana es alta, no alcanza la totalidad de la disponibilidad del agua; sin embargo, en las zonas rurales se observa que la cobertura de saneamiento y los niveles de agua no superan el 80 %.

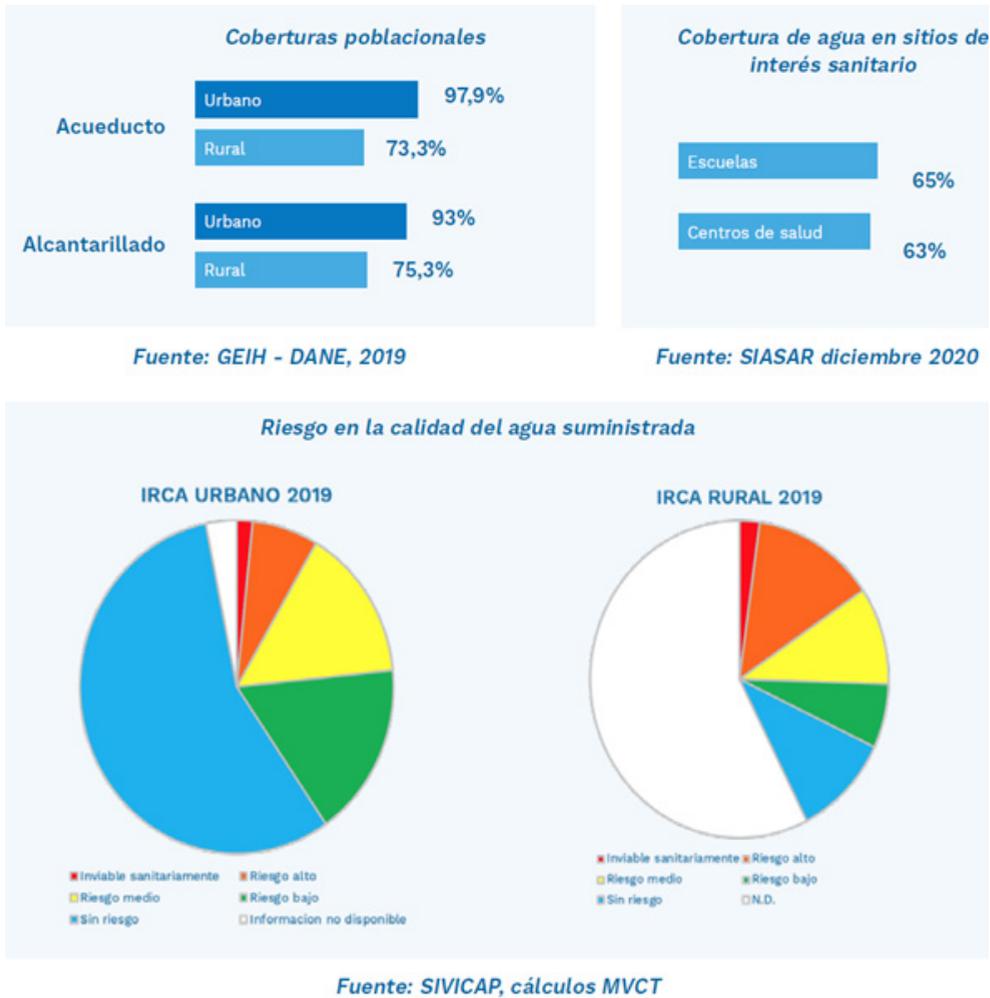


Figura 1.4 Análisis consolidado sobre cobertura y calidad del agua en las zonas rurales
Fuente: Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio (2020)

En la figura 1.4 se observa un resumen del análisis sobre la cobertura y calidad del agua en zonas urbanas y rurales. En cuanto a cobertura poblacional, las zonas urbanas representan un porcentaje mayor al 90 %; no obstante, en zonas rurales no alcanza el 80 %, tanto para alcantarillado como para acueducto. Por otro lado, en zonas de interés como escuelas y centros de salud, la cobertura es aún menor, con porcentajes de 65 y 63 %, respectivamente. Por último, se analiza el riesgo en la calidad de agua, en donde la zona urbana presenta mayor porcentaje

en “sin riesgo”, a diferencia de la zona rural, la cual presenta un mayor porcentaje en “información no disponible”.

En el país, la evaluación de la calidad del agua para consumo está regulada por el programa de vigilancia periódica establecido en la Resolución 2115 de 2007, donde se define la frecuencia y el número de muestras analizadas según el porcentaje de la población abastecida con el recurso hídrico. Esta normativa también define el Índice de Riesgo de la Calidad del Agua (IRCA), como orientación para la evaluación del grado de riesgo de la presencia de enfermedades relacionadas con el incumplimiento de las características químicas (pH, cloro residual), físicas (parámetros de color, turbidez), microbiológicas (*E. coli* y coliformes totales) y de potabilidad (Peláez-Carvajal et al., 2016).

Como fue presentado en la figura 1.4, en Colombia la zona rural presenta un índice de riesgo mayor de la calidad del agua, superior al del área urbana; se debe mejorar estos índices, para evitar que se genere problemas de saneamiento y salubridad para la población de estas zonas que, generalmente, están apartadas de los centros urbanos (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020). Colombia tiene grandes retos para disminuir la brecha en cuanto a la calidad y continuidad de estos servicios, lo cual contempla también el acceso en sitios de interés sanitario como escuelas y centros de salud, como se puede observar en la figura 1.3.

Los bajos índices (Figuras 1.5 y 1.6) de estos servicios en las zonas rurales respecto a las urbanas son el resultado de una baja inversión del Estado en zonas apartadas, sumado al difícil acceso en regiones muy apartadas, lo que aumenta el costo para la implementación de servicios básicos de agua y alcantarillado y, genera que estas regiones se encuentren descuidadas por parte del Estado. Según Pérez-Salas y Pineda-Jaramillo (2019), las principales fuentes de agua para consumo en estas zonas son cuerpos de agua como quebradas, ríos, lagunas, nacimientos o manantiales. Se estima que el 40 % de los hogares rurales utiliza algunas de estas fuentes; el 24 % consume agua de aljibes y, un 5 % se abastece de aguas lluvias.

Bajo este planteamiento, el problema de acceso de agua potable de la población colombiana, sobre todo la rural, junto a una inadecuada

manipulación de alimentos, son los factores más relevantes sobre la incidencia de enfermedades de origen entérico en la población nacional (INS, 2021b). En el año 2014, el Sistema Nacional de Salud Pública (SIVIGILA) del INS, reportó un total de casi 10.000 casos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) o agua contaminada (INS, 2018). Desde el año 2000, el mayor número de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua se ha presentado en las regiones Andina y Atlántica, específicamente en los departamentos de Cesar, Nariño y Boyacá, con mayor afectación en la población infantil (INS, 2019).

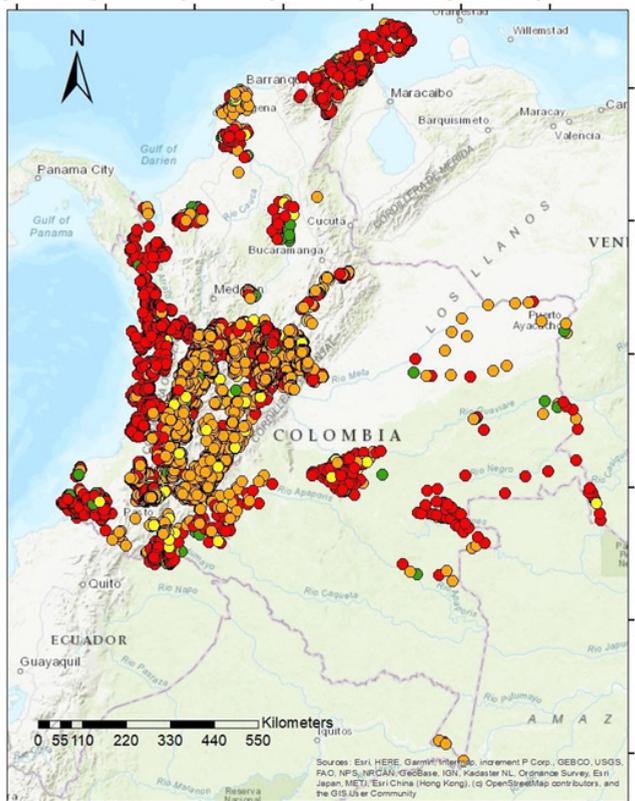


Figura 1.5 Información de las comunidades, sistemas y calidad de agua que consume la población rural vs. la urbana. Cobertura información SIASAR diciembre de 2020 (19 %), Comunidades sin información (81 %)

Fuente: Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio (2020). Comunidades por calificación de calidad de agua. Verde mayor calidad, rojo, calidad deficiente. Círculos verdes (133): calificación A; círculos amarillos (2241): calificación B; círculos naranja (3394): calificación C; círculos rojos (5045): calificación D.

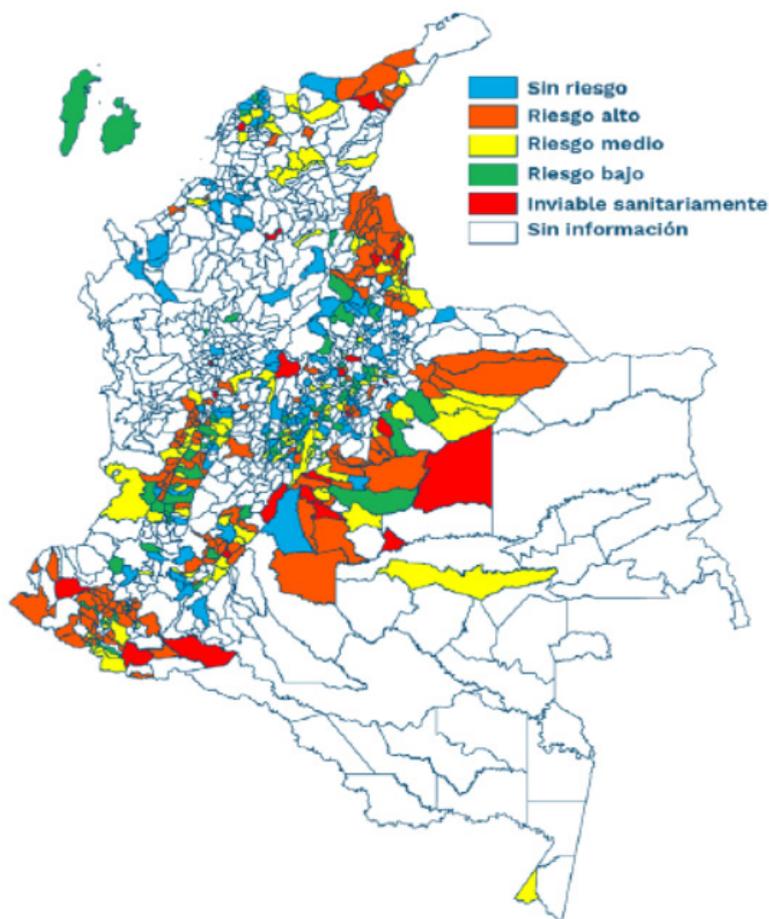


Figura 1.6 Índice de Riesgo de Calidad del Agua (IRCA) – zona rural

Fuente: Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio (2020)

En el mapa de Colombia se observa la información de las comunidades, sistemas y calidad de agua que consume la población rural vs. la urbana. Cobertura de información SIASAR diciembre de 2022 (19 %), comunidades sin información (81 %).

En este orden de ideas, es importante destacar que, las enfermedades de origen entérico en Colombia registran los primeros lugares de morbilidad en niños menores de 5 años; este fenómeno es más frecuente en las zonas más apartadas del país. Sin embargo, como ya se describió, los registros de las tasas de mortalidad por EDA han decrecido entre 2005 y 2009, en un 50,3 %, pasando de 13.4 a 6.6 muertes por cada 1000.000

habitante menores de 5 años (ASIS, 2021). Adicionalmente, EDA ocupa el segundo lugar en motivo de consulta médica en niños menores de 5 años (Gómez-Duarte, 2014; Manrique-Abril et al., 2006). Es importante recalcar que, la mortalidad infantil no es uniforme en todo el territorio nacional. En áreas marginadas, entre ellas las que cuentan con población indígena y/o de bajos recursos, la mortalidad infantil llega a ser hasta de 38.7 por cada 1000 nacidos vivos, siendo el doble del promedio nacional (Gómez-Duarte, 2014; Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Se estima que, en el país, los casos de EDA asociados a infecciones entéricas están incorporados, en primer lugar, a agentes virales (50 %); en segundo lugar, a agentes bacterianos (30 %) y, en tercer lugar, por otras causas como parásitos o toxinas (20 %) (Gómez-Duarte, 2014). Estudios epidemiológicos de los agentes causales de EDA en el mundo han determinado que su incidencia depende no solo de la zona, sino de la época del año. En países con estaciones, la EDA causada por virus es prevalente en épocas de invierno, mientras que la causada por bacterias o parásitos es común en épocas de verano. En países tropicales no estacionarios como Colombia, se cree que la EDA es endémica con picos epidémicos, en donde factores climáticos como temperatura, humedad y precipitación contribuyen con el aumento o disminución de su incidencia (Gutiérrez et al., 2005).

Cabe resaltar que, actualmente, son pocos los estudios que indican específicamente las regiones del país más afectadas por EDA, además de los factores climáticos, sociodemográficos, económicos, que inciden en el aumento de las enfermedades de origen entérico. Tampoco se ha establecido con claridad cuál es la frecuencia de las infecciones, qué tipo de microorganismos enteropatógenos las producen y cuáles cepas son las más frecuentes en el país (Gómez-Duarte, 2014). Sin embargo, a pesar de los pocos informes epidemiológicos de EDA en Colombia, se ha reportado casos de enfermedades transmitidas por alimentos y aguas contaminadas en varias regiones, causadas en su mayoría por agentes patógenos como los rotavirus, con una frecuencia de afectación en la población infantil de 36 a 48 %, seguidos de las bacterias *E. coli.*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., con 17 a 31,4 % y, finalmente, por parásitos como *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica* con una frecuencia de 14,6 a 19,4 % (Gómez-Duarte, 2014; INS, 2019).

Son pocos los estudios epidemiológicos en Colombia, como el desarrollado en Tunja por Manrique-Abril et al. (2006), que han tenido el propósito de determinar los principales agentes causales de EDA en pacientes menores de cinco años de esta ciudad; los autores pudieron evidenciar una prevalencia del Rotavirus del 48 %, seguida de *E. coli* en un 13,9 %, *Giardia lamblia* con 12,4 %, *Campylobacter* spp. 2,3 %, *Shigella* 0,8 % y *E. histolitica* 7 %. Solo en un 15,5 % no se logró identificar el agente causal (Manrique-Abril et al., 2006); allí se demuestra claramente que se conserva la incidencia de estos patógenos, ya descritos como frecuentes por el INS (2019).

En lo referente a los virus, se ha llevado a cabo pocos estudios en el país sobre su prevalencia en aguas para el consumo. En algunos de ellos, como el realizado en el municipio de Facatativá en Cundinamarca, se evidenció la presencia de astro-virus en una de las muestras de aguas no tratadas, provenientes del río que abastece al acueducto (Peláez-Carvajal et al., 2016). También se identificó la presencia de norovirus en dos muestras de agua tratada y 13 muestras positivas para la presencia de rotavirus provenientes de aguas tratadas y no tratadas. Estos resultados evidencian la importancia del agua como vehículo de transmisión de estos virus y su resistencia al tratamiento químico con cloro (Tabla 1.1) (Peláez-Carvajal et al., 2016).

Peláez y sus colaboradores (2016) analizaron 288 muestras de agua de 102 municipios del país; en el 50 % de ellas detectaron virus: un 26 % correspondió al virus de la hepatitis A; un 20 % a enterovirus-rotavirus y, 18 % a adenovirus. Según lo descrito por los autores, estos porcentajes comprueban que la presencia de estos virus representa un riesgo para la salud pública, debido a que pueden sobrevivir y mantener su capacidad infectiva en el agua por periodos prolongados de tiempo (120 días en agua dulce y 130 días en agua de mar), además de su difícil inactivación durante el tratamiento de aguas residuales y de consumo (Venegas, 2018). Como se esperaba, los estudios concluyen que, el agua es un vehículo de transmisión importante para los virus entéricos en Colombia (Manrique-Abril et al., 2006; Peláez-Carvajal et al., 2016).

Es fundamental considerar que, el recurso agua es una fuente de salud, bienestar y progreso para las comunidades y, si no se dispone de las políticas públicas para su uso y conservación, se estará llegando a

estados de enfermedad, insalubridad y retroceso económico en las poblaciones que, terminarán afectando en alto grado a diversas poblaciones, como consta en el Plan director de agua y saneamiento básico del Viceministerio de Agua y Saneamiento Básico y Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio (2018):

El agua, en sus dimensiones económica, ambiental y social constituye un eje fundamental del desarrollo de las sociedades modernas. Sin una gestión sostenible, eficiente e integrada del agua, se pone en riesgo los avances que una economía haya podido experimentar en materia de superación de la pobreza y la creación de empleo, se hace imposible garantizar la salud pública, así como la producción de comida suficiente para satisfacer las necesidades básicas y la generación de energía requerida por los diferentes sectores económicos. Es en este plano que se hace vital revisar la fragmentación sectorial que afrontan las decisiones que conciernen a los servicios ecosistémicos asociados al recurso hídrico, más aún cuando hoy éste se encuentra bajo una presión sin precedentes en la mayoría de los países, sin ser Colombia la excepción. (p. 37)

1.5 Epidemiología de enfermedades entéricas en Nariño - Colombia

El departamento de Nariño está ubicado en el sur occidente de Colombia; limita al sur con el Ecuador; al norte con el departamento del Cauca y, al oriente con el departamento de Putumayo. El 52 % de su territorio pertenece a la llanura del Pacífico; el 40 % a la zona andina y, el 8 % pertenece al pie de monte de la Amazonia. Según el DANE (2018), el departamento cuenta con 1.809.116 habitantes; su población es predominantemente rural, con un índice promedio de 49,8 %; el porcentaje de población con acceso a agua potable es de 81,8 %; la proporción de hogares con acceso a acueducto es de 76,4 % y, cabe enfatizar en que, la zona urbana es de 98,5 % y en la rural, de tan solo 58,5 %.

De forma complementaria, datos del DANE (2018) sostienen que, el acceso a alcantarillado para Colombia es, en promedio, de 74,7 % y en Nariño es aún más bajo, con únicamente 43,7 %. Según el Plan Decenal Dhana 2020-2029 de la Gobernación de Nariño (2020), las regiones de la costa pacífica nariñense tienen bajas condiciones de salubridad, de-

bido a que solamente los municipios de Olaya Herrera, Santa Bárbara y Tumaco tienen acueducto con planta de tratamiento y, ninguno de ellos cuenta con sistemas de desinfección del agua, lo que indica un riesgo para la salud de la población. Los municipios de El Charco, La Tola, Magüí Payan, Mosquera, Francisco Pizarro y Roberto Payan carecen de cobertura de sistema de alcantarillado y acueducto, tanto en la zona urbana como en la rural, pese a que la región Andina cuenta con una alta cobertura de acceso agua potable y alcantarillado en la zona urbana (Gobernación de Nariño, 2020):

En DANE-Gran Encuesta Integrada de Hogares-Encuesta Nacional de Calidad de Vida, el porcentaje de población con acceso a agua potable en el año 2018 en Colombia es de 91,9% y en Nariño es de 81,8 %.

La proporción de hogares con acceso a acueducto para Colombia es de 86,9 y para Nariño de 76,4. El acceso a alcantarillado para Colombia es de 74,7 y en Nariño una cifra mucho más baja de 43,7. El dato de recolección de basuras en Colombia es de 81,7 y en Nariño de 57,9. (p. 154)

Con lo expuesto se muestra que, en el departamento de Nariño, la zona rural y la costa pacífica tienen un déficit en materia de acceso a alcantarillado y agua potable. Por otro lado, en cuanto al IRCA 2018, Nariño tuvo un valor de 43,98, revelando un nivel de riesgo muy alto comparado con el de Colombia, el cual fue de 19,30; por ende, esto es preocupante, considerando la baja calidad del agua que consume la población nariñense (Figura 1.7).

Según datos del SIVIGILA del INS (2018), la cantidad de brotes de enfermedades transmitidas por agua o alimentos contaminados en Nariño ha aumentado. En el año 2014 hubo ocho brotes; en el año 2016 36 y, en 2018 fueron reportados 49 brotes. Los municipios que han presentado el mayor número de brotes son Ipiales con 18 y Pasto con 16 (Gobernación de Nariño, 2020). Es claro que, la baja potabilidad del agua y el inadecuado saneamiento básico e higiene, generan problemas de enfermedades gastrointestinales y parasitarias. Por ello, una de las enfermedades con mayor incidencia en el departamento es la EDA que, al asociarse con la desnutrición infantil, genera un alto riesgo de mortalidad en niños. El indicador de desnutrición global del departamento es

de 10 %, mientras que el indicador nacional es de 7 %, (Gobernación de Nariño, 2020). En cuanto a la mortalidad infantil en niños menores de cinco años, se reporta para el año 2018 en el departamento de Nariño, una tasa de 14,6 %, similar al valor nacional con 13,78 %. En cuanto a la tasa de mortalidad por EDA ha disminuido con el tiempo en el departamento de Nariño; en 2013 fue de 1,83 % y en 2018 bajó a 1,20 %, porcentaje menor que el presentado a nivel nacional, que fue de 4,0 %.



Figura 1.7 Comparación del índice de riesgo de la calidad del agua IRCA entre Colombia y el Departamento de Nariño entre los años 2005 y 2018

Fuente: adaptado de Gobernación de Nariño (2020) a partir de datos obtenidos de SIVICAP e INS

En la figura 1.7 se observa la comparación entre el IRCA en Colombia y el departamento de Nariño entre los años 2005 y 2018.

Según los boletines epidemiológicos sobre indicadores básicos de la salud de Nariño (Instituto Departamental de Salud de Nariño, IDSN, 2020), los eventos de notificación obligatoria entre los años 2017 y 2020 reportan una constante en las tasas de EDA para menores de 5 años. En el año 2017 la tasa fue de 21,5 %, aumentando para el 2019 a 21,8 % y, disminuyendo drásticamente en el año 2020 a 7,1 %. Esta importante disminución en el último año puede estar relacionada con las medidas de cuarentena implementadas en toda la población por la emergencia sanitaria debido a la COVID-19. Cabe anotar, de forma general que, al igual que los datos epidemiológicos publicados en Colombia, los datos

son pocos y, en el departamento de Nariño, casi nulos los estudios que reporten la incidencia y el tipo de microorganismos enteropatógenos que puedan causar EDA.

1.6 Uso de bioindicadores para detectar el grado de contaminación fecal del agua

Es importante destacar que, debido a los cambios en el comportamiento humano, tales como: explosión demográfica, uso general del suelo, expansión de la pobreza, ocupación de regiones no habitadas anteriormente, migraciones no controladas y el movimiento creciente de animales y de productos de origen animal, entre otros, se ha propiciado el aumento de la frecuencia de enfermedades de origen hídrico (Heinrich et al., 2017).

El aumento en la frecuencia de aparición de brotes epidemiológicos de estas enfermedades en las dos últimas décadas ha generado gran preocupación, especialmente en enfermedades de importancia como el dengue, cólera, gastroenteritis, etc. (Arcos et al., 2005). Igual ocurre con algunos parásitos que se creía controlados, como es el caso de los parásitos del género *Plasmodium*, causantes de la malaria y, las bacterias *Mycobacterium tuberculosis*, causantes de la tuberculosis, *Yersinia pestis* de la peste o *Vibrio cholerae* del cólera, entre otras (Hurtado et al., 2005).

El aumento de brotes epidemiológicos sumado al fenómeno cada vez mayor de resistencia a los agentes antimicrobianos, el cual continúa reduciendo la eficacia de los medicamentos para combatir estas enfermedades, incrementa los niveles de mortalidad y de costos sanitarios (Ruiz, 2021). Como hemos visto en este capítulo, las enfermedades de origen hídrico no están limitadas a ninguna región en el mundo ni se circunscriben a países en desarrollo o los ya desarrollados, sino que afectan a la población mundial y, representan una amenaza general que requiere de una respuesta coordinada de los servicios de salud de todos los países. Asimismo, el control de estas enfermedades constituye una carga financiera que obliga a gastos enormes para el control de brotes epidemiológicos que incluyen atención médica y manejos de salud pública por parte del gobierno (Ruiz, 2021).

Es importante determinar, ya sea de forma directa o indirecta, el tipo de microorganismos presentes en el agua y su concentración, ya que

esto proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad de ésta y, para la toma de medidas con relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de los ecosistemas, para disminuir así el riesgo de contaminación de las comunidades y del ambiente (Arcos et al., 2005). Sin embargo, determinar la presencia de todos los microorganismos patógenos presentes en un proceso específico de contaminación ambiental, no es tarea fácil. Dicha determinación implica costos elevados, inversión de tiempo y uso de laboratorios especializados (Melero y Peña, 2018). Frente a estas dificultades y a la necesidad de obtener un resultado rápido y confiable de la presencia de patógenos en el agua, se ha planteado la necesidad de trabajar con determinados grupos de organismos, como bioindicadores (Arcos et al., 2005; Melero y Peña, 2018).

Los bioindicadores son organismos vivos utilizados para evaluar la salud de un ecosistema natural en el medio ambiente (Parmar et al., 2016); estos bioindicadores tienen que ser de fácil manejo, sencillos, rápidos y económicos, características que los hacen eficaces para los procedimientos de determinación de calidad ambiental. Una vez se ha demostrado su presencia en un ecosistema (muestra), se puede inferir que los microorganismos de interés se encuentran presentes en este (Albertini, 2009).

Con base en lo anterior, es importante destacar que la aplicación de los bioindicadores es amplia; una de las más importantes es, su uso como bioindicadores de contaminación fecal en diferentes ecosistemas. Según lo descrito por Albertini (2009), para que un microorganismo funcione como bioindicador de contaminación fecal (De la Lanza y Hernández, 2011), debe reunir las siguientes características:

Tabla 1.3

Características de un microorganismo bioindicador de contaminación fecal

- Debe ser un constituyente normal de la microbiota intestinal de individuos sanos.
- Hacer parte exclusivamente de las heces de animales homeotérmicos.
- Estar presente en el mismo momento en el que los microorganismos contaminantes de origen intestinal lo están.
- Presentarse en altas concentraciones, lo que facilitará su aislamiento e identificación.
- Debe ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos.

- Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias contaminantes de origen fecal, al igual que su resistencia a los factores ambientales.
- Deben ser organismos con baja dificultad de aislar y cuantificar.

En este sentido, una forma ampliamente utilizada a nivel mundial para la detección del grado de contaminación fecal en ecosistemas acuáticos implica el uso y detección del grupo de las bacterias coliformes y *Escherichia coli* como bioindicadores (Wu et al., 2018; Yamaguchi y Goto, 2019).

Dentro del grupo de las bacterias coliformes encontramos los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter* y *Escherichia*, los cuales viven como saprófitos independientes o como bacterias intestinales (Yamaguchi y Goto, 2019), todos pertenecientes a la familia *enterobacteriaceae* que, como se describió previamente, corresponden a bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos no esporulados y, constituyen aproximadamente el 10 % de los microorganismos presentes en el medio intestinal de los seres humanos y otros animales (Pereira et al., 2008). Su capacidad de reproducción fuera del intestino es favorecida por la existencia de condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, así como su versatilidad de proliferación (Pereira et al., 2008). Con todo, es importante resaltar que *E. coli* es una bacteria que, por sus características, ha sido utilizada como modelo a nivel experimental, y sobre la cual se ha realizado innumerables estudios; por lo tanto, es prometedora y ampliamente usada como bioindicador de contaminación fecal en agua (Price y Wildeboer, 2017) e, incluso, la OMS (2018b) recomienda ampliamente su uso con estos fines.

Los colifagos somáticos son un grupo heterogéneo de bacteriófagos capaces de infectar *E. coli* y otras bacterias coliformes a través de la pared celular, después de adherirse a receptores en la membrana externa (Muniesa et al., 2003) y son el grupo de bioindicadores más abundante en casi todas las muestras ambientales (Jebri et al., 2017). Los protocolos de manejo y determinación son relativamente sencillos y, para ello se utiliza cepas de *E. coli* adicionadas a los medios de cultivo para observar su crecimiento; por ende, son herramientas viables para la determinación de contaminación fecal (Jebri et al., 2017).

Los detalles específicos sobre el uso de *E. coli* y colifagos somáticos como bioindicadores de contaminación fecal y sus características se describirá más adelante en los siguientes capítulos que hacen parte de este libro, ya que fueron los métodos principales aplicados para determinar los niveles de contaminación fecal en el Lago Guamuez.

1.7 Conclusiones del capítulo

- Siendo el recurso hídrico un bien preciado de la sociedad, su contaminación genera preocupación global. Analizar su calidad y realizar una vigilancia epidemiológica puede repercutir en garantizar la calidad de vida de las poblaciones, tanto a nivel de saneamiento básico, como de salud, desarrollo económico y bienestar social.
- El Lago Guamuez es un ecosistema acuático de gran valor natural, reconocido internacionalmente como riqueza ecológica de la humanidad por el Ministerio del Medio Ambiente de la República de Colombia mediante el Decreto 698 de 18 de abril de 2000. Sin embargo, en los últimos años este ecosistema ha sido deteriorado por la intervención y actividades antropogénicas como la pesca, la acuicultura y el turismo, entre otras.
- El déficit de acceso a agua potable y saneamiento básico es un factor de estancamiento en materia de crecimiento económico, relacionado fundamentalmente con los costos resultantes de las inversiones necesarias por consumir agua de cuerpos hídricos contaminados, entre las cuales se destaca los costos de tratamientos médicos por enfermedades de origen hídrico y el tiempo productivo que los miembros de la sociedad invierten en la consecución del agua o de soluciones de saneamiento.

Referencias

- Albarado, L., Guzmán, Y., Guzmán, M. y Betancourt, J. (2005). *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. Asociados con síndrome diarreico agudo en niños menores de seis años de edad. *Kasmera*, 33 (2), 132-141.
- Albertini, L.S (2009). *Ecologia, fatores associados à virulência e diversidade de Escherichia coli* isolados de amostras de água de lastro, água de regiões portuárias e moluscos bivalves no Brasil. [Tesis Doctoral, Universidad de São Paulo]. <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42132/tde-10022010-092618/pt-br.php>
- Archivo Nacional de Datos (ANDA) y Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2019). Colombia - Gran Encuesta Integrada de Hogares – GEIH – 2019. https://microdatos.dane.gov.co/index.php/catalog/599/get_microdata
- Arcos, M. P., Ávila, S. L., Estupiñán, S. M. y Gómez, A. C. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 3(4), 69-79. <https://doi.org/10.22490/24629448.338>
- Baker, S. & Chung, T. H. (2018). Recent insights into *Shigella*: a major contributor to the global diarrhoeal disease burden. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 31(5), 449-454. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000475>
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2018). Censo Nacional de Población y Vivienda (CNPV). <https://www.datos.gov.co/widgets/qzc6-q9qw>
- Chalmers, R. M., Davies, A. P., & Tyler, K. (2019). *Cryptosporidium*. *Microbiology*, 165(5), 500-502. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000764>
- Crawford, S. E., Ramani, S., Tate, J. E., Parashar, U. D., Svensson, L., Hagbom, M., Franco, M. A., Greenberg, H. B., O’Ryan, M., Kang, G., Desselberger, U., & Estes, M. K. (2017). Rotavirus infection. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17083. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.83>
- Decreto 698 de 2000. (18 de abril de 2000). Ministerio del Medio Ambiente. https://www.redjurista.com/Documents/decreto_698_de_2000_presidencia_de_la_republica.aspx#/
- Decreto 1575 de 2007. (2007, 9 de mayo). Observatorio Ambiental de Bogotá. https://oab.ambientebogota.gov.co/?post_type=dlm_download&p=3774
- De la Lanza, G. y Hernández, S. (2011). *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores)*. Plaza y Valdés Editores.
- Elika, Seguridad Alimentaria. (2021). *Shigella*. <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/shigella/>
- Fernández, E., Saldaña, J., Rodríguez, O., & Cliver, D.O. (2002). Potential *Salmonella* transmission from ornamental fountains. *Journal of Environmental Health*, 65(4), 9-12.
- Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF). (2019). 1 de cada 3 perso-

nas en el mundo en el mundo no tiene acceso a agua potable. <https://www.unicef.org/es/comunicados-prensa/1-de-cada-3-personas-en-el-mundo-no-tiene-acceso-a-agua-potable>

Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF). (2021). Miles de millones de personas se quedarán sin acceso a servicios de agua potable, saneamiento e higiene antes de 2030 a menos que el progreso se multiplique por cuatro, advierten la OMS y UNICEF. <https://www.who.int/es/news/item/01-07-2021-billions-of-people-will-lack-access-to-safe-water-sanitation-and-hygiene-in-2030-unless-progress-quadruples-warn-who-unicef>

Fong, T.-T., & Lipp, E. K. (2005). Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: Health risks, detection, and potential water quality assessment tools. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 69(2), 357-371. <https://doi.org/10.1128/MMBR.69.2.357-371.2005>

García-Fariñas, A., Luis-González, I. P., Amin-Blanco, N., Toledo, M. E. y Linares, N. (2019). Costo-efectividad de la vacunación contra rotavirus. *Revista Cubana de Salud Pública*, 45(3), e1816.

Giersing, B. K., Porter, C. K., Kotloff, K., Neels, P., Cravioto, A., & MacLennan, C. A. (2019). How can controlled human infection models accelerate clinical development and policy pathways for vaccines against Shigella? *Vaccine*, 37(34), 4778-4783. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.03.036>

Gobernación de Nariño. (2020). Nuestro Nariño al derecho. Por una alimentación y nutrición adecuadas. Plan Decenal Dhana 2020 - 2029. <https://sitio.narino.gov.co/wp-content/uploads/2020/12/Plan-decenal-DHANA-2020-2029.pdf>

Gómez-Duarte, O. G. (2014). Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* enteropatógenas en Colombia. *Revista Chilena de Infectología*, 31(5), 577-586. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000500010>

Gualteros, D. G. (2019). Cobertura saneamiento básico en municipios de Colombia. <https://storymaps.arcgis.com/stories/22886ec822944d24a61065fae61ed4f4>

Gutiérrez, M. F., Urbina, D., Matiz, A., Puello, M., Mercado, M., Parra, M., Ajami, N., Serrano, P. y Trespacios, A. A. (2005). Comportamiento de la diarrea causada por virus y bacterias en regiones cercanas a la zona ecuatorial. *C.M. Colombia Médica*, 36(4), (Supl. 3), 6-14. <https://doi.org/10.25100/cm.v36i4%20Supl%203.393>

Heinrich, K., Bach, M., & Breuer, L. (2017). Infectious disease research - what role is there for hydrologists? *Journal of Water Resource and Protection*, 9(2), 139-162. <https://doi.org/10.4236/jwarp.2017.92011>

Hurtado, S., García, F. y Gutiérrez, P. J. (2005). Importancia ecológica de los macroinvertebrados bentónicos de la subcuenca del río San Juan, Querétaro, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 44(3), 271-286.

Instituto Departamental de Salud de Nariño (IDSN). (2020). Indicadores Básicos de Sa-

- lud. Vigencia - 2020. <https://idsn.gov.co/index.php/subdireccion-de-salud-publica/epidemiologia/431-indbassalud17/3620-indicadores-basicos-de-salud>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2018). Boletín Epidemiológico Semanal BES. Las enfermedades transmitidas por alimentos – ETA. <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/boletinepidemiologico/2018%20bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2019). Boletín Epidemiológico Semanal BES. Morbilidad por enfermedad diarreica aguda. <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2020.pdf>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2021a). *Boletín Epidemiológico*. Comportamiento epidemiológico de la morbilidad por enfermedad diarreica aguda en Colombia 2020 a 2021. <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Paginas/Vista-Boletin-Epidemiologico.aspx>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2021b). Boletín Epidemiológico Semanal BES. Infecciones asociadas a la atención en salud. Colombia. https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2021_Boletin_epidemiologico_semana_9.pdf
- Jebri, S., Muniesa, M., & Jofre, J. (2017). General and host-associated bacteriophage indicators of fecal pollution. In: J. B. Rose and B. Jiménez-Cisneros (Eds.) *Global Water Pathogens Project*. Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO.
- Kalajdziewska, D., & Li, M. Y. (2011). Modeling the effects of carriers on transmission dynamics of infectious diseases. *Mathematical Biosciences and Engineering: MBE*, 8(3), 711-722. <https://doi.org/10.3934/mbe.2011.8.711>
- Katthab, O. K., Abo-Elnasr, A. A., Al-Wasify, R., Nassar, H. F., & Abbas, M. A. (2016). Occurrence and rapid enzymatic detection of *Candida* spp. in drinking water; a correlation with bacterial Indicators and physicochemical parameters. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 455.
- López-Barón, E., Morales, J. C. y Rodríguez, F. (2016). Análisis de costo oportunidad del uso de coproscópico en diarrea aguda en menores de 5 años. *Revista Médica*, 24(2), 66-73. <https://doi.org/10.18359/rmed.2642>
- Madigan, M., Matinko, J. y Bender, K. (2015). *Brock. Biología de los microorganismos* (14.^a ed.). Pearson Educación, S.A.
- Manrique-Abril, F. G., Billon, D., Bello, S. E. y Ospina, J. M. (2006). Agentes causantes de diarrea en niños menores de 5 Aaos en Tunja, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 8(1), 88-97. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642006000100008>
- McMurry, T. L., Rogawski, E., Liu, J., Kang, G., Kosek, M. N., Lima, A. A., Bessong, P. O., Samie, A., Haque, R., Mduma, E. R., Leite, J. P., Bodhidatta, L., Iqbal, N. T., Page, N., Kiwelu, I., Bhutta, Z. A., Ahmed, T., Houpt, E. R., & Platts-Mills, J. A. (2021). Duration of postdiarrheal enteric pathogen carriage in young children in low-resource

- settings. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 72(11), e806-e814. 10.1093/cid/ciaa1528
- Melero, O. y Peña, M. (2018). *Diseño de un reactor fotocatalítico a escala semi-industrial para la regeneración de aguas residuales de salida de depuradora* [Tesis de Pregrado, Universidad de Zaragoza]. <https://zaguan.unizar.es/record/75073?ln=es>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2018). *Informe Nacional de Calidad del Agua para Consumo Humano*. Ministerio de Salud y Protección Social.
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2020). Análisis de Situación de Salud (ASIS). Colombia, 2020. Dirección de Epidemiología y Demografía. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-2020-colombia.pdf>
- Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio. (2020). Plan Nacional de Abastecimiento de agua potable y saneamiento básico rural. <https://minvivienda.gov.co/system/files/consultasp/plan-nacional-apsbr.pdf>
- Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio. (2021). *Colombia Azul: El futuro del agua potable a 2030*. Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio.
- Muniesa, M., Mocé-Llivina, L., Katayama, H., & Jofre, J. (2003). Bacterial host strains that support replication of somatic coliphages. *Antonie Leeuwenhoek*, 83(4), 305-315. <https://doi.org/10.1023/A:1023384714481>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2013). *Reutilización del agua en la agricultura: ¿Beneficios para todos?* FAO
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (s.f.). Metas mundiales de nutrición, 2025. Documento normativo sobre retraso del crecimiento. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255735/WHO_NMH_NHD_14.3_spa.pdf;jsessionid=5F0C9A96F6B9D45F1AFAFDC6B915145?sequence=1
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2006). Guías para la calidad del agua potable. https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2007). *Luchas contra las enfermedades transmitidas por el agua en los hogares*. Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). Guidelines for drinking-water quality. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2018a). *Salmonella* (no tifoidea). [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2018b). *E. coli*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2019a). Agua. Datos y cifras. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2019b). 1 de cada 3 personas en el mundo no tiene acceso al agua potable, según UNICEF y la OMS. <https://www.who.int/>

es/news/item/18-06-2019-1-in-3-people-globally-do-not-have-access-to-safe-drinking-water—unicef-who

Organización Panamericana de la Salud (OPS) y Organización Mundial de la Salud (OMS). (s.f.). Agua y Saneamiento. <https://www.paho.org/es/temas/agua-saneamiento>

Parmar, T.K., Rawtani, D., & Agrawal, Y.K. (2016). Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. *Frontiers in Life Science*, 9(2), 110-118. 10.1080/21553769.2016.1162753

Peláez-Carvajal, D., Guzmán, B., Rodríguez, J., Acero, F., & Nava, G. (2016). Presence of enteric viruses in water samples for consumption in Colombia: Challenges for supply systems. *Biomédica, Revista del Instituto Nacional de Salud*, 36, 169-178. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.2987>

Pereira, M., Ferreira, F., Guimaraes, F. R. y Fumian, T. (2008). Molecular detection and characterization of gastroenteritis viruses occurring naturally in the stream waters of Manaus, Central Amazonia, Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, 375-382. 10.1128/AEM.00944-07.

Pérez-Salas, S. y Pineda-Jaramillo, M. (2019). *Diagnóstico del estado actual de abastecimiento de agua potable en las zonas rurales de Colombia* [Tesis de Pregrado, Universidad de La Salle]. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/1110

Price, R. G., & Wildeboer, D. (2017). E. coli as an indicator of contamination and health risk in environmental waters. In: *Escherichia coli - Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications*, Amidou Samie, (Ed.). 10.5772/67330.

Resolución 2115 de 2007. (22 de junio de 2007). Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. <https://fenavi.org/documentos/resolucion-numero-2115-de-2007/>

Rojas-Badía, M. M., Larrea-Murrell, J. A., Romeu-Álvarez, B., Heydrich-Pérez, M. y Rojas-Hernández, N. M. (2021). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-34.

Red Nacional de Protección de Alimentos, RENAPRA. (s.f.). Shigelosis. Enfermedades transmitidas por alimentos. <http://www.anmat.gov.ar/webanmat/publicaciones/shigelosis.pdf>

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

Ruiz, M. (2021). *La resistencia a los antibióticos, un problema de salud global: las infecciones por microbacterias ultrarresistentes* [Tesis de Pregrado, Universidad de Cantabria]. <https://repositorio.unican.es/xmlui/handle/10902/23549?show=full>

- UNICEF, Organización Mundial de la Salud y JMP. (2016). *Desigualdades en materia de saneamiento y agua potable en América Latina y el Caribe*. OMS-UNICEF.
- Uribe, E. (2015). *Estudios del cambio climático en América Latina. El cambio climático y sus efectos en la biodiversidad en América Latina*. Naciones Unidas, CEPAL, Unión Europea.
- Vandenberg, O., Gerard, M., & Kane, A. A. (2018). Patógenos entéricos bacterianos: *Clostridium difficile*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* y otros. *ISID*. <http://isid.org/guia/patogenos/bacterianos/>
- Venegas, A. (2018). Solamente 48,2 % de los municipios cuentan con plantas de tratamiento de aguas residuales. <https://www.larepublica.co/infraestructura/solamente-482-de-los-municipios-cuentan-con-plantas-de-tratamiento-de-aguas-residuales-2611155>
- Viceministerio de Agua y Saneamiento Básico, Dirección de Desarrollo Sectorial y Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio (2018). Plan Director Agua y Saneamiento Básico. Visión Estratégica 2018 – 2030. <https://www.minvivienda.gov.co/sites/default/files/2020-07/plan-director.pdf>
- Wu, J., Stewart, J. R., Sobsey, M. D., Cormency, C., Fisher, M. B., & Bartram, J. K. (2018). Rapid detection of *Escherichia coli* in water using sample concentration and optimized enzymatic hydrolysis of chromogenic Substrates. *Current Microbiology*, 75(7), 827-834. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1454-8>
- Yamaguchi, N., & Goto, S. (2019). Rapid quantification of *Escherichia coli* in potable water by fluorescence in situ hybridization performed in liquid (liq-FISH) and microfluidic System. *Water Air Soil Pollut*, 230-285. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4342-3>

CÁPITULO II

BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE *Escherichia coli* COMO BIOINDICADOR DE LA CONTAMINACIÓN FECAL DEL AGUA

Las enfermedades transmitidas por el agua contaminada son un problema grave a nivel mundial y representan una gran preocupación en países en vías de desarrollo (Jang et al., 2017); esto se hace más evidente cuando las comunidades cercanas a las fuentes de agua no poseen el servicio de saneamiento básico para el tratamiento del recurso hídrico destinado para el consumo (Dayanti et al., 2018). Por esto, es necesario garantizar la protección de la salud pública mediante monitoreos rutinarios de la calidad microbiológica del agua usando bioindicadores, de modo que se informe su estado y se implemente un control eficaz de la seguridad del agua suministrada para la población (World Health Organization, WHO, 2003; Pruss-Ustun et al., 2014).

Los microorganismos indicadores son aquellos que tienen características similares a los patógenos en cuanto a su crecimiento, concentración y comportamiento frente a factores ambientales y barreras artificiales, pero son más rápidos, económicos y fáciles de identificar a nivel de laboratorio (Tabla 2.1).

Tabla 2.1

Características que debe cumplir un microorganismo indicador de contaminación fecal

- Ser un constituyente normal de la microbiota intestinal de individuos sanos.
- Estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos.
- Estar presente cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están.
- Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación.
- Ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos.
- Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas (su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal).
- Ser fácil de aislar y cuantificar.
- No ser patógeno.

2.1 *Escherichia coli* como bioindicador de contaminación fecal

Las bacterias coliformes constituyen, aproximadamente, el 10 % de los microorganismos intestinales que forman parte de la microbiota natural de los seres humanos y animales homeotermos, por lo que son utilizadas como indicadores biológicos de contaminación fecal y del estado microbiológico de los alimentos y el agua (Supardan, 2018; Khan y Gupta, 2020).

Este grupo se caracteriza por presentar bacterias no móviles o móviles que se encuentran en la zona baja del intestino de los animales de sangre caliente; tienen actividad enzimática -galactosidasa y poseen la capacidad de desarrollarse y reproducirse en presencia de sales biliares propias del estómago y los intestinos. Además, son oxidasa negativa y muestran producción de ácido y gas (CO₂) a partir de lactosa, cuando estas son incubadas a una temperatura de 35 a 37 °C por 24 a 48 horas. Este grupo de bacterias se compone de algunos microorganismos propios de las heces, como *Escherichia coli* y géneros no fecales como *Citrobacter* (Kolawole y Adeyemi, 2020; Andrade y Bomfim, 2019; Mouhamad et al., 2017). La base para la identificación de este grupo se realiza mediante la evaluación de la capacidad de las bacterias para producir hidrólisis de la lactosa por acción de la β-D-galactosidasa, liberándose el monosacárido β-D-galactosa que genera un cambio en la coloración propia de los medios de cultivo cromogénicos (Larrea-Murrell et al., 2013; Jirova et al., 2016).

E. coli puede crecer en un rango de temperatura entre 10 y 40 °C, a un pH óptimo entre 7 y 7,5. No es productora de esporas y tiene forma de varilla (bastón); presenta un tamaño aproximado de 0,5 μm de diámetro y entre 1 a 3 μm de longitud, y habita comúnmente en el intestino grueso de humanos y animales homeotermos (Ranjbar et al., 2016; Dayanti et al., 2018; Nurliyana et al., 2018). *E. coli* es la única especie entre las enterobacterias que posee las enzimas β-D-glucoronidasa (GUD) y β-D-galactosidasa (GAL) como parte de su metabolismo; además, tiene la capacidad de producir indol a partir del triptófano, de acuerdo con las pruebas bioquímicas que facilitan su identificación (Andrade y Bomfim, 2019).

E. coli puede presentar una amplia variabilidad genética (Visvalingam et al., 2017); algunas de las cepas no representan un riesgo para la salud humana, pues no son patógenas, ya que conviven en el intestino en una relación de mutuo beneficio. Sin embargo, otros serotipos salvajes endémicos del ambiente y transmitidos a través de contaminación fecal, pueden ser patógenos y provocar infecciones con implicaciones crónicas en lugares diferentes al tracto intestinal en seres humanos como en las vías urinarias (Kolawole y Adeyemi, 2020). Existen diversas fuentes por medio de las cuales *E. coli* llega a los ecosistemas; una de ellas y, tal vez, la más importante, es el descarte de aguas residuales contaminadas de heces. La presencia de materia fecal fresca facilita su sobrevivencia en condiciones aeróbicas por, al menos, tres días, resultando en la transmisión fecal-oral como la ruta principal de diseminación de las cepas patógenas (Mouhamad et al., 2017).

Estudios demuestran que la presencia de *E. coli* es evidencia de contaminación, con alta probabilidad de encontrar también otros microorganismos patógenos (Katarzytea et al., 2018; Truchado et al., 2016). Las bacterias indicadoras de contaminación fecal (BIF) se pueden comportar de forma similar a los organismos patógenos presentes en un ambiente acuático, en cuanto a concentración en las aguas y reacción frente a factores ambientales, pero son más fáciles, rápidas y económicas de identificar (Oliveira et al., 2018).

Diferentes estudios enfocados a este grupo de bacterias han proporcionado nueva información con respecto a metodologías aplicables para la evaluación y cuantificación de la contaminación, no solo en ambientes acuáticos sino también en el suelo, pues existe implicación directa de la agricultura con contaminación fecal de fuentes acuáticas (Kolawole y Ademi, 2020). Así mismo, se ha informado que *E. coli* es un excelente bioindicador de contaminación fecal en aguas residuales orgánicas, sedimentos de lagos, lagunas, ríos, áreas urbanas, aguas costeras o de recreación, orillas de ríos, aguas subtropicales, suelos, entre otros. Adicionalmente, es considerada como una bacteria predictiva de riesgos de infección de enfermedades diarreicas en asentamientos humanos (Hussain, 2019). De forma complementaria, también se ha soportado a nivel científico que, las cepas patógenas de *E. coli* se asocian con brotes o focos infecciosos transmitidos por aguas contaminadas,

que incluyen a la cepa productora de la toxina Shiga (STEC) responsable de causar una de las enfermedades diarreicas más importante a nivel mundial, dada su distribución y capacidad de infección (Elmonir et al., 2020).

La presencia, abundancia y variabilidad de BIF en el medio ambiente depende de diversos factores, tanto intrínsecos como extrínsecos, que incluyen la fisiología, diversidad genética y condiciones ambientales de un determinado ecosistema (Liu et al., 2016). Con base en estas investigaciones, se ha logrado establecer que existen diferentes parámetros como la radiación solar (específicamente en el espectro UV) que pueden afectar directa o indirectamente el DNA, las proteínas y lípidos de las BIF (Tavares et al., 2018), de modo que la población bacteriana se puede ver afectada. Asimismo, un estudio realizado por Katarzytea et al., (2018), confirmó la hipótesis sobre la variabilidad espacial y temporal de la concentración de *E. coli* en el medio acuático (variación de la bacteria respecto al lugar geográfico y tiempos de muestreo), con relación a las variaciones ambientales, de modo que se presenta un aumento de la concentración de microorganismos después de periodos de precipitación, bajo pH, altas concentraciones de oxígeno y aumento de la turbidez (Katarzytea et al., 2018).

Complementariamente, es conocido y documentado que, los lugares más frecuentes para la eliminación de aguas residuales son los cuerpos marinos o las zonas costeras (Tavares et al., 2018). Estos ambientes presentan las condiciones atmosféricas favorables para el desarrollo y supervivencia de las bacterias de origen fecal, contribuyendo al aumento de la prevalencia de *E. coli* en los ecosistemas y, por ende, aumento del riesgo de infección para la población humana (Tavares et al., 2018).

2.2 Hábitats

E. coli es el bioindicador más usado para verificar la calidad microbiológica del agua (Liu et al., 2017). Esta bacteria es la principal representante del grupo de las coliformes fecales que se encuentra en 90 % de las heces de los animales (hábitat primario - intestino), razón por la cual pueden llegar fácilmente al ambiente externo por medio de aguas residuales, aguas de efluentes, escorrentía, defecación a campo abierto, y así contaminar las aguas naturales, ríos y aguas costeras (hábitat secundario) (Larrea-Murrell et al., 2013; Áliva-Torres, 2017).

El crecimiento de la bacteria es continuo en un hábitat favorable, pues cuenta con una fuente de nutrientes y condiciones favorables; sin embargo, en un hábitat adverso, su tasa de crecimiento es menor, con una supervivencia de aproximadamente un día en el agua, 1.5 días en sedimentos y hasta tres días en el suelo (Bushon et al., 2017). Esto implica que *E. coli* no sobrevive por mucho tiempo en ambientes inertes; pese a esto, la continua transferencia de estos microorganismos a través de fuentes de contaminación humana mantiene una población estable fuera de un hospedero animal (Larrea-Murrell et al., 2013).

Con relación a la supervivencia de *E. coli* en el hábitat adverso, es importante resaltar que se debe a diferentes factores que incluyen componentes bióticos (pastoreo y ganadería) y abióticos. Algunos de los factores abióticos más importantes que influyen en la supervivencia incluyen, el potencial de transferencia al medio ambiente, la exposición de la bacteria a la luz solar (rayos UV), temperatura, precipitaciones, humedad relativa, el pH, la materia orgánica disponible en el ecosistema y la presencia de otros microorganismos competidores, todos dependientes finalmente de lo disponible en el cuerpo de agua donde se establezca dicha población bacteriana (Trastoy et al., 2018; Bong et al., 2020). La figura 2.1 a continuación, se presenta los factores fisicoquímicos que afectan el desarrollo de *E. coli*.

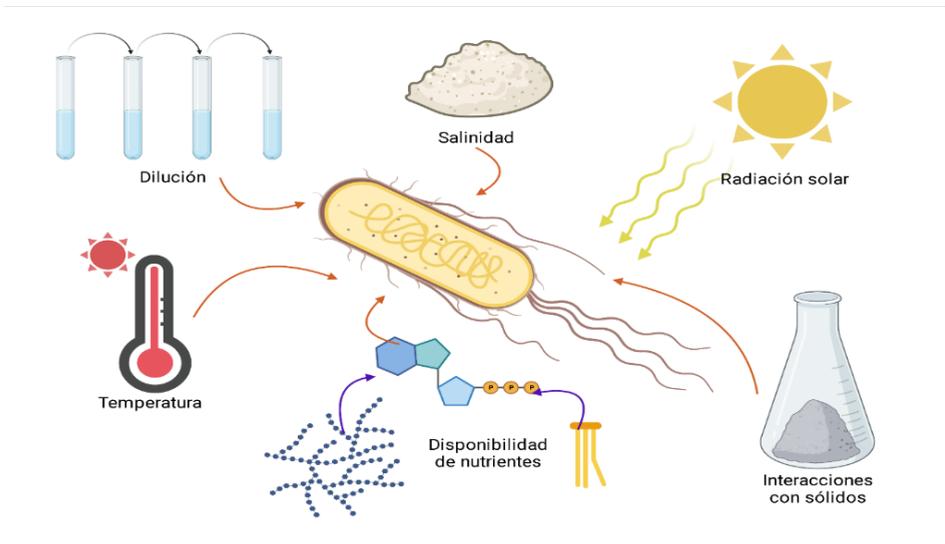


Figura 2.1 Factores fisicoquímicos que afectan el desarrollo de *E. coli*

En la figura 2.1 se observa los diferentes factores fisicoquímicos que pueden afectar el desarrollo y crecimiento de enterobacterias y bacterias patógenas como *E. coli* en el medio externo o medio ambiente. Por otro lado, *E. coli* puede estar presente en el medio, en un estado latente, bajo diferentes condiciones de estrés. Estas condiciones incluyen la influencia directa de los rayos UV, cambios drásticos de temperatura y falta de nutrientes y energía; no obstante, aún en este estado, estas bacterias pueden representar riesgo para la salud humana, ya que no pierden su patogenicidad y pueden reactivarse cuando las condiciones atmosféricas y ambientales son favorables (Katarzytea et al., 2018; Senkbeil et al., 2019).

• Radiación solar

Diferentes estudios han evaluado la importancia de la radiación solar en la supervivencia de las BIF como *E. coli* en el medio ambiente y, específicamente, en el medio acuático (Aboushi et al., 2021). Un ejemplo corresponde al estudio realizado por Jozić et al., en 2014, en donde se utilizó dos cepas de *E. coli* (aisladas de heces de humanos y otra de heces caninas) para establecer el efecto de la radiación solar sobre la abundancia de esta bacteria. En este estudio se encontró que la continua exposición a los rayos UV redujo de 15 a 70 veces la concentración bacteriana en el cuerpo de agua de estudio y que, a mayor profundidad, la radiación solar perdía eficacia, por lo que se incrementa la sobrevivencia de *E. coli*. Por lo tanto, se puede concluir que los rayos UV o la radiación solar tienen actividad desinfectante o antimicrobiana natural en los ecosistemas, de modo que pueden inhibir procesos de reproducción bacteriana y así, su sobrevivencia y desarrollo. Otros estudios han utilizado este factor para controlar el establecimiento de las poblaciones microbianas y reducir la probabilidad de infección y el riesgo en la población humana (Ferreira et al., 2019; Aboushi et al., 2021).

• Salinidad

La salinidad puede incrementar el potencial osmótico en el medio acuático, por lo que, de manera general, las bacterias se ven afectadas drásticamente por el aumento de este potencial. Sin embargo, la salinidad, además de afectar el potencial osmótico del agua, puede interactuar con otros parámetros que se relacionan con la sobrevivencia bacteriana en el ambiente externo (Katarzytea et al., 2018).

Múltiples estudios han relacionado la salinidad con la disponibilidad de nutrientes afirmando que, a mayor salinidad, existiría una menor concentración de estos. Adicionalmente, un ambiente con alta concentración de sales y con una radiación solar considerable, contribuye a la disminución potencial de la sobrevivencia de las BIF (Sinton et al., 1999). Para estos casos, se puede afirmar que la sobrevivencia de *E. coli* puede ser mayor en ambientes lagunares, en comparación con los ambientes costeros o marinos (Benvenuto-Vargas, 2017). Como resultado, las bacterias tienen la capacidad de adaptarse a la presión osmótica, elevando su resistencia celular contra la salinidad del agua de mar, lo que provoca un choque osmótico, de modo que las bacterias pueden acumular moléculas osmoprotectoras que, finalmente, causan la alta tasa de descomposición celular o la muerte bacteriana (Tavares et al., 2018).

• Dilución

La dilución es uno de los factores que puede afectar directamente el crecimiento y la supervivencia de *E. coli* y las BIF en el medio ambiente, ya que se relaciona con los demás factores abióticos como la radiación solar, la turbidez, la salinidad y la (Xing et al., 2020). Estudios han demostrado que la dilución puede reducir la concentración de bacterias en aguas residuales o contaminadas fecalmente; además, incide en el aumento de la salinidad en el agua, principalmente en aguas costeras o marinas, reduciendo su supervivencia. Sin embargo, el incremento del porcentaje de sólidos disueltos en el agua (baja dilución) deriva en un aumento de la turbidez, por lo que los rayos UV o la radiación solar no es suficientemente eficiente para eliminar las poblaciones bacterianas (Tavares et al., 2018).

• Temperatura

Otro factor importante y que puede influir sustancialmente en el desarrollo de las BIF y *E. coli*, es la temperatura. No obstante, algunos autores afirman que la temperatura es dependiente de la radiación solar y que las bacterias se pueden desarrollar en amplios rangos de ésta (Pesciaroli et al., 2019).

En el estudio realizado por Jozić et al., en 2014, se demostró que no existe una relación significativa entre la temperatura y la supervivencia o reproducción de *E. coli* en ambientes acuáticos. Este resultado con-

cuerda con otros estudios realizados por Books et al., en 2015 y, Tavares et al. (2018), en donde también se afirma sobre el efecto no significativo de la temperatura sobre la presencia de *E. coli* o *Enterococcus sp.*, de modo que, para varios autores, esta no corresponde a una variable significativa en el momento de evaluar la dinámica poblacional de las BIF en ambientes externos.

De igual manera, Hernroth et al. en 2010, determinaron que existía un mayor rendimiento poblacional de *E. coli* a temperaturas más bajas (8 °C), en comparación con las mismas cepas cultivadas a temperatura óptima (18 °C) (Lothigius et al., 2010). Lo anterior concuerda con lo previamente descrito por Books et al. (2015) y, Tavares et al. (2018). En estos artículos se indica que las BIF pueden sobrevivir tanto a altas como a bajas temperaturas, mediante diversas adaptaciones que les permiten desarrollarse en el ambiente externo, expuesto constantemente a las variaciones climáticas.

En otras investigaciones se observó que, la exposición de *E. coli* a mayores temperaturas mejora la producción de indol, lo que permite incrementar su porcentaje de sobrevivencia (Liu et al., 2017). Adicionales reportes demuestran, por el contrario, que existen algunas variantes de *E. coli* que pueden sobrevivir a bajas temperaturas, pero su capacidad de virulencia disminuye (Di Sante et al., 2018).

En otros estudios realizados por Hsu et al., en 2019, fue demostrado que *E. coli* se correlacionaba negativamente con la temperatura y con la conductancia específica, pero se correlacionaba positivamente con el oxígeno disuelto, lo cual sugiere que las concentraciones de las BIF dependen de una baja temperatura, una baja conductancia específica, pero un alto porcentaje de oxígeno disuelto.

• Disponibilidad de nutrientes

La supervivencia de *E. coli* en un medio, depende directamente de la disponibilidad de nutrientes y la depredación. Es así como la disponibilidad óptima de nutrientes conlleva que las BIF sobrevivan por una mayor cantidad de tiempo en el hábitat secundario (Wanjugi et al., 2016). Algunos estudios se han centrado en este factor, como el realizado por Hernroth et al., en 2010, quienes analizaron la supervivencia de *E. coli* incubada a 10 °C en agua con alto contenido de nutrientes; allí demos-

traron que, a pesar de la baja temperatura, el crecimiento bacteriano no se vio (Lothigius et al., 2010). En otros estudios se ha demostrado que las BIF expuestas a condiciones de estrés nutricional pueden modificar su morfofisiología para así aumentar la eficiencia energética y optar por otras fuentes nutrientes a partir de otras bacterias en estado de muerte celular (Tavares et al., 2018).

• **Interacciones con sólidos**

La resuspensión de materia orgánica e inorgánica es un problema emergente en la descomposición bacteriana, dado que puede dificultar la eliminación de *E. coli* de los ecosistemas; esta se encuentra relacionada con la adsorción, desorción, viabilidad e infectividad de *E. coli* (Schang et al., 2018).

De acuerdo con lo investigado por Alkan (1999), respecto a las interacciones de *E. coli* con sólidos, la concentración de partículas, velocidad y concentración de las aguas residuales, son determinantes en la eliminación de *E. coli* de la columna de agua (hasta 36 %). Sin embargo, la eliminación bacteriana es parcial; esto, vinculado a que las partículas de aguas residuales compiten con las bacterias por los sitios de adsorción, por lo que se dificulta la completa eliminación. Los autores de este estudio concluyeron que, la eliminación de *E. coli* en fuentes marítimas es significativa cuando las tasas de cizallamiento (fuerza que actúa sobre el área de agua y da como resultado un gradiente de velocidad en todo el espesor de la muestra) varían entre 20 y 25 s⁻¹ y existe alta turbidez (Alkan, 1999; Tavares et al., 2018). Es preciso mencionar que la relación entre los sólidos suspendidos y las bacterias está mediada por la precipitación, la cual después de un evento de tormenta o fuertes lluvias, puede diluir bacterias en las columnas de agua.

En algunos casos se produce escorrentía desde campos dedicados a la agricultura o ganadería, que pueden aportar un mayor volumen de contaminantes, tanto de fertilizantes como heces transportadoras de microorganismos patógenos (Hsu et al., 2019).

Adicionalmente, Bong et al. (2020) demostraron que la abundancia y supervivencia de *E. coli* era mayor en ambientes estuarios o costeros, a diferencia del agua de río, debido a que la continua eliminación de desechos domésticos e industriales sin tratamiento cerca a la playa es

considerablemente mayor. Estos factores, además de la profundidad de los cuerpos de agua y la distancia de estos con relación a las plantas de tratamiento o las fuentes de contaminación directas, también contribuye con el aumento de las poblaciones de *E. coli* (Dayanti et al., 2018).

Ngong et al. (2019) demostraron que la frecuencia de contaminación bacteriológica es más alta en aguas estancadas (como lagos) que, en aguas móviles como ríos ya que, las aguas estancadas incrementan la deposición de partículas en suspensión en un solo lugar, lo cual favorece el crecimiento de *E. coli* en el medio ambiente.

• **Precipitación**

Con relación a la precipitación, Ercumen et al. (2018) determinaron que *E. coli* tuvo una mayor concentración y abundancia en fuentes de agua durante la temporada de lluvia, en comparación con la estación seca, donde la frecuencia de esta bacteria fue menor. Sin embargo, la distribución y la frecuencia de las bacterias con respecto a la variación estacional es imprecisa, debido a que algunos estudios se contradicen en sus resultados y han demostrado que la temporada de lluvias no representa un papel fundamental en la supervivencia de las bacterias (McKee et al., 2020). Lo anterior se confirma con el estudio realizado por Ahmed en 2016, en donde se reporta que la frecuencia de la población *E. coli* se mantuvo estable en todas las estaciones, en comparación con dos bacterias que presentaron aumento de sus poblaciones en la estación seca (Fakhr et al., 2016).

• **Desechos de materiales**

Es importante resaltar que las actividades hospitalarias representan un papel fundamental en el bienestar de la población y en la investigación sanitaria, pero, durante dichas actividades se pueden generar subproductos no deseados que, si no son tratados siguiendo un protocolo debidamente establecido, pueden pasar a ser efluentes que incluyen macro y micro contaminantes de amplio rango de concentración provenientes de laboratorios, procesos de investigación, quirófanos y unidades de preparación médica (Akin, 2016; Oliveira et al., 2017). En este sentido, las aguas residuales hospitalarias que se descargan en los sistemas de alcantarillado de las ciudades y, en algunos casos, directamente en ecosistemas acuáticos, pueden contener grandes cantidades

de microorganismos patógenos, metales pesados, productos químicos tóxicos (detergentes) y elementos radiactivos que representan un riesgo para la salud de la población (Costin, 2018). Algunos de los contaminantes mencionados pueden ser clasificados en función de sus concentraciones como microcontaminantes (10.6 – 10.3 mg/L) o macrocontaminantes (> 10.3 mg/L) (Oliveira et al., 2017).

Durante los últimos años se ha hecho estudios sobre procesos de infección humana por parte de microorganismos patógenos, a través de fuentes de agua contaminada de origen hospitalario, en procura de estrategias para mitigar dicha propagación de las bacterias en las fuentes y así, controlar los brotes de enfermedades consecuentes; no obstante, los estudios enfocados en la gestión y el tratamiento de aguas residuales hospitalarias (laboratorios hospitalarios de bioquímica y microbiología, entre otros) es limitada (Akin, 2016).

Al Terehi et al. (2019) encontraron *E. coli* en muestras clínicas de orina, hisopos vaginales y heridas. Los diferentes aislados de *E. coli* presentaron genotipos similares, por lo que se dedujo que la bacteria en cuestión puede contaminar los ambientes hospitalarios y transferirse entre los pacientes de diferentes formas, teniendo en cuenta que dichos pacientes se encuentran en habitaciones conjuntas (baños, comedores, camas, entre otros), de modo que se incrementa el riesgo a la salud de los pacientes por la presencia de esta.

Otra forma de contaminación de los afluentes acuáticos tiene que ver con los residuos de antibióticos con los que se trata a los pacientes que se encuentran con cuadros de enfermedades diarreicas causadas por coliformes, quienes reciben dosis de antibióticos para controlar la sintomatología. No obstante, dichos antibióticos, al igual que las cepas de *E. coli*, pueden llegar a los afluentes hospitalarios mencionados y, como consecuencia, contaminarlos, con la suerte que se dé, además del incremento de la sobrevivencia de los organismos patógenos en estos ambientes, un aumento de su resistencia, lo que acrecienta el problema de salud pública (Iakovides et al., 2019).

2.3 Patotipos de *Escherichia coli*

Estudios previos resaltan la importancia de *E. coli* como bioindicador de contaminación fecal, la cual directamente está relacionada con problemas de salud pública y la generación de enfermedades. Principalmente cuando su linaje es de alta patogenicidad (Müller et al., 2016; Fiallos et al., 2018), pueden ser responsables de afecciones tanto en el sistema urinario como en el nervioso y en el digestivo (Andrade y Bomfim, 2019; Bong et al., 2020).

E. coli está clasificada en patotipos, según los factores de virulencia que cada uno exhiba. Por lo tanto, se ha descrito un total de ocho serotipos patógenos: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* uropatógena (UPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de adherencia difusa (DAEC), *E. coli* adherente invasiva (AIEC). HST (Toxina termoestable), HLT (Toxina termolábil), CNF (Factor necrotizante citotóxico), BFP (Pilus formador de bundle), HUS (síndrome urémico hemolítico), AAF (Fimbria de adherencia agregativa), CFA (Antígeno de factor de colonización), EAST₁, EAEC siga toxina 1, ShET₁, Entorotoxina 1 de Shigella, DAF (Factor de aceleración de decaimiento), MUC₁ (Mucina transmembranal epitelial).

Estas cepas patógenas pueden ser clasificadas de acuerdo con sus patrones de virulencia, mecanismos de patogenicidad, criterios clínicos, criterios epidemiológicos y moleculares. Por lo tanto, se ha descrito un total de ocho serotipos patógenos, *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) (Weiler et al., 2017; Fiallos et al., 2018; Andrade y Bomfim, 2019) (Figura 2.2).

Además de la clasificación anterior, las cepas patógenas pueden ser diferenciadas de las comensales de *E. coli*, gracias a las características fenotípicas y a las variables genotípicas propias de éstas, las cuales han sido serotipificadas con base en tres antígenos: los somáticos (O), capsulares (K) y flagelares (H), que pueden combinarse y permiten identificar, al menos, 700 tipos diferentes de *E. coli* (Maloo et al., 2017).

Algunos de los serotipos clasificados como patógenos, tienen la capacidad de producir enterotoxinas como a grandes rasgos, la ETEC puede producir enterotoxinas termolábiles (LT) o termoestables (ST). Esta bacteria puede colonizar el intestino de animales homeotermos por medio de fimbrias específicas, y se ha asociado principalmente con la diarrea acuosa en niños menores de cinco años y en adultos (Cundon et al., 2018).

La STEC corresponde al grupo de patógenos más importantes transmitidos por el agua y alimentos, que puede causar cuadros de gastroenteritis hasta colitis hemorrágica. Mediante la acción de la toxina Shiga puede causar la lisis prematura de los glóbulos rojos y, como consecuencia, puede damnificar el sistema de filtración del organismo y los riñones, causando el síndrome urémico hemolítico (HUS) (Darkazanli et al., 2019). La EPEC se ha relacionado con la diarrea infantil, pues su presencia induce una alteración histopatológica en los intestinos, conocida como lesión de adherencia y eliminación. La EAEC también se caracteriza por producir casos de diarrea en la población infantil; sin embargo, en este caso, causa cuadros de diarrea aguda persistente en el tiempo (Ledwaba et al., 2020). La EIEC, además de diarrea acuosa, causa disentería en los seres humanos y está relacionada con *Shigella spp*, ya que sus características genéticas, bioquímicas y factores de virulencia, pueden causar el mismo cuadro de infección (Weiler et al., 2017). Por otra parte, la EHEC es un tipo derivado de STEC que tiene la capacidad de causar enfermedades entéricas graves como HUS y colitis hemorrágica, lo que la hace más virulenta que las descritas anteriormente; el serotipo más representativo es el de *E. coli* O157:H7, precursor de la toxina Shiga, responsable de múltiples brotes de infección tanto en países desarrollados como en países en vía de desarrollo (Darkazanli et al., 2019; Lennox et al., 2020).

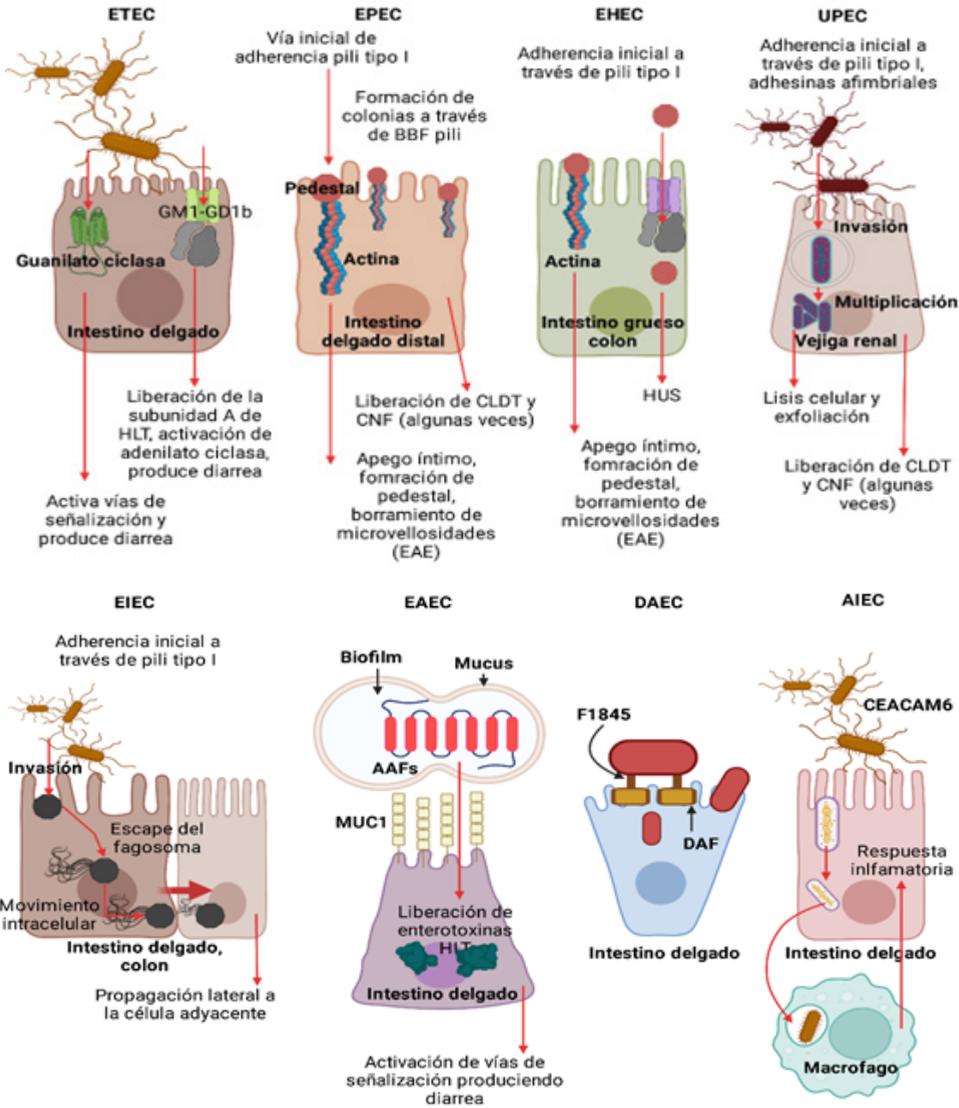


Figura 2.2 Patotipos de *Escherichia coli*

Fuente: adaptación propia con base en Wilson et al. (2019)

Se observa los diferentes patotipos patógenos de *E. coli* que pueden producir lesiones y cuadros de enfermedades en diferentes órganos del cuerpo humano. A) *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) y *E. coli* uropatógena (UPEC). B) *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) y *E. coli* adherente invasiva (AIEC).

Las cepas de *E. coli* son genéticamente diversas, de tal manera que se ha descrito ocho grupos filogenéticos (A, B₁, B₂, C, D, E, F y clado 1), utilizando la tipificación de secuencias multilocus (MLST) y datos de las nuevas secuencias encontradas del genoma de la bacteria (Millán et al., 2020). Sin embargo, Clermont et al. (2000) y, Clermont et al. (2013), describieron y validaron una nueva metodología de identificación para los diferentes grupos filogenéticos de *E. coli*, basándose en el genotipo obtenido mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple, por medio de la detección de genes característicos de cada uno de estos grupos (Millán et al., 2020).

De acuerdo con esto, la clasificación de estos grupos filogenéticos se basa en la presencia o ausencia de los genes que codifican para diferentes proteínas bacterianas. Es el caso del gen *chuA* que codifica para la proteína chuA de membrana externa, que tiene la capacidad de interactuar con el grupo hemo de la hemoglobina en el hospedero, ocasionando toxicidad; se encuentra presente en la EHEC, además de los genes *iyaA* y del fragmento *TspE4.C2*; este último es considerado como un fragmento de DNA desconocido (Cundon et al., 2018; Millán et al., 2020). Es necesario mencionar que, la mayoría de los serotipos patógenos de *E. coli* se ubican en el grupo filogenético A y B₁ (intestinales), correspondientes a humanos y animales respectivamente. Además de eso, son cepas que se puede encontrar en el medio ambiente y han presentado resistencia a antibióticos. Los serotipos de UPEC pueden ser clasificados en los grupos filogenéticos B₂ o D (extra-intestinales). Las cepas del grupo B₂ tienen la capacidad de descarboxilar lisina y ornitina, y se han relacionado con cuadros de cistitis y episodios de meningitis neonatal en humanos (Cundon et al., 2018; Bong et al., 2020). A continuación, se describen los patotipos más representativos de *E. coli*:

2.3.1 *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)

Uno de los serotipos patógenos de *E. coli* más ampliamente citados en referencias bibliográficas es la *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) del cual se resalta su representante más virulento y generador de mayor preocupación a nivel mundial: la *E. coli* O157:H7 (Kolawole y Adeyemi, 2020). Esta cepa de *E. coli* es un patógeno entérico causante de enfermedad gastrointestinal humana, además de una variedad de síndromes clínicos que incluyen: diarrea con sangre, colitis hemorrágica (HC) y síndrome urémico hemolítico (HUS).

2.3.2 *E. coli* enteroagregativa (EAEC)

E. coli enteroagregativa (EAEC) es uno de los patotipos de *E. coli* que producen patrón de adherencia agregante (AA) en células epiteliales. Este patrón se caracteriza por una disposición bacteriana que se asemeja a los ladrillos apilados (Días et al., 2020). Por otro lado, este serotipo patógeno contiene una serie de genes de virulencia (*AggR* y *aatA*), cuya traducción puede incrementar los cuadros de infección para los humanos (Bamidele et al., 2019). La patogenicidad de EAEC se caracteriza por la colonización del epitelio intestinal y la producción y secreción de enterotoxinas y citotoxinas productoras de diarrea secretora (Fiallos et al., 2018).

Se puede diferenciar tres estadios de infección por parte de esta cepa patógena:

1. Adherencia a la mucosa intestinal mediante una fibra de adherencia agregativa
2. Estimulación de la producción de mucosa, formando una bio-película en la superficie de la pared intestinal
3. Toxicidad de la mucosa, caracterizada por la liberación de las citotoxinas de la bacteria (Fiallos et al., 2018). Como resultado de este proceso de infección, esta cepa puede causar diarrea aguda o persistente, tanto en niños como en adultos, residentes en países en vías de desarrollo. En países industrializados se identifica con frecuencia en cuadros diarreicos y en pacientes infectados por VIH (Bamidele et al., 2019). De la diarrea acuosa se puede destacar fiebre y secreción mucosa, ambas relacionadas con la virulencia de la bacteria (Farfán-García et al., 2016). Un estudio realizado por Rüttler et al., (2006) detectó la presencia de EAEC en un brote de diarrea en niños menores de dos años en la ciudad de Mendoza, Argentina. Se identificó los patotipos EAEC y ETEC como los más frecuentes, recuperados a partir de muestras de pacientes pediátricos con cuadros de diarrea aguda y, con mayor frecuencia en la población adulta en la misma ciudad.

Por otra parte, la cepa enteroagregativa *O104:H4* fue la responsable del brote de infección presentado en Alemania en 2011, en individuos con cuadros de gastroenteritis y cuadros graves de síndrome urémico

hemolítico. Los análisis moleculares de las cepas causantes de este brote identificaron una combinación inusual de genes de virulencia provenientes de dos patotipos: EAEC y STEC (Lösch et al., 2015).

2.3.3 *E. coli* enteropatógena (EPEC)

La cepa de *E. coli* enteropatógena se caracteriza por causar diarrea después de la infección, tras ingerir agua contaminada con materia fecal (Sanches et al., 2017). La cantidad de bacterias necesarias para causar un cuadro diarreico en adultos está entre 10^8 y 10^{10} , siendo ésta, la dosis mínima de infección para niños pequeños (Fiallos et al., 2018).

Los serotipos de EPEC fueron los primeros en ser descritos; la OMS en 1987 acordó que los serogrupos *O26*, *O55*, *O86*, *O111*, *O114*, *O119*, *O125*, *O126*, *O127*, *O142* y *O158* serían de vigilancia prioritaria debido a su alto potencial de infección (Fiallos et al., 2018). El patotipo de EPEC genera una alta tasa de mortalidad en países de desarrollo y, el cuadro de diarrea es consecuencia de la pérdida de microvellosidades intestinales, una vez se ha dado la adherencia bacteriana a los enterocitos y se ha producido las diferentes lesiones de la fijación y el borrado (A/E). La lesión A/E es causada por la intimina, una proteína de la membrana externa codificada por el gen *aea*, que se encuentra en la isla de patogenicidad denominada *locus de borramiento de enterocitos* (LEE). Además, estas cepas pueden ser clasificadas como típicas o atípicas, dependiendo de la presencia o ausencia de los factores de adhesión (Sanches et al., 2017).

La enfermedad causada por las cepas patógenas EPEC puede ser moderada o grave; su periodo de incubación es de 3 a 24 horas y el cuadro diarreico puede ser persistente y estar acompañado de fiebre y vómito (Ledwaba et al., 2020). Durante la infección se producen cambios en la actividad fisiológica normal del enterocito, debido al aumento de secreción de electrolitos de las células hacia el espacio extracelular, lo cual produce un aumento en la permeabilidad de uniones intra e intercelulares y, puede conducir a un cambio estructural en la célula responsable de la sintomatología presentada (Farfán-García et al., 2016).

2.3.4 *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)

E. coli enterotoxigénica es una de las principales causantes de diarrea infantil en países de bajos y medianos ingresos y se puede observar con

mayor frecuencia en viajeros de zonas endémicas (Chakraborty y Keeney, 2018). Esta cepa es un patógeno diarreico Gramnegativo de distribución global; habita en el intestino delgado y puede infectar hasta 200 millones de personas en el mundo cada año (Crofts et al., 2018). Las infecciones por este patógeno llegan a provocar aproximadamente 100.000 muertes anuales (Crofts et al., 2018). ETEC se define por su capacidad de producir enterotoxinas termolábiles y termoestables (incluidos los tipos *STh* y *STp*). Por otro lado, los factores de colonización (CF) incluyen proteínas fimbriales de la membrana externa, que se encarga de la adherencia a la mucosa gástrica del intestino delgado (Crofts et al., 2018).

Se ha descrito más de 25 CF para la ETEC, que puede infectar humanos; entre ellos, los correspondientes a la cepa patógena ETEC *H10407*, la cual alberga enterotoxinas termolábiles y termoestables, junto con la adhesina antígeno del factor de colonización I (CFA-I). La CFA-I se encuentra controlada por el regulador transcripcional CfaD que activa la expresión del operón CfaABCE en el plásmido de virulencia *p948*. Posteriormente, la proteína responsable de la entrada de la membrana y la chaperona periplasmática une la proteína extracelular con la adhesina, lo cual resulta en el aumento en la producción de adhesina CFA-I por la cepa *H10407*, de manera que se asegura el crecimiento de la cepa ETEC en el intestino delgado (Chakraborty y Keeney, 2018).

2.3.5 *E. coli* Shigatoxigénica (STEC)

Las cepas de STEC son una causa importante de enfermedades transmitidas por los alimentos a nivel mundial (Pires et al., 2019). Recientemente, la OMS estimó que las STEC transmitidas por alimentos, causaron aproximadamente un millón de infecciones en la población mundial, ocasionando alrededor de cien muertes confirmadas (Elmonir et al., 2020). La infección por este patotipo patógeno se ha asociado con una amplia gama de enfermedades, desde molestias intestinales leves, hasta síndrome urémico hemolítico (HUS) o, enfermedad renal en etapa terminal (ESRD) e incluso, la muerte (Pires et al., 2019).

Es preciso mencionar que, la infección en humanos puede ocurrir a través de la ingesta de alimentos, aguas contaminadas, contacto directo con animales, contacto persona a persona y a través de fómites.

El estudio de todas estas fuentes de transmisión es relevante para establecer medidas de control apropiadas encaminadas a reducir su propagación en la población (Pires et al., 2019). Respecto a los reservorios animales, se considera a los bovinos, como uno de los principales para las cepas patógenas de STEC; la carne de res y los productos cárnicos han sido asociados frecuentemente con brotes de infección por parte de estas cepas, incluida la cepa STEC *O157:H7*, la cual se ha relacionado tradicionalmente con enfermedades humanas; sin embargo, más de 400 cepas de STEC tienen el potencial de causar cuadros diarreicos y de enfermedad grave en seres humanos (Toro-Ibaceta et al., 2018).

Toro-Ibaceta et al. (2018) sostienen que, *E. coli* Shiga Toxina (St) enterohemorrágica está asociada con diferentes genes de virulencia de importancia clínica, como las toxinas Shiga (Stx1 y Stx2), enterohemolisina (*hlyA*) e intimina. Los genes de la toxina Shiga son citotoxinas codificadas provenientes de fagos de ADN de doble cadena, del tipo lambdoides, lisogénicos que inactivan el ARN ribosómico, inhiben la síntesis de proteínas y causan la muerte de la célula hospedera. Las toxinas Shiga desempeñan un papel importante en la patogénesis del síndrome urémico hemolítico y la colitis hemorrágica debido a los efectos citotóxicos en las células de los riñones, intestinos, sistema nervioso central y otros órganos.

El gen de enterohemolisina, ubicado en el gran plásmido de virulencia de EHEC *O157:H7*, es una toxina formadora de poros que lisa los eritrocitos de ovejas y humanos y se asocia comúnmente con enfermedad diarreica y HUS (Croxen et al., 2013). El proceso también involucra a la Intimina, cuya actividad fue descrita previamente en este documento (Launders et al., 2016).

2.3.6 *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)

La infección causada por este patotipo de *E. coli* se caracteriza por presentar diarrea acuosa, con sangre, moco y dolor abdominal, pero, en algunos casos solo se presenta el cuadro de diarrea, lo cual hace difícil su caracterización e identificación por técnicas de histopatología (Farfán-García et al., 2016). Estas cepas están asociadas comúnmente con brotes de infección en una comunidad específica, la cual se debe a la ingestión de alimentos o aguas contaminadas, siendo así un pa-

tógeno importante para niños por encima de los seis meses de edad (Farfán-García et al., 2016).

2.3.7 *E. coli* uropatogénica (UPEC)

Esta bacteria, no considerada como un patotipo hace algunos años, está vinculada a padecimientos extraintestinales, principalmente a nivel del tracto urinario. Se piensa que *E. coli* uropatógena no es un grupo homogéneo; particularmente se asocia como un patotipo híbrido debido a su variabilidad genética (Wilson et al., 2019).

Según sus diversos grados de virulencia (Figura 2.2), algunas pueden causar una bacteriuria asintomática, como se llama al caso en que el microorganismo entra en la vejiga y no causa ninguna sintomatología, y la persona puede vivir meses, incluso años, sin saber que es portadora (Shenouda et al., 2020). También, hay algunas muy virulentas, peligrosas, que pueden llegar hasta los riñones e, incluso, alcanzar al torrente sanguíneo (Sarowska et al., 2019).

El periodo de incubación es variable. Desde que entra por la uretra hasta que llega a la vejiga, pueden pasar entre 12 y 18 días y, en llegar a los riñones (ocurre raramente), entre tres y seis días, un periodo relativamente breve que depende, entre otros factores, del tipo. Estudios recientes han asociado al gen pap GII como un factor de virulencia importante, cuya función es procurar la adhesión de las UPEC al tejido renal. Se ha documentado la asociación del gen pap GII con estadios de pielonefritis; además, se ha postulado su ventaja competitiva durante estadios de bacteriemia. Cierta evidencia señala que su presencia no es determinante en estadios de pielonefritis, por lo tanto, su función aún no es concluyente en el proceso de infección en el tracto urinario.

Gonzales-Rodríguez et al. (2020), concluyeron que, *E. coli* portadoras del gen pap GII pueden inducir un mayor daño tisular que, posiblemente, favorece una mayor concentración de hierro en la orina, lo cual estimula su incremento. Además, la tendencia positiva en los pacientes infectados con *E. coli* pap GII de tener una mayor capacidad antioxidante puede deberse a la deficiencia de neutrófilos reclutados en la PAM en la producción de ROS. Finalmente, la presencia generalizada del gen nanA es importante debido a su alta relevancia en estadios de sepsis. Esto sugiere la necesidad de estudios más específicos encaminados a

establecer la expresión de los genes asociados como factores de virulencia a la patogénesis de este tipo de bacteria.

2.3.8 *E. coli* de adherencia difusa (DAEC)

E. coli de adherencia difusa (DAEC) es el sexto grupo de *E. coli* diarrogénicas reconocidas; su asociación con diarrea es controversial. No se conoce la variabilidad en los patrones de adherencia de cepas clínicas (Riveros et al., 2011); este grupo es de adherencia difusa, según el patrón de coadherencia con las células HEP-2. El grupo DAEC se puede aislar tanto en personas sanas como en personas con diarrea; sus principales síntomas son diarrea acuosa, sin sangre y sin leucocitos

Las adhesinas Afa, Dr y F1845 están codificadas por los operones afa / dra / daa, respectivamente. Todos estos operones contienen, al menos, cinco genes diferentes, con una distribución y función conservadas, A, B, C, D y E, que codifican un regulador transcripcional, una chaperona, un Usher, una invasina y una subunidad estructural de adhesina, respectivamente. Los genes afa / dra / daa A, B, C y D son altamente conservados entre la mayoría de los miembros de esta familia, mientras que el gen E es menos conservado, a excepción de afaE-3 y draE, que tienen una homología del 99 % y una identidad del 98 % (Carbajal-Rios, 2018).

2.3.9 *E. coli* de adherencia invasiva (AIEC)

Este grupo es muy controversial; algunos investigadores lo consideran como un grupo híbrido. *Escherichia coli* (AIEC) ha sido implicado en la etiología de la enfermedad de Crohn y se define por su capacidad de adherencia e invasión de células epiteliales intestinales y, de sobrevivir y replicarse en macrófagos (Wilson et al., 2019).

La identificación se basa en el aislamiento de *E. coli* de la mucosa intestinal y posterior identificación del patotipo mediante ensayos fenotípicos de infección de cultivos celulares. Hasta el momento no se dispone de marcadores moleculares eficientes para su diagnóstico, implicando dificultad de los estudios epidemiológicos y clínicos; complementariamente, aun no son dilucidados los mecanismos moleculares de su patogenicidad y expresión genética, principalmente por la variabilidad que exhibe, como también por la facilidad de su recombinación. Si bien aún no se ha establecido genes específicos para este grupo, algunos estudios sugieren que, pequeñas variaciones en el ge-

noma como SNP (Polimorfismos de nucleótidos simples), pueden estar contribuyendo con su diversidad.

2.4 Mecanismos de modificación genética y recambio: Papel en la evolución de los patógenos (Transferencia horizontal de genes, islas de patogenicidad y evolución de patógenos)

Los ambientes naturales como agua, suelo y plantas, pueden ser considerados como reactores genéticos bacterianos, ya que facilitan la dinámica bacteriana de crecimiento poblacional. En estos, el intercambio genético activo ocurre de manera rutinaria entre las diferentes bacterias presentes, de manera similar a lo que ocurre en el intestino de sus hospederos (Baquero et al., 2008).

En algunos estudios se ha identificado que, los genes que codifican para la resistencia a los antibióticos están relacionados frecuentemente con elementos genéticos móviles, como los integrones, considerados los más importantes, ya que se asocian comúnmente con otros elementos móviles como plásmidos o transposones (Kotlarska et al., 2014; Jang et al., 2017). Estos elementos permiten el intercambio de material genético entre bacterias pertenecientes a diferentes linajes filogenéticos. La propagación de genes de resistencia mediada por integrones se ha investigado ampliamente en entornos clínicos, pero, actualmente se ha enfocado más al estudio de esta relación con el medio (Kotlarska et al., 2014; Jang et al., 2017). Es así como se ha reportado que, cepas de *E. coli* pueden ser resistentes a diferentes fármacos presentes en el medio ambiente, por lo que se presume que la resistencia ha sido adquirida por exposición a estos, lo que deriva en un mayor riesgo para la salud pública de la población adyacente (Jang et al., 2017).

La adquisición de nuevos genes que confieren resistencia a *E. coli* está mediada por mecanismos de transferencia horizontal de estos, en donde como resultado se presentan mutaciones genéticas que contribuyen sustancialmente a la diversidad fenotípica y genotípica de *E. coli* (Cooper y Lenski, 2000). Además de esto, es posible que muchos de los genes nuevos aparezcan en el genoma de *E. coli* de forma natural; existen muchos genes específicos que pueden aumentar el tamaño del genoma de *E. coli*; se ha reportado genomas de hasta a 18000 genes, lo cual

sugiere un gran impacto de la transferencia horizontal de genes en la plasticidad genotípica de este bioindicador fecal; sin embargo, algunas de estas cepas, una vez adaptadas al hospedero, pierden la capacidad de supervivencia en otros ambientes. Por otro lado, la población activa de bacterias fecales adaptadas a zonas costeras y a otros ambientes puede adquirir la resistencia a antibióticos desde otra bacteria fecal o un patógeno mediante este mismo tipo de transferencia horizontal de genes (Jang et al., 2017; Maloo et al., 2017).

Entre los cambios mutacionales que pueden ayudar al aumento de la plasticidad genotípica y fenotípica de *E. coli*, se ubica la habilidad de evolución para desarrollarse en el tracto intestinal de animales homeotermos, donde las fuentes de carbono son abundantes, la humedad es relativamente alta, y el pH y la temperatura son moderados. No obstante, muchas cepas de *E. coli* son resistentes en un pH bajo en el estómago animal, ya que, para llegar a su destino en la zona baja del intestino, deben atravesar el ambiente a los ácidos gástricos presentes en el estómago, con lo que se puede favorecer o limitar el crecimiento de las poblaciones de la bacteria, derivando en abundancia de grupos filogenéticos seleccionados de *E. coli* que serán dependientes de las condiciones intestinales del hospedero (Jang et al., 2017).

Con todo, la supervivencia y el desarrollo del *E. coli* en el medioambiente supone un problema a la salud pública cuando, además de ser cepas virulentas, contienen genes de resistencia a los antibióticos. De esta forma, proteínas como la intimina, codificada por el gen *eaeA*, es el factor de virulencia más importante para cepas de *E. coli* patógenas, dado que es responsable de la adhesión por fimbrias a las células intestinales y pueden así, causar enfermedades en los seres humanos (Jang et al., 2017). Cabe recordar que el gen *eaeA* está ubicado en una isla de patogenicidad, conocida como *locus de borramiento de enterocito (LEE)* que, además, se puede transferir horizontalmente (Hazen et al., 2013). La isla de patogenicidad *LEE* se distribuyó entre los diferentes grupos filogenéticos de *E. coli*; no obstante, no se ha incluido las cepas ambientales que han dado como positivas para la presencia de esta isla. Adicionalmente, los genes de resistencia a antibióticos pueden ser transferidos de forma horizontal entre cepas ambientales, lo que puede contribuir al aumento de la problemática de resistencia bacteriana para la salud pública (Jang et al., 2017).

Por otro lado, en un estudio realizado por Walk et al., (2009), se demostró que los clados ambientales de *E. coli* no contenían nuevos genes y que, entre los 27 genes del pangenoma de esta bacteria, tres estuvieron presentes en la mayoría de los aislados (*uidA*, *gadAB* y *fimH*). Adicional a ello, se detectó el intercambio genético de genes centrales, solo entre cepas del mismo tipo; es decir, solo dentro del clado ambiental o dentro del clado de *E. coli* entérica y no entre *E. coli* ambiental y entérica (Walk et al., 2009). Lo anterior puede significar que existen posibles barreras ecológicas para la transferencia de genes entre cepas de *E. coli* ambientales y entéricas; sin embargo, es necesario realizar más estudios con respecto al genoma de *E. coli* ambiental para corroborar esta hipótesis (Jang et al., 2017).

Por último, las bacterias pueden adquirir, además de resistencia a los antibióticos, resistencia metálica en respuesta a los metales pesados, mediante mecanismos de resistencia específicos. Estos mecanismos incluyen la precipitación de metales pesados como fosfatos, carbonatos y sulfuros, la volatilización de metales con la adición del grupo metilo o etilo, exclusión física mediante componentes electronegativos en sus membranas, sistemas de expulsión y eliminación de metales dependientes de energía y, secuestro intracelular con proteínas de bajo peso molecular que contienen cisteína. Estas estrategias pueden transferirse de forma horizontal entre la comunidad bacteriana, de igual manera que la resistencia a antibióticos, siempre y cuando las bacterias se encuentren en un ambiente contaminado por metales pesados (Bhardwaj et al., 2018).

2.5 Factores de virulencia de *E. coli* (Toxinas, sistema de secreción, resistencia a los antibióticos)

Los factores de virulencia son moléculas asociadas a bacterias que se requiere para que una bacteria cause una enfermedad mientras infecta a hospederos eucariotas como los humanos. Es así como las diferentes cepas de *E. coli* pueden presentar diferentes factores de virulencia; estos suelen estar directamente relacionados con la producción de infecciones graves. Algunos de estos factores incluyen adhesinas, proteínas de membrana, sistemas de secreción, biopelículas, capsulas, toxinas, islas de patogenicidad, entre otras, que pueden transferirse horizontalmente mediante elementos genéticos (Figura 2.3) (Quainoo et al., 2017; She-nouda et al., 2020).

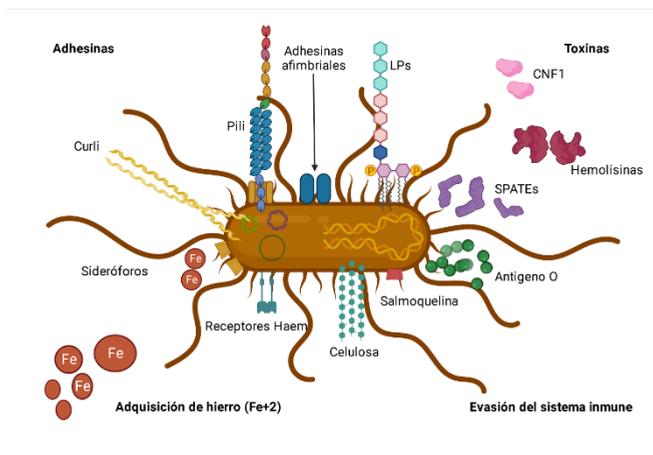


Figura 2.3 Factores de virulencia de uno de los patotipos de *Escherichia coli* más importantes a nivel epidemiológico- *E. coli* (UPEC)

En la figura 2.3 se aprecia los diferentes factores de virulencia que pueden estar en contacto con los patotipos patógenos de *E. coli*, en este caso uno de los más importantes a nivel epidemiológico, *E. coli* uropatógena (UPEC).

2.5.1 Adhesinas

El contacto entre la célula bacteriana y la célula hospedera es considerado como el proceso inicial de infección, ya que se establece un contacto directo entre las células. El proceso ocurre mediante diferentes estructuras, principalmente adhesinas, proteínas con capacidad de reconocimiento específico de la célula huésped, que pueden ser clasificadas como fimbriales o afimbriales (*Afa*). Dependiendo de su ubicación, la expresión de estas adhesinas aumenta significativamente la virulencia de las cepas de *E. coli*; pueden estar codificadas en su mayoría a nivel cromosomal y, en menor proporción, en elementos genéticos móviles como plásmidos (Costa et al., 2016; Gebisa et al., 2019; Sarowska et al., 2019).

Entre estas adhesinas se destacan las expresadas en *E. coli* uropatógena como las adhesinas S-fimbriales (*sfa*), F1C ('pseudotipo I') fimbrias (*foc*), codificación de pili de tipo P, *papC* e *Iha* (*iha*). Las adhesinas S-fimbriales pueden ser causantes de enfermedades como meningitis y sepsis, ya que estas se pueden unir a componentes de la matriz extracelular y a sialoglicoproteínas en las células endoteliales capilares del cerebro debido, dado que estas células presentan el receptor *IbeA*, que facilita

la interacción entre estas y *E. coli* patógenas. En cuanto a las adhesinas fimbriales de tipo 1 y 2, las de tipo 1 contienen residuos de manosa y las de tipo 2, manosa resistentes; las de tipo 1 pueden estar asociadas a la formación de biopelículas. Entre los genes involucrados encontramos en la codificación, las adhesinas fimbriales de tipo 1; se encuentran *fimB*, *fimE*, *fimF*, *fimG* y *fimH*; las fimbrias tipo 2 están codificadas por once genes del grupo *pap* que, en algunas fimbrias pueden presentar variantes que se relacionan con una infección específica (Miranda et al., 2017; Sarowska et al., 2019).

Existe otro tipo de adhesinas que expresan principalmente adhesinas afimbriales y pueden generar enfermedades como pielonefritis y cistitis, ocasionadas principalmente por *E. coli* uropatógena. Uno de los receptores de esta familia de proteínas se encuentra en la superficie de células de tejidos como el epitelio del tracto urinario o eritrocitos; es el factor de aceleración de deterioro (DAF) (Sarowska et al., 2019).

2.5.2 Cápsulas y biopelículas

Algunas cepas de *E. coli* presentan cápsulas que facilitan el proceso de infección, debido a que las protegen contra procesos de fagocitosis y acción bactericida del sistema inmune. Estas estructuras bacterianas también facilitan su colonización en las células del hospedero (Cáceres et al., 2019). Estas cepas de *E. coli* expresan el antígeno K1, que se ha implicado en el desarrollo de sepsis neonatal, que está codificado por los genes *neuC* y *kpsMTII* y generan la cápsula K1.

Por otro lado, la formación de biopelículas genera ventajas adaptativas a las cepas de *E. coli* capaces de desarrollarlas, principalmente porque protege a los microorganismos de sustancias dañinas como desinfectantes o antibióticos, facilita la transferencia de información genética e incrementa la disponibilidad y aprovechamiento de nutrientes y agua respectivamente, mejorando así su capacidad de supervivencia. También se ha reportado que las cepas que están asociadas a biopelículas pueden generar cambios en la expresión de factores de virulencia y proteínas reguladoras. Entre las proteínas implicadas en el proceso de formación de biopelículas en superficies orgánicas, se encuentran las de tipo curli (Cáceres et al., 2019; Gebisa et al., 2019; Sarowska et al., 2019).

2.5.3 Toxinas

Las toxinas desempeñan un papel importante en la colonización de *E. coli* en las células del hospedero. Para *E. coli*, las toxinas facilitan la diseminación bacteriana y la insensibilidad de los neutrófilos. Además de la obtención de nutrientes pueden aumentar la actividad citotóxica (Tabla 2.2) (Pasic et al; 2014; Sarowska et al., 2019).

Entre las toxinas más destacadas se ubica la enterotoxina 1, secretada por *E. coli* enteroagregativa. Esta toxina está codificada por el gen *astA* y altera el transporte de iones e induce el aumento de GMP cíclico y otros factores que, consecuentemente, llevarán a un cuadro diarreico. En *E. coli* enterotoxigénica, la principal fuente de virulencia son las enterotoxinas termoestables (ST) y termoestables (LT), también asociadas a la activación de GMP y AMP cíclico. LT es una toxina similar a la toxina del cólera; posee un peso molecular de 84 kDa; está constituida por la subunidad activa (A) y cinco subunidades B idénticas. La toxina ST es de bajo peso molecular y está constituida por 18 a 19 residuos de aminoácidos, de la cual se conocen dos variantes: STp y ST_h. Estas dos toxinas tienen la capacidad de fosforilar el canal regulador transmembranal de la fibrosis quística, ocasionando la salida de sales y agua de los eritrocitos al lumen, causando así una diarrea severa (Farfán-García et al., 2016).

Una de las toxinas de mayor importancia clínica corresponde a la toxina Shiga (Stx), la cual presenta dos subgrupos: *Stx1* y *Stx2*. Más adelante en el documento se describirá con más detalle su estructura, cuando se describa sobre la *E. coli* STEC. Esta familia de toxinas se encuentra asociada a casos de síndrome urémico hemolítico y puede causar daño letal a las células endoteliales de muchos tejidos, especialmente de riñón, cerebro y páncreas, llevando posteriormente a una isquemia distal en los afectados (Farfán-García et al., 2016 y Cavagnaro, 2019). Otra toxina relevante es la *sat* autotransportadora, serino-proteasa predominante en *E. coli* uropatógena, que afecta al riñón y vejiga, induciendo una vacuolización dentro de las células epiteliales de estos órganos (Costa et al., 2016; Millán et al., 2020).

La -hemolisina formadora de poros (HlyA) es, igualmente, otra de las toxinas importantes de *E. coli*. La HlyA es una clase única de toxinas formadora de poros que actúa en diferentes células como, glóbulos

rojos, fibroblastos, granulocitos, linfocitos y macrófagos, ocasionando la lisis de estas y así, la liberación de nutrientes y elementos como el hierro, que contribuyen al crecimiento de las cepas de *E. coli* (Gebisa et al., 2019). Por último, otra toxina relevante es el factor citotóxico necrotizante 1 (CNF1), producido por ciertas cepas de *E. coli*. Esta genera una activación constitutiva de las proteínas de la familia Rho, interruptores moleculares que adoptan diferentes estados conformacionales en respuesta a la unión de GDP o GTP, de manera que inducen cambios en reordenamientos del citoesqueleto de actina de la célula hospedera, lo que permite el ingreso de la bacteria al interior, desencadenando procesos apoptóticos en células del uroepitelio (Costa et al., 2016).

Tabla 2.2

Adhesinas y toxinas presentes en los diferentes patotipos de Escherichia coli intestinal y extraintestinal

Patotipo	Adhesinas	Toxinas
<i>Escherichia coli</i> patogénica intestinal		
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC)	Fimbria CF, fimbria K88, fimbria K99, fimbria 987P, fimbria F17	Toxina termoestable (ST) Toxina termolábil (LT)
<i>E. coli</i> enteropatogénica (EPEC)	Fimbria Bfp, intimina	
<i>E. coli</i> enteroinvasiva (EIEC)	Similar Shigella sp.	Similar a Shigella sp.
<i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC)	Intimina	Toxina (Stx) similar a Shigella, enterohemolisina (E-Hly)
<i>E. coli</i> enteroagregativa (EAEC)	Fimbria GVVPQ	(EAST) Toxina enteroagregativa estable al calor, enterotoxina
<i>E. coli</i> necrotóxica (NTEC)	Fimbria P	Factor necrotizante citotóxico (CNF)
<i>Escherichia coli</i> patogénica extraintestinal		
<i>E. coli</i> uropatogénica (UPEC)	Fimbria P, Fimbria S, adhesinas de las familias Alfa y Dr	Hemolisinas (Hly) Factor necrotizante citotóxico (CNF) Proteína específica uropatogénica (Usp)

<i>E. coli</i> asociada a sepsis y meningitis	Fimbria S, cápsula K1	Invasina (Ibe)
---	-----------------------	----------------

Fuente: Pasic et al. (2014)

2.5.4 Islas de patogenicidad

Las islas de patogenicidad (PAI) son elementos genéticos móviles que portan genes de virulencia y, en ocasiones, pueden portar uno o varios operones. Pueden presentar diferentes tamaños moleculares, entre 10 y 200 kb y, son altamente susceptibles a incorporar ADN exógeno. Algunas de las PAI pueden ser inestables y presentar altas tasas de pérdidas genéticas. En diferentes cepas de *E. coli* patógenas se ha identificado diferentes PAI, como los PAI I a IV, los cuales codifican para diferentes factores de virulencia relacionados con adhesinas (Fimbrias P, S), toxinas como la α -hemolisina y sideróforos (Gebisa et al., 2019).

Es así como se ha determinado PAI tipo I96, IJ96, ICFT073 y IICFT073 en cepas patógenas de *E. coli* extraintestinales, causantes de diferentes cuadros clínicos como la meningitis bacteriana neonatal. En *E. coli* uropatógena se ha encontrado islas tipo PAI-I y PAI-II que codifican para hemolisinas y fimbrias tipo PrF, proteínas que facilitan la adherencia y colonización, generando consecuentemente, infecciones del tracto urinario (Tabla 2.3). Por otra parte, en cepas de *E. coli* enteropatógena y enterohemorrágica se ha detectado islas del tipo PAI LEE implicadas en la habilidad que presentan las cepas para adherirse íntimamente a las células epiteliales, generando lesiones de adherencia, borrado y pérdida de microvellosidades (Farfán-García et al., 2016; Sarowska et al 2019).

Tabla 2.3

Factores de virulencia, prevalencia y potencial de transmisión de Escherichia coli extraintestinal aislada de diferentes fuentes: reportes recientes

Islas de patogenicidad o genes	Productos
Islas de patogenicidad	
IICFT073	Fimbria P, proteínas reguladoras de hierro
I536	α -Hemolisina, fimbria similar a F17, fimbria similar a CS12
II536	Adhesina Hek, fimbria relacionada a P, α -Hemolisina, hemaglutinina de adhesión

III536	Fimbria S, salmoquelina, receptor hemo HmuR, Toxina Sat, protease hemoglobina Tsh, antígeno 43
IV536	Sistema sideróforo Yersiniabactina
IIJ96	α -Hemolysina, fimbria Prs, factor necrotizante citotóxico
Genes asociados a virulencia	
maIX	Maltosa y componente IIa específico de glucosa de una fosfoenol piruvato dependiente de fosfato
usp	Bacteriocina putativa

Fuente: Sarowska et al. (2019)

2.5.5 Sideróforos

Los sideróforos microbianos son moléculas secretadas por microorganismos en condiciones de deficiencia de hierro que les permiten secuestrar el hierro de su entorno (Aguado-Santacruz et al., 2012). Existen diferentes tipos de sideróforos que contribuyen con la etapa infecciosa de *E. coli*, ya que facilitan la obtención de este elemento, esencial para el metabolismo bacteriano. Este elemento generalmente es escaso en los sitios de infección, por lo que se emplea los sideróforos, entre los que existen, los catecolatos, fenolatos, ácidos hidroxámicos, -hidroxycarboxilatos y un tipo mixto de diferentes sideróforos. Se destaca entre los sideróforos, la enterobactina y su receptor FebA, salmochelina e IroN, aerobactina y IutA, y yersiniabactina y FyuA (Sarowska et al., 2019).

2.5.6 Sistemas de secreción

Los sistemas de secreción son empleados por las bacterias para alterar las vías de señalización de las células del hospedero mediante la inyección de proteínas de virulencia. Existen diferentes sistemas de secreción entre los que encontramos, los de tipo I a V. Los sistemas de secreción tipo III (T3SS) son empleados por cepas de *E. coli* enteropatógena (EPEC) y enterohemorrágica (EHEC). Este sistema está codificado por los genes *espA*, B y D, que expresan proteínas estructurales del inyectosoma. *Tir* y otros genes codifican para los efectores segmentados tipo 3 y el gen *eae* (gen experimental de encefalomiелitis autoinmune), que expresa la adhesina de intimina (Gebisa et al., 2019).

Los sistemas de secreción I, III y IV pueden transportar proteínas en

uno o dos pasos; los de tipo III y IV transportan la proteína en un solo paso, desde el citoplasma bacteriano al citosol de la célula hospedera, a diferencia de los de tipo II y V, que lo hacen en dos pasos. En este sentido, la proteína se transporta desde el citoplasma bacteriano a un sistema Sec o Tat y, después, al citosol de la célula del hospedero (Gebisa et al., 2019).

2.5.7 Resistencia a antibióticos

La contaminación ambiental por el uso excesivo de antibióticos en humanos, animales y, específicamente, en la agricultura, puede incrementar la transferencia de genes de resistencia por vía horizontal (u otras vías), a bacterias comensales y patógenas humanas y así, generar la liberación de cepas resistentes a antibióticos en el medio ambiente (Rutgersson et al., 2014). Estudios han demostrado que la actividad humana está directamente relacionada con el aumento de la prevalencia de genes que confieren resistencia a los agentes antimicrobianos en el medio ambiente.

La introducción de agentes antimicrobianos o bacterias resistentes al medio ambiente se da a través del vertimiento de aguas residuales industriales y domésticas, desechos farmacéuticos, desechos hospitalarios y, en general, entornos contaminados, lo que provoca la contaminación de aguas superficiales, aguas subterráneas, ambientes marinos y costeros, generando una exposición de los reservorios de las bacterias patógenas, que puede conllevar la resistencia (Maloo et al., 2017; Hussain, 2019; Rayasam et al., 2019; Elmonir et al., 2020). En este sentido, la resistencia a los antibióticos en bacterias que hacen parte de la vida silvestre termina siendo fundamental para la salud pública, debido al potencial aumento de las enfermedades zoonóticas, la emergencia y, distribución de patógenos resistentes en los diferentes ecosistemas (Sarker et al., 2019).

Sobre el particular, *E. coli* ha cobrado importancia debido a que es una de las bacterias que ha adquirido resistencia a más de un tipo de antibiótico a la vez, fenómeno conocido como multirresistencia; por ende, ha tenido mayor impacto a nivel hospitalario. Esta bacteria presenta altos niveles de resistencia a antibióticos del tipo betalactámico, por lo que supone grandes complicaciones en los tratamientos con antibióticos cuando son requeridos. Adicionalmente, la aparición de cepas de *E. coli* asociadas con enzimas betalactamasas de espectro extendi-

do (BLEE), capaces de inactivar las oximinocefalosporinas (ceftriaxona, cefotaxima y ceftazidima) y el aztreonam, han generado un panorama alarmante, ya que el desarrollo y diseminación de estas BLEE ha disminuido la eficacia del tratamiento de algunas infecciones con estos antibióticos, como es el caso de las infecciones urinarias, especialmente en pacientes hospitalizados con sondas, por tiempo prolongado, tratados con múltiples antibióticos, en particular, con cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas (Sachdeva et al., 2017). El desarrollo de la resistencia se debe principalmente a la adquisición de diferentes mecanismos moleculares, procesos mediados por mutaciones a nivel cromosómico o transferencia horizontal de genes entre bacterias de estas o, de diferentes especies. Por tanto, con relación a esto, se ha descrito que *E. coli* presenta una amplia variedad de estos mecanismos, a través de los cuales logra sobrevivir en presencia de una amplia gama de antibióticos (Sachdeva et al., 2017).

La presencia de cepas patógenas de *E. coli* (bacteria comensal de animales de sangre caliente) en animales salvajes, representa un riesgo para la salud humana y de otros animales; no obstante, es significativo mencionar que la resistencia a los agentes antimicrobianos por parte de *E. coli* no está directamente relacionada con la exposición directa a tratamientos con antibióticos, sino que se debe a la contaminación procedente de diferentes afluentes acuáticos, procedentes de hospitales, aguas residuales e industriales (Sarker et al., 2019).

De modo general, las enterobacterias distribuidas a nivel mundial presentan alta resistencia a ampicilina (beta-lactámico), trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloranfenicol y ácido nalidíxico, por lo que se debe determinar la prevalencia de los diferentes genes relacionados con esta resistencia (Sachdeva et al., 2017). Es esencial destacar que, en la mayoría de los casos, para cada antibiótico se presenta un mecanismo de resistencia específico, por lo que es importante recalcar de forma específica cómo ocurren los mecanismos para cada familia de antibiótico. Entre los mecanismos moleculares de resistencia presentes en *E. coli* están los siguientes:

2.5.7.1 Mecanismos contra antibióticos betalactámicos

Uno de los mecanismos que ha sido reportado contra antibióticos betalactámicos incluye la actividad de enzimas hidrolíticas, denomina-

das betalactamasas. Estas enzimas actúan en el enlace amida del núcleo betalactámico, inhibiendo el efecto del antibiótico. Las betalactamasas pertenecen a una amplia familia de enzimas hidrolíticas, clasificadas dentro de grupos 1, 2 y 3, en donde se ha caracterizado cerca de 890. Las familias más comunes son: *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*OXA-1 y *bla*CARB. Respecto a cepas de *E. coli* se ha reportado la familia BLEE, de gran relevancia, denominadas *bla*CTX-M, las cuales son resistentes a cefalosporinas de tercera generación; igualmente, han sido descritas familias como *bla*GES, resistentes a ceftazidima; *bla*TEM y *bla*SHV resistentes a penicilinas y, por último, *bla*OXA-1, resistente a cloxacilina (Mosquito, et al., 2011; Sachdeva et al., 2017; Rada et al., 2019).

Recientemente, se ha centrado la atención en las BLEE de *E. coli*, ya que son enzimas capaces de hidrolizar las penicilinas, cefalosporinas (menos las cefamicinas) y las monobactamasas. Además, se encuentran distribuidas a nivel mundial, debido a que los genes *bla*_{BLEE} están presentes en elementos móviles como los plásmidos conjugativos, asociados directamente a integrones, responsables de facilitar su intercambio horizontal. Por lo tanto, es importante analizar la ubicación de los genes de resistencia en elementos móviles, con el fin de establecer una mejor previsión acerca de la expansión potencial de los mismos, no solo de forma clonal, sino también entre distintas especies y géneros (García-Hernández et al., 2011; Sachdeva et al., 2017; Rada et al., 2019).

2.5.7.2 Mecanismos contra quinolonas

Las quinolonas son antibióticos que actúan inhibiendo la acción de las topoisomerasas tipo II, como la DNA girasa y topoisomerasa IV de los microorganismos que son expuestos. La DNA girasa es una enzima compuesta por cuatro subunidades, dos de tipo A y dos de tipo B, codificadas por los genes *GyrA* y *GyrB*, respectivamente, y tienen la función de catalizar el superenrollamiento negativo del DNA. En cuanto a la topoisomerasa IV, es una enzima que presenta cuatro subunidades codificadas por *parC* y *parE*, homólogas a *GyrA* y *GyrB*, correspondientemente. Entre los mecanismos moleculares de resistencia se aprecia las alteraciones en los blancos de quinolonas, las bombas de expulsión activa y la transferencia de genes de resistencia plasmídicos (García-Hernández et al., 2011; Sachdeva, et al., 2017).

Por otra parte, reportes en cepas de *E. coli*, indican que la resistencia a fluoroquinolonas está ligada a mutaciones puntuales a nivel del gen *GyrA* y *parC*. No obstante, otro tipo de mecanismos de resistencia a quinolonas está relacionado con la transferencia de genes mediante plásmidos, como es el caso de los genes *Qnr* que codifican para la familia de las proteínas Qnr (*QnrA*, *QnrB*, *QnrS*, *QnrC* y *QnrD*) que se unen a la DNA girasa (*GyrA* y *GyrB*) y a la topoisomerasa IV (*parC* y *parE*), disminuyendo la acción de las quinolonas (García-Hernández et al., 2011; Sachdeva et al., 2017).

2.5.7.3 Mecanismos contra tetraciclinas

La actividad antibiótica de las tetraciclinas en enfoca en su unión al componente 16S de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, de modo que inhibe la síntesis de proteínas al evitar la unión del aminoacil-tRNA en la posición A del ribosoma. El mecanismo de resistencia bacteriano más común frente a este antibiótico ocurre mediante sistemas de eflujo, en bacterias Gram negativas. Estos sistemas son codificados por los genes *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetI* y *tetY*, todos ellos previamente descritos en *E. coli*; sin embargo, existen otros mecanismos codificados por diferentes genes, que le confieren resistencia a la bacteria, que incluyen protección ribosomal de estas y acción enzimática directa sobre las tetraciclinas (Ramos, 2016). Se ha reportado que los genes de resistencia presentes más frecuentes en las diferentes cepas de *E. coli*, corresponden a los genes *tetA* y *tetB* (Ramos, 2016).

Hölzel et al. (2010), identificaron que los aislados de *E. coli* obtenidos de diferentes sitios de muestreo son más sensibles cuando las concentraciones de oxitetraciclina (OTC) superan los 140 ml L⁻¹. Determinaron, además, que la tasa de supervivencia de *E. coli* disminuye con respecto al aumento de la concentración de OTC. Por otro lado, cuando las concentraciones de tetraciclina están sobre los 100 mg L⁻¹, los aislados de *E. coli* no presentan resistencia, lo que demuestra que los aislados bacterianos continúan siendo sensibles a las altas concentraciones de este antibiótico. Es preciso mencionar que, aunque los antimicrobianos provengan de la misma familia (CTC u OTC), las tasas de supervivencia de *E. coli* varían significativamente con respecto a la concentración del antibiótico (a mayor concentración - menor supervivencia) (Tai-Yi et al., 2018).

2.5.7.4 Mecanismos contra trimetropim – sulfametoxazol

Desde su descubrimiento, las sulfonamidas han sido extensamente empleadas en los ámbitos humano y animal, por lo que las bacterias han adquirido rápidamente alta resistencia antibiótica a este tipo de medicamentos. Por ello, para mejorar la eficacia de los tratamientos contra bacterias, se ha recurrido a utilizarlas de manera combinada con diaminopirimidinas. No obstante, la resistencia por parte de las bacterias se ha adquirido mediante elementos móviles por la adquisición de genes mutantes. Los genes implicados en la resistencia a las sulfonamidas son *sul1*, *sul2* y *sul3* relacionados con integrones y, en el caso del trimetropim, se ha descrito múltiples genes *dfr* relacionados con la resistencia antibiótica. Estudios previos realizados por De la Tabla et al. (2017) en Australia, indicaron que los genes más comunes asociados con la resistencia de cepas de *E. coli* a estos tipos de antibióticos son, *sul1*, *sul2* y *sul3*, y *dfrA1*, *dfrA5*, *dfrA7*, *dfrA12* y *dfrA17*, los cuales están relacionados principalmente con integrones tipo 1 y 2.

2.5.7.5 Mecanismos contra cloranfenicol

El cloranfenicol es un antibiótico que actúa inhibiendo la elongación de la cadena de péptidos durante el proceso de síntesis proteica, de modo que se unen de manera reversible al centro de la peptidiltransferasa del ribosoma bacteriano y así, afecta la supervivencia de estas. El mecanismo más frecuente para evadir dicho antibiótico se genera a través de la inactivación enzimática por acetilación del cloranfenicol, mediante los diferentes tipos de cloranfenicol acetiltransferasas (CAT). Adicionalmente, la resistencia al cloranfenicol puede estar mediada por sistemas de exportadores específicos para cloranfenicol y florfenicol (su derivado), relacionados con genes como *cmlA* y *floR* (Schwarz et al., 2004); en el caso de *E. coli*, se ha descrito el gen *floR* asociado principalmente a plásmidos (Mosquito et al., 2011).

Por otra parte, Sarker et al., (2019) determinaron que, de 32 aislamientos de *E. coli* de origen fecal, 90,63 % eran resistentes a ampicilina y sulfametoxazol, y 87,5 % resistentes a la tetraciclina y al ácido nalidíxico. Identificaron, además, que la resistencia a la eritromicina y al cloranfenicol fue de 56,25 y 53,13 % respectivamente, y que *E. coli* presentaba sensibilidad a la colistina, seguida de ceftriaxona y gentamicina (Sarker et al., 2019). Sin embargo, Tai-Yi et al. (2018), mencionan que, con

excepción de la ampicilina y la salinomicina, la tasa de supervivencia de *E. coli* disminuye conforme aumenta la concentración de antibióticos en el medio ambiente o en el medio donde esta bacteria se desarrolla y reproduce.

En los estudios realizados por Hölzel et al. (2010), se aisló *E. coli* de heces de cerdos y de aguas municipales residuales y, se halló que, aproximadamente 19 % de las cepas de *E. coli* de ambas fuentes son resistentes a ampicilina, lo cual puede indicar que la resistencia proviene de la exposición de estas a aguas residuales municipales o domésticas. Sin embargo, Yang et al., (2009) aislaron *E. coli* de muestras de agua municipal y determinaron que 94,1 % de los aislamientos, presentaron resistencia a ampicilina, con tasas de supervivencia a ampicilina superiores a 40 %, por lo que se presume que las áreas de muestreo se encuentran contaminadas con antibióticos por fuentes humanas o animales (Tai-Yi et al., 2018; Yang et al., 2009). Además, mediante la investigación en literatura, se concluyó que los aislados de *E. coli*, a partir de muestras de materia fecal de cerdo, tienen un grado significativamente más alto de resistencia a los antibióticos (Tai-Yi et al., 2018). Por otro lado, Tenailon et al. (2010), demostraron que los grupos filogenéticos específicos de *E. coli* exhiben diferentes niveles de resistencia a antibióticos, independientemente de la adquisición de resistencia, lo que proporciona la idea de que, el fondo genético de *E. coli*, también se ve implicado en el patrón de resistencia a los antibióticos.

Recientemente, se ha demostrado que la propagación de la resistencia a los antibióticos se debe principalmente a la presión selectiva dada sobre los microorganismos expuestos en los diferentes entornos ambientales. Por lo tanto, estos hallazgos no provocan mayor sorpresa, ya que la penicilina es el agente antibacteriano más utilizado entre la comunidad europea y en la mayoría de los países, para tratar la infección causada por múltiples microorganismos patógenos, incluido *E. coli*.

Es bien conocido que, la penicilina, antimicrobiano de amplio espectro, fue de los antibióticos más consumidos en Polonia (alrededor de cinco dosis diarias por habitante), en conjunto con inhibidores de β -lactamasa en 2010 (Kotlarska et al., 2014). No obstante, actualmente se usa con mayor frecuencia las fluoroquinolonas, en lugar de los antibióticos convencionales; así, la presión selectiva, junto con los mecanismos de

resistencia a antibióticos, probablemente haya acelerado la tasa de resistencia a penicilina y fluoroquinolonas entre los diferentes microorganismos patógenos (Gupta et al., 2005). En Europa, la resistencia a las fluoroquinolonas superó el 20 % en *E. coli* uropatógeno, reporte preocupante que ha sido igualmente informado en varios países del mundo (Gupta et al., 2005). Como ya se mencionó, los principales mecanismos de resistencia a los antibióticos están codificados por cromosomas; sin embargo, en otros casos la aparición de la resistencia puede estar mediada por plásmidos, lo que resulta en una amenaza más preocupante para la salud pública, debido a que la transmisión de estos genes ocurre más fácilmente cuando se encuentran haciendo parte de estas estructuras genéticas (Kotlarska et al., 2014).

Finalmente, es importante mencionar que, parte de la resistencia a los antibióticos adquirida por *E. coli* y otras bacterias, se debe al uso indiscriminado de antibióticos y falta de regulación en pruebas diagnósticas, ya que en muchos casos estos son entregados a pacientes asintomáticos o sin infecciones bacterianas, como medicamentos de barrera. Adicionalmente, existe evidencia de que los genes que confieren resistencia a los microorganismos patógenos de interés clínico se han propagado por medio de malas técnicas de agricultura y ganadería, donde los antibióticos han sido utilizados como un ingrediente fundamental en la alimentación de los animales que no presentan ningún estado de enfermedad; además, como componentes de los insecticidas para la lucha contra las plagas, sin ningún efecto sobre estas (Maloo et al., 2017).

En conclusión, el uso excesivo e incorrecto de los antibióticos con diferentes fines para los cuales no deben ser aplicados, provoca una mayor presión de selección en las poblaciones de los diferentes microorganismos patógenos. Este es el factor más importante en el desarrollo de resistencia en microorganismos patógenos, por lo que se requiere implementar sistemas más rigurosos de regulación, por medio de leyes políticas que contribuyan a disminuir estos riesgos, básicamente por la amenaza que representan para la sociedad (Maloo et al., 2017).

2.5.8 Mecanismos de acción / infección de las cepas patógenas de *E. coli* sobre las células de su hospedero

Los diferentes serotipos de *E. coli*, a su vez, presentan mecanismos de acción / infección característicos y propios. A continuación, se describe los mecanismos para cada serotipo de interés:

2.5.8.1 *E. coli* enteropatógena (EPEC)

Los mecanismos de infección de este serotipo patógeno se dividen en dos procesos; en el primer mecanismo ocurren tres eventos de forma simultánea:

Adherencia inicial al enterocito: *E. coli* entra en contacto con la célula mediante un flagelo y pili tipo IV (Girón et al., 2002). El pili es codificado por un total de 14 genes, regulados al mismo tiempo por el operon per19 y por una proteína *DsbA*, encargada de formar enlaces disulfuro para estabilizar la adherencia al enterocito. Es preciso mencionar que estos genes se localizan en el plásmido de virulencia *EAF21* (Farfán-García et al., 2016) (Figura 2.4).

Translocación de señales intracelulares: este proceso está mediado por el sistema de secreción tipo III (T3SS), en el cual diversas proteínas efectoras ingresan al enterocito (Daniell et al., 2001). Este sistema es también codificado en la isla de patogenicidad *LEE*, que se encuentra dividida en cinco operones policistrónicos (*LEE1* – *LEE5*). Se conoce que los tres primeros operones codifican los genes de las proteínas *Esc*; el operon *LEE4* codifica para las proteínas secretoras *Esp* (A, B y D) y algunas efectoras y, finalmente, el operon *LEE5* codifica para los genes *eae* para la adhesina bacteriana intimina (Gauthier et al., 2003).

Estas proteínas efectoras pueden producir daño celular mediante la formación de conductos, filamentos y/o poros, para la translocación de proteínas en la membrana del enterocito, de modo que se producen cambios en el potencial de membrana de la mitocondria y, también, una formación transitoria de filopodios, causando la reorganización y pérdida de la nucleolina, bloqueando así, el procesamiento del ARNr. Por último, pueden causar la alteración de los microtúbulos en algunas células epiteliales (Farfán-García et al., 2016).

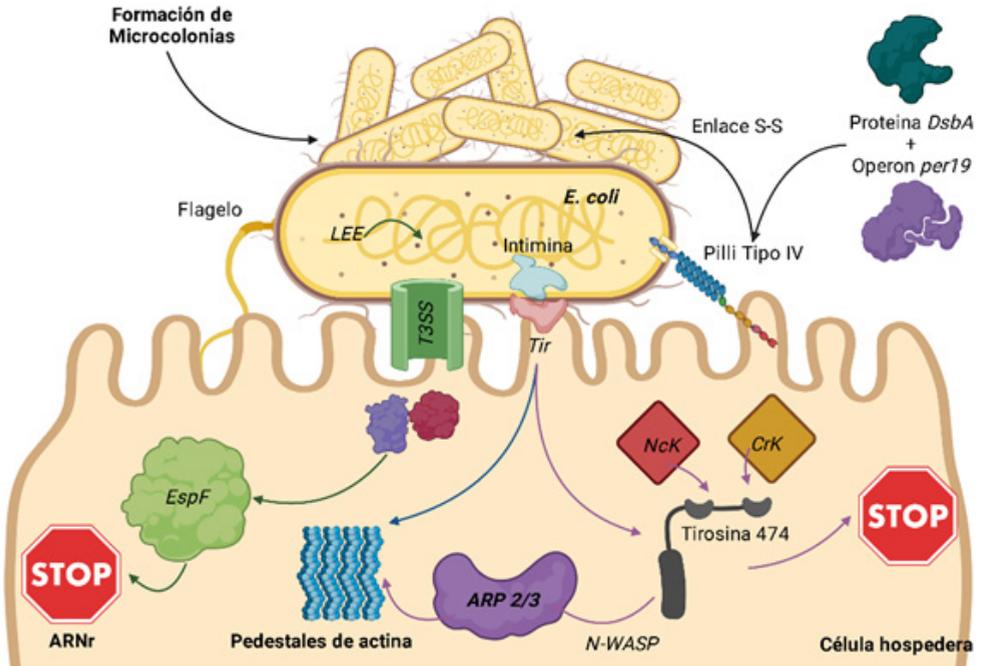


Figura 2.4 Mecanismo de infección y adherencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) al enterocito

La figura 2.4 permite observar la unión entre la intimina de la bacteria y el receptor *Tir* del enterocito, lo que posteriormente desencadena una serie de reacciones que llevan a la polimerización de la actina y ocasiona el daño a nivel celular; muestra, además, los diferentes efectores que hacen parte del proceso. *LEE* corresponde a las proteínas codificadas a partir de la isla de patogenicidad que codifica para T3SS y que facilitan el proceso infeccioso.

Adherencia íntima bacteriana: de forma simultánea a los dos procesos mencionados, la bacteria interactúa con el receptor de membrana *Tir* del enterocito, por medio de la intimina bacteriana, proteína responsable de la adherencia de esta a la célula y causante de la lesión intestinal (Ide et al., 2001). Una vez establecida la unión entre la bacteria y el enterocito, se procede a la transmisión de señales después de la interacción, lo que activa el segundo mecanismo de polimerización de la actina y la formación de pedestales (Farfán-García et al., 2016). Durante este proceso, se forman las cadenas de actina que alteran la morfología del citoesqueleto de las células hospederas, ocasionando el daño a las

microvellosidades y, como resultado, estas pierden su funcionalidad (Kenny, 1999). Posteriormente, se da una serie de reacciones enzimáticas en cascada, que inicia con la fosforilación del receptor *Tir* en el aminoácido tirosina 474, lo que le permite unirse a las proteínas adaptadoras de la célula hospedera (*Nck*) (Kenny, 1999). *Nck* activa *N-WASP* (*Wiskott Aldrich Syndrome protein Neural*) que, a su vez, activa el complejo *Arp2/3*, mediador de la polimerización de actina (Farfán-García et al., 2016). Con el avance en el proceso de polimerización, se debe dar una respuesta inhibitoria como defensa por parte de la célula. Este proceso es regulado en *E. coli* por *EspH* y por el complejo proteico *Tir-intimina* de manera independiente. Por último, el péptido efector de 99 a 100 aminoácidos conocido como *EspZ* de *E. coli*, se encarga de bloquear la translocación de proteínas, promoviendo un proceso de regulación de la infección (Farfán-García et al., 2016).

2.5.8.2 *E. coli* Shigatoxigénica (STEC)

Al igual que para la *EPEC*, el sistema es mediado por la intimina y el *T3SS*, pero incluye además la adherencia de *STEC* a la célula hospedera (enterocitos), de forma que, la unión de la intimina con el receptor *Tir* y la nucleolina, contribuyen a la fijación inicial de *STEC* a la célula, produciendo las lesiones A/E características de este patotipo patógeno y relacionados con la codificación de los genes que componen la isla de patogenicidad *LEE* (Farfán-García et al., 2016).

Por otra parte, las cepas *STEC*, de origen humano, animal o de alimentos, pueden producir una o más citotoxinas, que forman parte de la familia de las toxinas shiga (*Stxs*) (Villalobos et al., 2008), que incluye a los subgrupos *Stx1* y *Stx2*, los cuales son estructural e inmunológicamente diferentes; cada cepa puede presentar, al menos, una de las *Stxs*. La toxina *Stx2* es una proteína que se ha asociado a los casos de HUS de la familia AB₅; está compuesta por una subunidad A y cinco subunidades B idénticas, dispuestas en forma pentamérica (Figura 2.4A) (Farfán-García et al., 2016). El ingreso de la toxina a y su distribución hacia los diferentes órganos está mediada por tres mecanismos principales, los cuales se describe a continuación:

- **Macropinocitosis (MPC):** este mecanismo permite la entrada de *Stx* cuando el receptor de las membranas globotriaosilceramida

3 (*Gb3*) no es expresado por las células hospederas. Esto ocurre de forma independiente a la intimina y a *T3SS*, ya que es estimulada por la reorganización de la actina por la proteína P, secretada por *E. coli*, lo que le confiere la facultad de formación de micro-colonias y la adhesión a las células epiteliales del colon *T8451* (Figura 2.5A) (Puttamreddy et al., 2010).

- **Transcitosis:** mediante vesículas, las toxinas pasan de un tejido hacia otro, se ha informado que la *MPC* puede facilitar la propagación sistemática de toxinas hacia células endoteliales. Es preciso mencionar que este mecanismo aún se encuentra en estudio, ya que no está totalmente dilucidado (Farfán-García et al., 2016) (Figura 2.5A).
- **Endocitosis:** una vez se une la subunidad B de la toxina al receptor *Gb3* mediante la invaginación de la membrana, la toxina es introducida al citoplasma. Adicionalmente, el fragmento A1 de la subunidad A ejerce su actividad enzimática sobre el ARNr 28S e inhibe la síntesis proteica, lo que conduce a la muerte celular (Farfán-García et al., 2016) (Figura 2.5B).

Por otra parte, el plásmido *p0157* de STEC codifica genes para catalasa-peroxidasa (*katP*), adhesina *ToxB57*, metaloproteasa dependiente de zinc (*StcE*) y enterohemolisina (*Ehx*), cuyas funciones están principalmente enfocadas a la unión celular, degradación de mucinas y glicoproteínas, regulación de mecanismos de inflamación y citotoxicidad, mecanismos de gran importancia en el reconocimiento inicial de interacción entre la bacteria y el hospedero (Farfán-García et al., 2016).

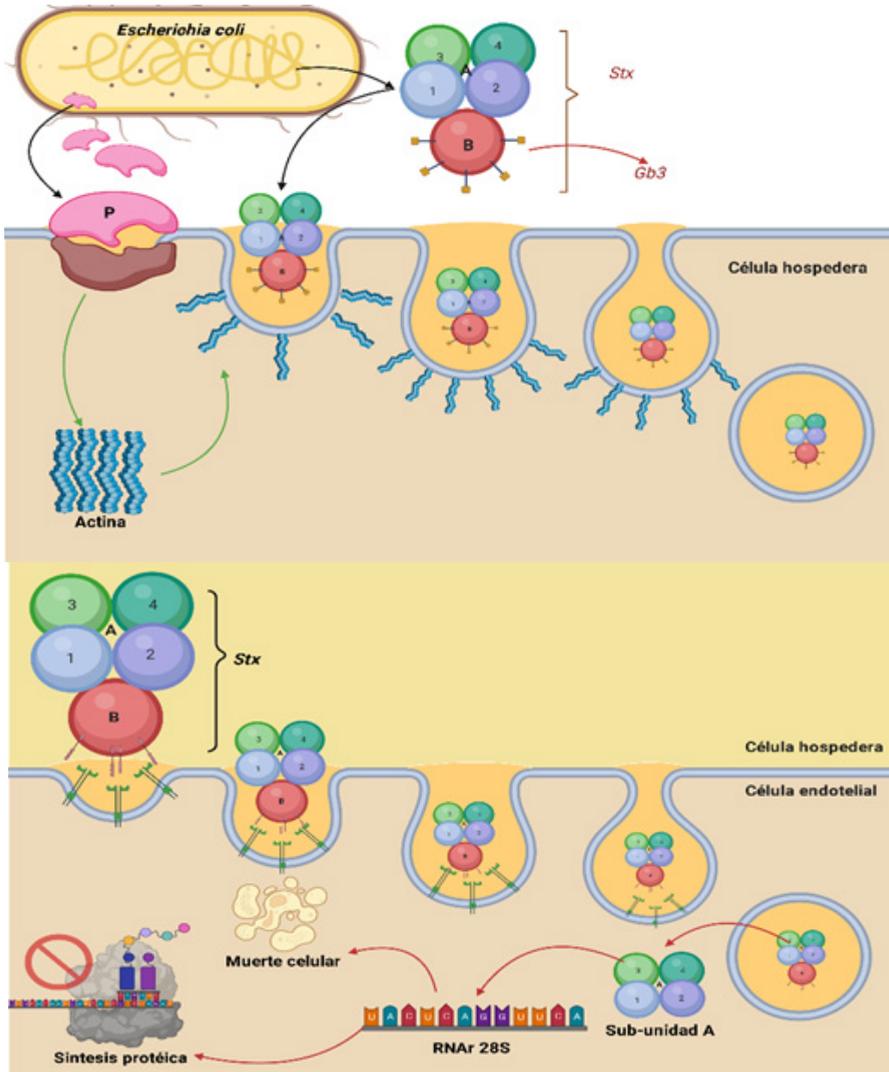


Figura 2.5 (A-B) Proceso de infección de *Escherichia coli* Shigatoxigénica (STEC) e ingreso de la Stx al interior de la célula. A) Corresponde a la MPC y la Transcitosis. B) Endocitosis

2.5.8.3 *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)

- **Adherencia:** la adherencia en la ETEC involucra procesos asociados a movilidad y autoagregación bacteriana, encargados de facilitar la adhesión de las bacterias a los receptores de las células epiteliales del intestino delgado, lo cual permite su colonización (Mazariego-Espinosa et al., 2010). Durante el proceso de adheren-

cia del patotipo ETEC a las células epiteliales, la bacteria expresa la exoproteína *EtpA*, que permite la adhesión a las células hospederas que se encuentran situadas en el extremo del flagelo. Otro factor importante que participa en la adhesión de estas bacterias es el *Longus type IV pilus*, el cual actúa interviniendo la autoagregación de la bacteria (Figura 2.5) (Farfán-García et al., 2016).

- **Toxinas:** la principal fuente de virulencia del patotipo ETEC es la secreción de enterotoxinas termoestables (ST) y termolábiles (LT). Es preciso mencionar que existen dos tipos de LT: LT-I y LT-II. Las LT-I se asocian directamente con las cepas humanas; además, cada una de las toxinas se divide en subunidades A y B (Clements et al., 2012). Por otro lado, la subunidad LT-A1 presente en el citosol se une mediante la ribosilación del ADP a los nucleótidos de guanina, lo que inhibe la actividad de GTPasa y activa la adenilatociclasa (Spangler, 1992) (Figura 2.6).

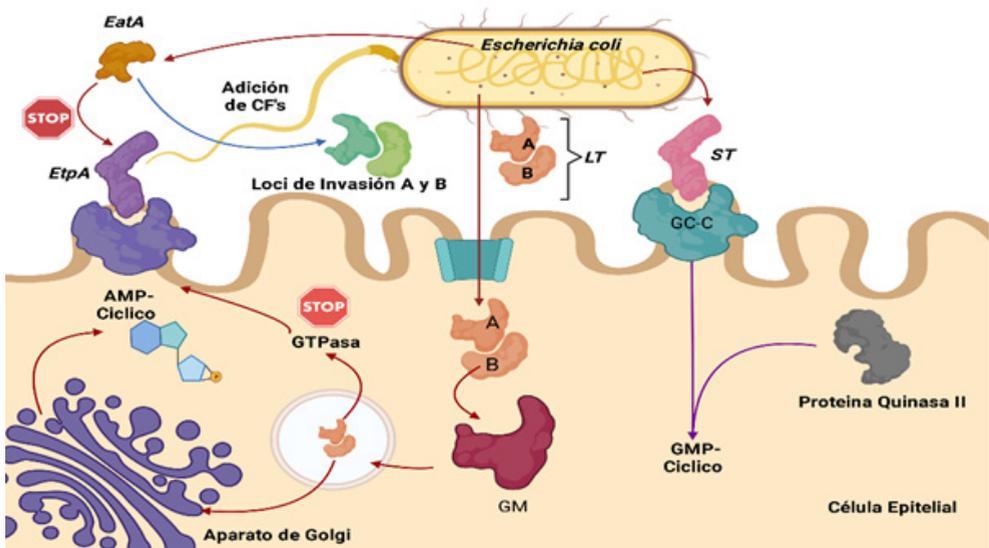


Figura 2.6 Proceso de infección de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)

Nota: LT enterotoxinas termolábiles, RE-RETÍCULO endoplásmico, ST enterotoxinas termoestables.

Las anteriores reacciones producen un aumento en la producción de AMP cíclico, estimulando la secreción de cloruro a través del canal regulador transmembranal de la fibrosis quística, provocando diarrea se-

cretora (Farfán-García et al., 2016). Por otra parte, en las ST, la adhesión está determinada por la guanilato-ciclase-C (GC-C), la cual produce un aumento del GMP cíclico dependiente de la proteína quinasa II, causando el mismo efecto descrito para LT. Adicional a esto, las ST tienen la capacidad de controlar la proliferación celular (Sato y Shimonishi, 2004).

2.5.8.4 *E. coli* enteroagregativa (EAEC)

- **Adherencia:** durante la adhesión de este patotipo de *E. coli* se exhibe la formación de microcolonias y un patrón de adherencia-agregativa (AA) a las células epiteliales Hep-2 y HeLa, proceso descrito como ‘apilación de ladrillos’, por Hicks et al. (1998). Las cepas de EAEC presentan plásmidos *pAA* que codifican varios factores de virulencia, entre los cuales se encuentra un regulador *AggR* (activador transcripcional) (Farfán-García et al., 2016). Algunos genes regulados por *AggR* son factores necesarios para la expresión del patrón AA, implicando de esta forma, fimbrias AAF con variantes I, II, III y IV codificadas por los genes *aggA*, *aafA*, *agg3A* y *agg4A* (Nataro et al., 1992).

Sin embargo, se ha relacionado la formación de microcolonias con otros genes regulados por *AggR*, entre los que se halla una proteína *Irp-2*, involucrada en la expresión de yersiniabactin (enterotoxina de *Shigella*) y dos proteínas *Fis* y *Yafk*, junto con un sistema de secreción tipo VI (Farfán-García et al., 2016). Por otra parte, en la adhesión se involucran proteínas de membrana externas como *Hra-1*, que tiene actividad aglutinina y adhesina, *Hra-2* con actividad de adhesina y *Tia* con actividad invasora y adhesina (Mancini et al., 2011). En la colonización bacteriana también participa un complejo denominado *Aat*, importante para el transporte de una despersina (Figura 2.7) (Farfán-García et al., 2016).

- **Toxinas:** las cepas de EAEC presentan enterotoxinas como la enterotoxina 1 (EAST1), la cual está codificada por el gen *astA* que se encarga de alterar el transporte de los iones e induce el aumento del GMP cíclico y una variedad de mecanismos citotóxicos y no citotóxicos (Dautin, 2010). Dentro de estos está la proteasa involucrada directamente con la colonización intestinal (Pic) y la toxina codificada en plásmidos (Pet) (Farfán-García et al., 2016). Inicialmente, Pic (no citotóxica) es una proteasa que incrementa el número de células calciformes y la producción de moco, el cual atrapa a las bacterias

aglutinándolas en el epitelio intestinal (Farfán-García et al., 2016); además, es responsable de la actividad mucinolítica que abre paso a las bacterias a través de la capa de moco (Navarro-García et al., 2010). En segundo lugar, Pet (citotóxica) se une a la espectrina en la membrana del complejo de Golgi, bloqueando su función y causando el redondeamiento de la célula (Farfán-García et al., 2016).

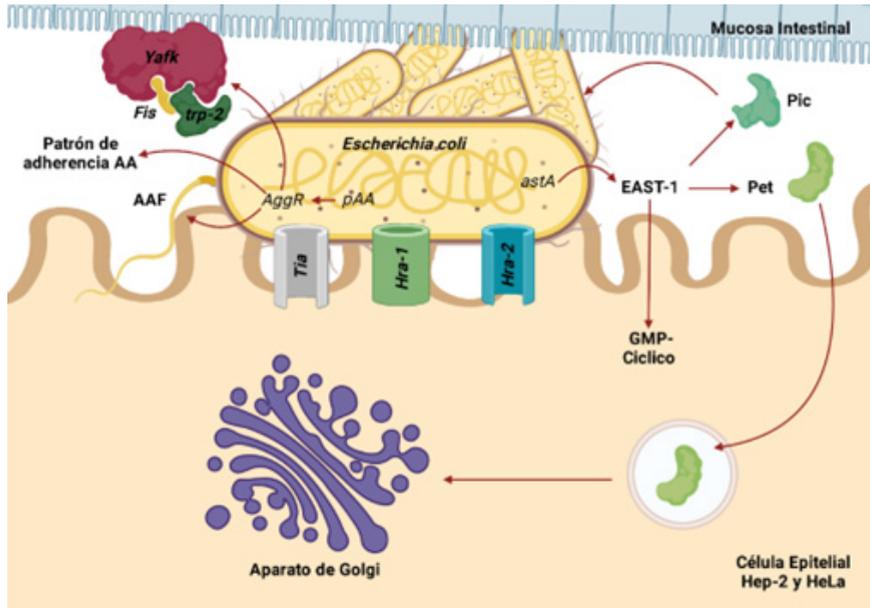


Figura 2.7 Proceso de infección de *Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC)

En la Figura 2.7 se describe el proceso de infección de *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC) sobre células epiteliales.

2.5.8.5 *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)

Las cepas de EIEC evaden la respuesta inmune del organismo infectado, ya que pueden entrar fácilmente a las células epiteliales del colon por medio de adhesinas, moviéndose lentamente para lograr invadir y colonizar otras células (Cossart y Sansonetti, 2008). Esta cepa patógena de *E. coli* posee, al igual que *Shigella spp*, un plásmido de virulencia *pINV* que codifica para el T3SS, 25 proteínas (*OscpB*, *VirA*, *OspG*) y antígenos de invasión de plásmidos (*Ipa-A*, *Ipa-B*, *Ipa-C*, *Ipa-D*), entre otros (Farfán-García et al., 2016). Inicialmente, EIEC invade las células M y, mediante fagocitosis, la bacteria atraviesa la barrera epitelial e invade

los macrófagos. Una vez dentro, la proteína *Ipa-B* se encarga de lisar la vacuola en el citoplasma e induce a la apoptosis para, finalmente, ser liberada y alcanzar el polo basolateral (Farfán-García et al., 2016). Posteriormente, la bacteria puede ingresar a las células intestinales mediante el reconocimiento por los receptores CD44 y $\alpha 5\beta 1$ integrina, con ayuda de *Ipa-B* y el complejo *Ipa-B-CD* bacteriano. Se multiplica en el citoplasma y luego se libera del fagosoma mediante *Ipg-D* y se desplaza lateralmente entre una y otra célula; para ello, *Vir-G* promueve la aproximación de N-WASP y por medio de la polimerización de actina, se forma el complejo *Vri-G-N-WASP-actina* (Egile et al., 1999). Por otro lado, *Vir-A* favorece la generación de protuberancias que permiten el traspaso a las células proximales y, durante este proceso, la liberación de *IL-1* por parte de macrófagos y de *IL-8* en los enterocitos infectados, promueven la migración de polimorfonucleares que facilitan la entrada de la bacteria al epitelio (Farfán-García et al., 2016) (Figura 2.8).

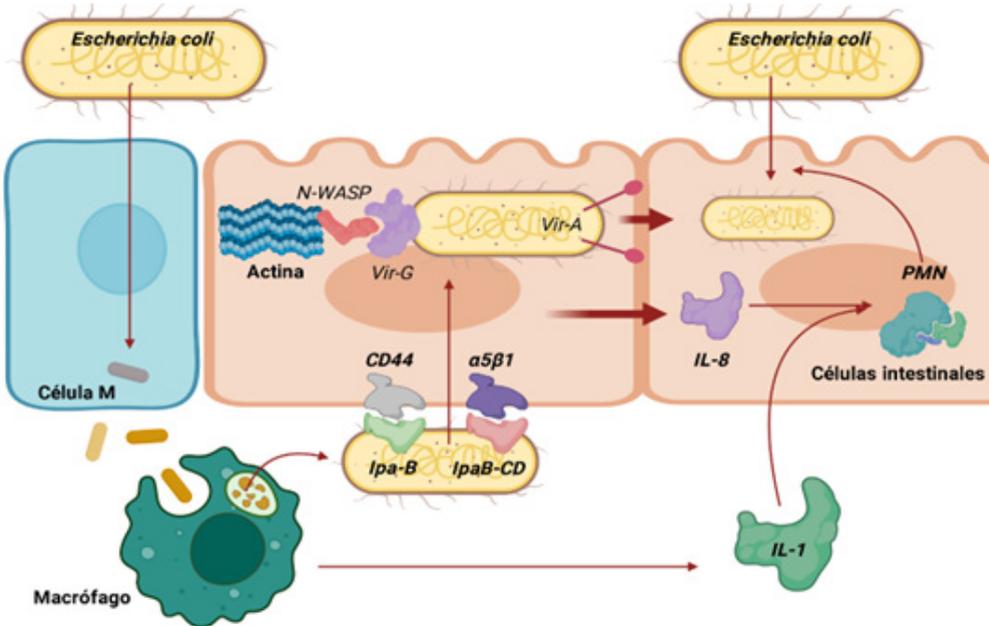


Figura 2.8 Proceso de infección de *Escherichia coli* Enteroinvasiva (EIEC)

Nota: PMN se refiere a proteínas polimorfonucleares.

2.6 *Escherichia coli* como un problema de salud global

Los cuerpos de agua contaminados sirven como hábitats de bacterias patógenas como las coliformes, principales responsables del brote de enfermedades diarreicas y gastrointestinales si se consume productos contaminados con las mismas (Kolawole y Adeyemi, 2020). Por otro lado, la falta de información sobre las diferentes fuentes de contaminación dificulta la identificación de las fuentes de deterioro de un ecosistema acuático específico, además de la evaluación de los verdaderos riesgos para la salud humana, por lo que se requiere aumento de controles y estudios para su vigilancia epidemiológica (Liu et al., 2017).

Es relevante resaltar que, el agua es un recurso finito, necesario para mantener vida en el planeta, e indispensable para la supervivencia de todos los seres vivos; por tanto, puede proporcionar una vía para el transporte de diversos agentes patógenos cuando se encuentra contaminada, tornándose en uno de los principales problemas en salud pública (Uprety et al., 2020), especialmente en los países en vías de desarrollo, donde más de 2,2 millones de personas mueren al año por el consumo de agua contaminada o por deficiencias en el tratamiento de este recurso. Sin embargo, este problema se ha incrementado considerablemente en los países desarrollados en los últimos años, entre otras cosas, por la resistencia adquirida por los microorganismos a los antimicrobianos.

De acuerdo con Uprety et al. (2020), factores como el manejo inadecuado de los desechos humanos, superficies impermeables, sistemas combinados de aguas residuales y pluviales y una infraestructura obsoleta o defectuosa de vertimiento de desechos, en donde se puede producir fugas en el alcantarillado, defectos en la construcción de fosas sépticas y uso de letrinas en campos abiertos, contribuyen con el aumento de la mala calidad del agua en cuencas urbanas y pueden causar aproximadamente un 80 % de las enfermedades relacionadas con bacterias patógenas en países en vías de desarrollo (Robert-Pullés, 2014; Bowen, 2016; Malla et al., 2018; Bakht et al., 2019; Tessema et al., 2019; Kolawole y Adeyemi, 2020). Debido a lo anterior, el alto riesgo de infección y posterior desarrollo de enfermedades diarreicas se produce, principalmente, al beber agua subterránea contaminada con enteropatógenos provenientes de heces de humanos y animales, además del

consumo de verduras irrigadas y/o lavadas con aguas contaminadas (Malla et al., 2018).

Es preciso mencionar que, el uso del agua subterránea como fuente de agua potable, debe estar libre de parámetros que puedan afectar la salud humana, definida por los estándares de calidad de agua potable donde, según los reglamentos de los ministerios de salud de cada país, la cantidad de bacterias coliformes termotolerantes y *E. coli* debe ser de 0 UFC/ml en las vertientes acuáticas (Dayanti et al., 2018).

El agua potable, definida por la OMS (2017) y Jang et al. (2017) como el agua adecuada para el consumo humano y uso doméstico, es el agua libre de microorganismos patógenos causales de enfermedades, que pueden afectar a la salud pública. Sin embargo, es preciso mencionar que las aguas superficiales están expuestas a varios factores que pueden influir negativamente en la calidad del agua y afectarla así, en diferentes niveles de intensidad, de suerte que, este recurso puede actuar como vehículo de transmisión de los contaminantes que, por diferentes razones han sido arrojados a la atmósfera, la corteza terrestre, y/o directamente al vertimiento de agua residual, cuando ya contiene a los microorganismos patógenos de origen gastrointestinal (Jang et al., 2017). La principal fuente de contaminación del agua por microorganismos tiene origen en la contaminación con materia fecal, dada por infiltraciones en el suelo y facilitada por la presencia de sedimentos en el fondo de las tuberías, de modo que se favorece la proliferación de microorganismos (Malla et al., 2018). Con base en esto, los investigadores han determinado diversos aspectos ambientales que contribuyen con el desarrollo de los coliformes termotolerantes, tales como las fuentes potenciales de brotes de enfermedades, además de los factores necesarios para la supervivencia de estas bacterias en el ambiente (Bowen, 2016). Entre estos se ubica la importancia de la temporada de lluvias, el papel de los sedimentos que actúan como sustratos para el transporte y desarrollo, por ser fuentes de nutrientes para estos microorganismos que, finalmente, van a tener implicaciones importantes relacionadas con la salud pública (Bowen, 2016).

La presencia de coliformes termotolerantes como *E. coli* en cuerpos de agua puede significar la presencia de una reciente contaminación a través de fuentes de agua residual o desechos de animales homeotermos (Fia-

llos et al., 2018; Ngong et al., 2019). De esta forma, su presencia en el agua subterránea y superficial está relacionada con una entrada constante de contaminantes al sistema hídrico; en pocas palabras, funcionan como bioindicadores de la contaminación fecal (Souid et al., 2017). En el estudio de Dayanti et al. (2018), fueron utilizadas bacterias coliformes termotolerantes para evaluar la calidad microbiológica del agua, encontrando que la presencia de estas, específicamente de *E. coli*, produjo la contaminación de agua recientemente. Por otro lado, como se ha venido mencionando, una de las graves preocupaciones con respecto a la constante presencia de estos microorganismos patógenos en los ambientes acuáticos es su exposición a los antibióticos, que conlleva el posible desarrollo de resistencia o tolerancia hacia estos agentes, motivo por el cual, diferentes estudios se han centrado en identificar bacterias que presentan resistencia a ampicilina y/o, en casos más severos, a metales pesados, relacionada con una continua descarga de estos al medio ambiente, por lo que otro uso importante de estas bacterias es que también pueden servir como bioindicadores de contaminación por metales pesados, factor muy importante para llevar a cabo procesos de biorremediación para la descontaminación de estos (Bhardwaj et al., 2018).

Los bioindicadores permiten caracterizar la salud de un ecosistema, dependiendo de su estado. Estos organismos son muy sensibles a la contaminación ambiental y, por lo tanto, al cambio en la estructura ecosistémica, ya que responden a la contaminación ambiental por medio de diferentes cambios adaptativos, de modo que su función, su población, comportamiento, morfología o fisiología puede variar en respuesta a estos. Así, estas características pueden ser aprovechadas para el monitoreo ambiental de diferentes zonas geográficas (Bakht et al., 2019; Hussain et al., 2019). Asimismo, *E. coli* y enterococos entéricos han sido utilizados ampliamente y durante mucho tiempo como bioindicadores para controlar, estudiar y establecer la contaminación fecal en el medio ambiente (Yazdanbakhsh et al., 2019). Diversas investigaciones sugieren que, la recarga continua de aguas residuales ha sido la principal causa de contaminación microbiológica; adicional a ello, los datos de análisis hidroquímicos e isotópicos podrían ser usados como indicadores de la presencia o ausencia de contaminación fecal en cualquiera de las áreas de interés en los estudios (Yazdanbakhsh et al., 2019).

Complementariamente, otro estudio realizado por Ávila et al. (2018) demostró que, en el agua dulce, los microorganismos indicadores que se relacionaban mejor con el detrimento de la salud en la población humana expuesta correspondían a cepas de *E. coli*, por lo que se catalogó la presencia de esta bacteria en aguas recreativas, como un indicador directo de la presencia de microorganismos patógenos. Conjuntamente, estudios epidemiológicos realizados en 1980, demostraron que los altos niveles de *E. coli* en aguas recreativas, debido a las descargas de fuentes de contaminación, se relacionaban directamente con la incidencia de enfermedades gastrointestinales (Jang et al., 2017).

Así, se conoce que las cepas patógenas de *E. coli* están implicadas en muchos brotes de enfermedades transmitidos por el agua; específicamente, se ha informado que las cepas de STEC y EPEC han sido las principales responsables de diferentes brotes de infección que han hecho presencia en todo el mundo (Wang et al., 2021). Aunque han sido caracterizadas claramente las fuentes de contaminación por parte de *E. coli* patógena, los estudios clínicos sobre las cepas patógenas de *E. coli* (patogénesis, diagnóstico y tratamiento) con respecto a su prevalencia en el medio ambiente, son aún imprecisos, por lo que se requiere ahondar aún más en esta temática (Wang et al., 2021).

Finalmente, en el trabajo de Maloo et al. (2017), se aisló *E. coli* consistentemente de la totalidad de los diferentes sitios de muestreo, correspondientes a aguas recreativas en un parque de Mumbai, y se determinó que existía diferencia en la abundancia total de esta entre los sitios estudiados, de modo que se demostró que las bacterias indicadoras de contaminación fecal son frecuentes en aguas marinas afectadas por la descarga de aguas residuales sin un tratamiento previo; dichos patógenos intestinales pueden causar una amplia gama de infecciones que van desde asintomáticas hasta severas infecciones gastrointestinales, respiratorias, oculares, nasales, auditivas y/o cutáneas en personas que han estado en contacto directo con el agua, bien sea con fines recreativos o con agua de uso doméstico contaminada, dependiendo de sus características propias de inmunidad. Se demostró, además, que estas cepas patógenas mostraban resistencia a múltiples medicamentos, por lo que se incrementó la capacidad de infección de la bacteria, afectando principalmente el tratamiento de la infección (costo y la duración). Por tanto, es importante evaluar y caracterizar la contaminación fecal en

todas las fuentes de agua con las que puede haber contacto humano o animal; estas incluyen aguas recreativas, aguas de uso doméstico y aguas de agricultura, para evitar de esta manera, la infección por parte de microorganismos patógenos que suponen un problema de gran magnitud para la salud pública de la población (Maloo et al., 2017).

2.7 Conclusiones del capítulo

- La presencia de *E. coli* indica contaminación fecal en agua, ya que este microorganismo es habitante normal del tracto digestivo de animales de sangre caliente y, rara vez, se encuentra en agua o suelo que no haya sufrido algún tipo de contaminación fecal; por ello se considera como indicador universal.
- *E. coli*, por ser uno de los principales microorganismos vinculados a enfermedades diarreicas infecciosas, es de atención en salud pública, razón por la cual varios estudios se enfocan en dilucidar los procesos biológicos y moleculares que median su infección, incluyendo la detección de genes que están asociados a genes de virulencia e islas de patogenicidad. Muchos mecanismos de transferencia genética y complejidad de los procesos moleculares asociados a su patogenicidad aún no han sido esclarecidos totalmente; *E. coli* es versátil y puede desarrollar mecanismos diversos de sobrevivencia según el medio donde se encuentren.
- La patogenicidad de *E. coli* va a depender de la adquisición de mecanismos de virulencia específicos, que les confieren capacidad para producir toxinas, expresar moléculas para la adhesión celular, capacidad de invasión de tejidos, resistencia al sistema inmune, etc.
- De los ocho patotipos de *E. coli* hasta ahora descritos, se destaca el serotipo enterohemorrágico (EHEC/STEC), que provoca síntomas que van desde diarreas suaves a colitis hemorrágicas. En casi el 10 % de los pacientes (sobre todo, grupos de riesgos como niños y ancianos), la infección puede convertirse en una enfermedad de alto riesgo, conocida como el síndrome hemolítico urémico (SHU), relacionado con la expresión de citotoxinas, conocidas como verotoxinas (VT) o shigatoxinas (Stx).

- A pesar de las escasas normativas existentes en Colombia, se requiere el establecimiento de directrices microbiológicas y planes de control, con el objetivo de reducir la contaminación fecal en los cuerpos hídricos.

Referencias

- Aboushi, A., Hamdan, M., Abdelhafez, E., Turk, E., Ibbini, J., & Nabeel, A. S. (2021). Water disinfection by solar energy. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and environmental effects*, 43(17), 2088-2098. [10.1080/15567036.2019.1666182](https://doi.org/10.1080/15567036.2019.1666182)
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E. y Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21. <https://doi.org/10.35196/rfm.2012.1.9>
- Áliva-Torres, G. (2017). Detección y cuantificación de coliformes, colifagos y adenovirus en el sistema acuífero del norte del estado de Quintana Roo. *Centro de Investigación Científica de Yucatán*, 1-142.
- Akin, B. S. (2016). Contaminant properties of Hospital Clinical Laboratory wastewater: a physicochemical and microbiological assessment. *Journal of Environmental Protection*, 7(5), 635-642.
- Alkan, U. (1999). The fate of enteric bacteria in relation to suspended particles in seawater. *Journal of the Chartered Institution of Water and Environmental Management*, 13(1), 16-23. <https://doi.org/10.1111/j.1747-6593.1999.tb01000.x>
- Al Terehi, M. N., Hasan, R. N., & Al-qaim, Z. (2019). Genotypes of several *Escherichia coli* isolates for pollution evaluation. *Biochemical and Cellular Archives*, 19(1), 2481-2487.
- Andrade, G. F. y Bomfim, D. (2019). Bioindicadores microbiológicos para indicación de contaminación fecal. *Revista Electrónica Acervo Saúde*, 1-7.
- Ávila, R., Horn, B., Moriarty, E., Hodson, R., & Moltchanova, E. (2018). Evaluating statistical model performance in water quality prediction. *Journal of Environmental Management*, 206, 910-919. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.049>
- Bakht, S., Khair, K.-u., Ayesha, M., Azhar, W., Jamroz, W., Mushtaq, Z., Khan, M. A. (2019). Genetically enhanced microbial bioindicators for environmental monitoring: A review. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 9(1), 1-5.
- Bamidele, O., Jiang, Z. D., & Dupont, H. (2019). Occurrence of putative virulence-related genes, *aatA*, *aggR* and *aaiC*, of Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) among adults with travelers' diarrhea acquired in Guatemala and Mexico. *Microbial pathogenesis*, 128, 97-99. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.12.030>
- Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
- Benvenuto-Vargas, V. (2017). *Determinación de Escherichia coli enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde* [Tesis Doctoral, Universidad Ricardo Palma]. <http://repositorio.urp.edu.pe/handle/urp/1016>.

- Bhardwaj, R., Gupta, A., & Garg, J. K. (2018). Impact of heavy metals on the inhibitory concentration of *Escherichia coli* - A case study of river Yamuna system, Delhi, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(11), 674. [10.1007/s10661-018-7061-0](https://doi.org/10.1007/s10661-018-7061-0).
- Bong, C. W., Chai, S. K., Chai, L. C., Wang, A. J., & Lee, C. W. (2020). Prevalence and characterization of *Escherichia coli* in the Kelantan River and its adjacent coastal waters. *Water Supply*, 20(3), 930-942. <https://doi.org/10.2166/ws.2020.018>
- Books, Y., Aslan, A., Tamrakar, S., Murali, B., Mitchell, J., & Rose, J. B. (2015). Analysis of the persistence of enteric markers in sewage polluted water on a solid matrix and liquid suspension. *Water Research*, 76(1), 201-212. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.039>
- Bowen, K. K. (2016). Detection of fecal contamination using molecular methods. <https://digitalcommons.augustana.edu/umcindependent/2/>
- Bushon, R. N., Grady, A., Christensen, E. D., & Stelzer, E. A. (2017). Multi-year microbial source tracking study characterizing fecal contamination in an urban watershed. *Water Environment Research*, 89(2), 127-143. <https://doi.org/10.2175/106143016X14798353399412>
- Cáceres, M. E., Etcheverría, A. I. y Padola, N. L. (2019). Efectos del medio de cultivo y de la metodología aplicada sobre la formación de biopelículas de 2 cepas de *Escherichia coli* diarreagénicas. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(3), 208-213. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.04.007>
- Carbajal-Rios, J. C. (2018). *Detección molecular de factores de virulencia y diversidad genética de Escherichia coli aislada de concha de abanico (Argopecten purpuratus) procedentes del departamento de Ancash- Perú* [Tesis de Pregrado, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/3863?locale-attribute=en>
- Cavagnaro, F. (2019). Síndrome hemolítico urémico asociado a Shigatoxina: ¿Cómo prevenirlo? *Revista Chilena de Pediatría*, 90(2), 139-144. <https://dx.doi.org/10.32641/rchped.v90i2.1044>
- Chakraborty, S., & Kenney, L. J. (2018). A new role of OmpR in acid and osmotic stress in *Salmonella* and *E. coli*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2656. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02656>
- Clements, A., Young, J. C., Constantinou, N., & Frankel, G. (2012). Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Microbes*, 3(2), 71-87. <https://doi.org/10.4161/gmic.19182>
- Clermont, O., Bonacorsi, S., & Bingen, E. (2000). Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Journal of Applied Environmental Microbiology*, 4555-4558. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.10.4555-4558.2000>

- Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013). The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revised: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*, 5(1), 58-65. [10.1111/1758-2229.12019](https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019)
- Cooper, V. S., & Lenski, R. E. (2000). The population genetics of ecological specialization in evolving *Escherichia coli* populations. *Nature*, (407), 736-739. <https://doi.org/10.1038/35037572>
- Cossart, P., & Sansonetti, P. J. (2008). Bacterial invasion: The paradigms of *Shigella* spp: Controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clin Microbiol Rev*, 134-156.
- Costa, A., Lepretti, M., Rizzo, L., Caputo, I., Vaiano, V., Sacco, O., Silva, W., & Sannino, D. (2016). Surface water disinfection by chlorination and advanced oxidation processes: Inactivation of an antibiotic resistant *E. coli* strain and cytotoxicity evaluation. *The Science of the Total Environment*, 554-555, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.189>
- Costin, C. F. (2018). Water living from hospitals and specific pollutants. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov*, 11(60), Special Issue (1).
- Crofts, A. A., Giovanetti, S. M., Rubin, E. J., Poly, F. M., Gutiérrez, R. L., Talaat, K. R., Porter, C. K., Riddle, M. S., DeNearing, B., Brubaker, J., Maciel, M., Jr, Alcalá, A. N., Chakraborty, S., Prouty, M. G., Savarino, S. J., Davies, B. W., & Trent, M. S. (2018). Enterotoxigenic *E. coli* virulence gene regulation in human infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(38), E8968-E8976. <https://doi.org/10.1073/pnas.1808982115>
- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822-880. <https://doi.org/10.1128/CMR.00022-13>
- Cundon, C. C., Ameal, A., Maubecín, E. y Bentancor, A. (2018). Caracterización de cepas patógenas extraintestinales de *Escherichia coli* aisladas de perros y gatos de compañía de Buenos Aires, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 290-294. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.11.003>
- Daniell, S. J., Takahashi, N., Wilson, W., Friedberg, D., Rosenshine, L., & Booy, F. P. (2001). The filamentous type III secretion translocon of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Cellular Microbiology*, 3(12), 865-871. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2001.00168.x>
- Darkazanli, M., Kiseleva, I., & Darkazanli, K. (2019). Genetic diversity of *Escherichia coli* O157:H7 isolate from Aleppo River water samples using random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker. *AIP Conference Proceedings*, 2174(1). <https://doi.org/10.1063/1.5134359>
- Dautin, N. (2010). Serine protease autotransporters of Enterobacteriaceae (SPA-TEs): Biogenesis and function. *Toxins*, 2(6), 1179-1206. <https://doi.org/10.3390/toxins206117>

- Dayanti, M. P., Fachrul, M. F., & Wijayanti, A. (2018). *Escherichia coli* as bioindicator of the groundwater quality in Palmerah District, West Jakarta, Indonesia. *IOP Conference Series, Earth and Environmental Science*, 106(1), 12-81. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/106/1/012081>
- De la Tabla, V. O., Ortega, A., Buñuel, F., Pérez-Vázquez, M., Marcos, B., & Oteo, J. (2017). Detection of the high-risk clone ST131 of *Escherichia coli* carrying the colistin resistance gene *mcr-1* and causing acute peritonitis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(1), 115-116. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.10.003>
- Días, R., Tanabe, R., Vieira, M. A., Cergole-Novella, M. C., Dos Santos, L. F., Gomes, T., Elias, W. P., & Hernandes, R. T. (2020). Analysis of the virulence profile and phenotypic features of typical and atypical enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) isolated from diarrheal patients in Brazil. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 144. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00144>
- Di Sante, L., Pugnali, A., Biavasco, F., Giovanetti, E., & Vignaroli, C. (2018). Multicellular behavior of environmental *Escherichia coli* isolates grown under nutrient-poor and low-temperature conditions. *Microbiological Research*, 210, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.03.004>
- Elmonir, W., Abo-Remela, E. M., & Alwakil, Y. (2020). Diversity, virulence and antibiogram traits of *Escherichia coli* recovered from potable water sources in Gharbia, Egypt. *Journal of Water and Health*, 18(3), 430-438. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.239>
- Ercumen, A., Mertens, A., Arnold, B. F., Benjamin-Chung, J., Hubbard, A. E., Ahmed, M. A., Kabir, S. M., Rahman, M., Rahman, S., Parvez, S. M., Unicomb, L., Rahman, M., Ram, P. K., Clasen, T., Luby, S. P., & Colford, J. M. (2018). Effects of single and combined water, sanitation and handwashing interventions on fecal contamination in the domestic environment: A cluster-randomized controlled trial in rural Bangladesh. *Environmental Science & Technology*, 52(21), 1-34. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05153>
- Fakhr, A. E., Gohar, M. K., & Atta, A. H. (2016). Impact of some ecological factors on Fecal contamination of drinking water by Diarrheogenic antibiotic-resistant *Escherichia coli* in Zagazig City, Egypt. *International Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1155/2016/6240703>
- Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina, L. V. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Revista Chilena de Infectología*, 33(4), 438-450. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000400009>
- Fiallos, J. D., Enríquez, M. L. y Navarro, A. (2018). Caracterización molecular y serológica de *Escherichia coli* de origen hídrico de dos zonas geográficas de Honduras. *Portal de la Ciencia*, (14), 53-75. <https://doi.org/10.5377/pc.v0i14.6638>
- Ferreira, J. C., Penha Filho, R., Andrade, L. N., & Darini, A. (2019). Evaluation of heavy metal tolerance genes in plasmids harbored in multidrug-resistant *Salmonella*

- enterica and *Escherichia coli* isolated from poultry in Brazil. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 94(3), 314–315. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.01.019>
- García-Hernández, A. M., García-Vázquez, E., Hernández-Torres, A., Ruiz, J., Yague, G., Herrero, J. A. y Gómez, J. (2011). Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas ac. *Revista Española de Quimioterapia*, 24(2), 57-66.
- Gauthier, A., Puente, J. L., & Finaly, B. B. (2003). Secretin of the enteropathogenic *Escherichia coli* type III secretion system requires components of the type III apparatus for assembly and localization. *Infection and Immunity*, 71(6), 3310-3319. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.6.3310-3319.2003>
- Gebisa, E. S., Gerasu, M. A., & Leggese, D. T. (2019). A review on virulence factors of *Escherichia coli*. *Animal and Veterinary Sciences*, 7(3), 83. <https://doi.org/10.11648/j.avs.20190703.13>
- Girón, J. A., Torres, A. G., Freer, E., & Kaper, J. B. (2002). The flagella of enteropathogenic *Escherichia coli* mediate adherence to epithelial cells. *Molecular Microbiology*, 44(2), 361-379. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02899.x>
- Gonzales-Rodríguez, A. O., Infante, S. F., Barrón, H. J., Llimpe, Y., Huerta, D., Wong, P. A., Gutierrez, C., & Suarez, S. (2020). Respuesta inmunológica y bioquímica de ancianos con infección urinaria frente factores de virulencia en *Escherichia coli* uropatógenas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 37(3), 527-531. <https://dx.doi.org/10.17843/rpmpesp.2020.373.4918>
- Gupta, K., Hooton, T. M., & Stamm, W. E. (2005). Isolation of fluoroquinolone-resistant rectal *Escherichia coli* after treatment of acute uncomplicated cystitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1), 243-246. <https://doi.org/10.1093/jac/dki169>
- Hazen, T. H., Sahl, J. W., Fraser, C. M., Donnenberg, M. S., Scheutz, F., & Rasko, D. A. (2013). Refining the pathovar paradigm via phylogenomics of the attaching and effacing *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(31), 12810-12815. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306836110>
- Hernroth, B., Lothigius, A., & Bolin, I. (2010). Factors influencing survival of enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* (serovar Typhimurium), and *Vibrio parahaemolyticus* in marine environments. *FEMS Microbiological Ecology*, 71(2), 272-280. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00803.x>
- Hicks, S., Frankel, G., Kaper, J. B., Dougan, G., & Philips, A. D. (1998). Role of intimin and bundle-forming pili in enteropathogenic *Escherichia coli* adhesion to pediatric intestinal tissue in-vitro. *Infection and Immunity*, 66(4), 1570-1578. <https://doi.org/10.1128/IAI.66.4.1570-1578.1998>
- Hölzel, C. S., Schwaiger, K., Harms, K., Küchenhoff, H., Kunz, A., Meyer, K., Müller, C., & Bauer, J. (2010). Sewage sludge and liquid pig manure as possible sources of

- antibiotic resistant bacteria. *Environmental Research*, 110(4), 318-326. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2010.02.009>
- Hussain, Q. A. (2019). Bacteria: the natural indicator of environmental pollution. *Freshwater Microbiology*, 393-420. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817495-1.00010-4>
- Iakovides, I. C., Michael-Kordatou, I., Moreira, N. F., Ribeiro, A. R., Fernandes, T., Pereira, M. F., Nunes, O. C., Manaia, C. M., Silva, A. M., & Fatta-Kassinos, D. (2019). Continuous ozonation of urban wastewater: Removal of antibiotics, antibiotic-resistant *Escherichia coli* and antibiotic resistance genes and phytotoxicity. *Water Research*, 159(1), 333-347. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.025>
- Ide, T., Laarmann, S., Greune, L., Schillers, H., Oberleithner, H., & Schmid, M. A. (2001). Characterization of translocation pores inserted into plasma membranes by type III-secreted Esp proteins of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiology*, 3(10), 669-679. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2001.00146.x>
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: Ecology and public health implications - a review. *Journal of Applied Microbiology*, 1-12. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Jirova, G., Wittlingerova, Z., Zimova, M., Vlkova, A., Wittlerova, M., Dvorakova, M. y Jirova, D. (2016). Bioindicators of wastewater ecotoxicity. *Neuroendocrinol Letters*, 37(Suppl. 1), 17-24.
- Jozić, S., Morovic, M., Solic, M., & Ordulj, M. (2014). Effect of solar radiation, temperature and salinity on the survival of two different strains of *Escherichia coli*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 23(8), 1852-1859.
- Katarzytea, M., Schernewski, G., Mezine, J., Vaiciute, D., Liaugaudaite, S., Mukauskaitė, K., & Umgiesser, G. (2018). Fecal contamination in shallow temperate estuarine lagoon: Source of the pollution and environmental factors. *Marine Pollution Bulletin*, 762-772. [10.1016/j.marpolbul.2018.06.022](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.022).
- Kenny, B. (1999). Phosphorylation of tyrosine 474 of the enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) Tir receptor molecule is essential for actin nucleating activity and is preceded by additional host modifications. *Molecular Microbiology*, 31(4), 1229-1241. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01265.x>
- Khan, F. M., & Gupta, R. (2020). *Escherichia coli* (*E. coli*) as an indicator of fecal contamination in water: A review. In: Jeon HY. (Eds.) *Sustainable development of water and environment*, 225-235. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45263-6_21
- Kolawole, O. M., & Adeyemi, O. A. (2020). Temporal appraisal and molecular characterization of *Escherichia coli* from Oyun River. Kwara State, Nigeria. *Journal of Advances in Microbiology*, 56-63. <https://doi.org/10.9734/jamb/2020/v20i330228>
- Kotlarska, E., Luczkiewicz, A., Pisowacka, M., & Burzýnski, A. (2014). Antibiotic resistance and prevalence of class 1 and 2 integrons in *Escherichia coli* isolated from two wastewater treatment plants, and their receiving waters (Gul of Gdansk, Baltic

- Sea, Poland). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(3), 2018-2030. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3474-7>
- Larrea-Murrell, J. A., Rojas-Badía, M. M., Romeu-Álvarez, B., Rojas-Hernández, M. y Heydrich-Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-34.
- Launders, N., Locking, M. E., Hanson, M., Willshaw, G., Charlett, A., Salmon, R., Cowden, J., Harker, K. S., & Adak, G. K. (2016). A large Great Britain-wide outbreak of STEC O157 phage type 8 linked to handling of raw leeks and potatoes. *Epidemiology and Infection*, 144(1), 171-181. <https://doi.org/10.1017/S0950268815001016>
- Ledwaba, S. E., Costa, D., Bolick, D. T., Giallourou, N., Medeiros, P., Swann, J. R., Traore, A. N., Potgieter, N., Nataro, J. P., & Guerrant, R. L. (2020). Enteropathogenic *Escherichia coli* Infection Induces Diarrhea, Intestinal Damage, Metabolic Alterations, and Increased Intestinal Permeability in a Murine Model. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 17, 595266. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.595266>
- Lennox, J. A., Egbe, J. G., & Echa, C. (2020). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from selected food samples sold in local markets in Nigeria. *African Journal of Food Science*, 14(2), 32-37. <https://doi.org/10.5897/AJFS2019.1866>
- Liu, J., Zhou, R., Li, L., Peters, B. M., Li, B., Lin, C. W., Chuang, T. L., Chen, D., Zhao, X., Xiong, Z., Xu, Z., & Shirliff, M. E. (2017). Viable but non-culturable state and toxin gene expression of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 under cryopreservation. *Research in Microbiology*, 168(3), 188-193. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.11.002>
- Liu, R., Yeung, L. T., Ho, P. H., & Lau, S. C. (2017). Tracking the relative concentration between Bacteroidales DNA markers and culturable *Escherichia coli* in fecally polluted subtropical seawater: Potential use in differentiating fresh and aged pollution. *Canadian Journal of Microbiology*, 252 - 259. <https://doi.org/10.1139/cjm-2016-0241>
- Lösch, L. S., Gariboglio, M. L., Rivas, M. y Merino, L.A. (2015). Detección de genes de virulencia del patotipo enteroagregativo en cepas de *Escherichia coli* aisladas de fuentes de agua subterránea de la provincia del Chaco, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(2), 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.03.004>
- Lothigius, A., Sjoling, A., Svennerholm, A. M., & Bolin, I. (2010). Survival and gene expression of enterotoxigenic *Escherichia coli* during long-term incubation in seawater and fresh water. *Journal of Applied Microbiology*, 1441-1449. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04548.x>
- McKee, A., Molina, M., Cyterski, M., & Couch, A. (2020). Microbial source tracking (MST) in Chattahoochee River National Recreation Area: Seasonal and precipitation trends in MST marker concentrations, and associations with *E. coli* levels, pathogenic marker presence, and land use. *Water Research*, (171), 115435. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115435>

- McKee, A., Molina, M., Cyterski, M., & Couch, A. (2020). Microbial source tracking (MST) in Chattahoochee River National Recreation Area: Seasonal and precipitation trends in MST marker concentrations, and associations with *E. coli* levels, pathogenic marker presence, and land use. *Water Research*, (171), 115435. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115435>
- Malla, B., Shrestha, R. G., Tandukar, S., Bhandari, D., Inoue, D., Sei, K., Tanaka, Y., Sherchand, J. B., & Haramoto, E. (2018). Identification of human and animal fecal contamination in drinking water sources in the Kathmandu Valley, Nepal, using host-associated Bacteroidales quantitative PCR assays. *Water*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/w10121796>
- Maloo, A., Fulke, A. B., Mulani, N., Sukumaran, S., & Ram, A. (2017). Pathogenic multiple antimicrobial-resistant *Escherichia coli* serotypes in recreational waters of Mumbai, India: A potential public health risk. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24(12), 11504-11517. [10.1007/s11356-017-8760-8](https://doi.org/10.1007/s11356-017-8760-8).
- Mancini, J., Weekselblatt, B., Chung, Y. K., Durante, J. C., Adelman, S., & Glaubman, J. (2011). The heat-resistant agglutinin family includes a novel adhesin from enteroaggregative *Escherichia coli* strain 60a. *Journal of Bacteriology*, 193(18), 4812-4820. <https://doi.org/10.1128/JB.05142-11>
- Mazariego-Espinosa, K., Cruz, A., Ledesma, M. A., Ochoa, S. A., & Xicohtencatl-Cortes, J. (2010). Longus, a type IV pilus of enterotoxigenic *Escherichia coli*, is involved in adherence to intestinal epithelial cells. *Journal of Bacteriology*, 192(11), 2791-2800. <https://doi.org/10.1128/JB.01595-09>
- Millán, Y., Araque, M. y Ramírez, A. (2020). Distribución de grupos filogenéticos, factores de virulencia y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* uropatógena. *Revista Chilena de Infectología*, 37(2), 117-123. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182020000200117>
- Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J. y Ochoa, T. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 28(4), 648-656. <https://doi.org/10.17843/rp-mesp.2011.284.430>
- Mouhamad, R. S., Hussein, A. A., Alsaedi, S. A., Nasif, N. S., & Joda, S. O. (2017). Detect of human fecal contamination in water and soil of multiple sanitary landfills in Baghdad City. *Microbiology Research International*, 5(4), 43-50. <https://doi.org/10.30918/MRI.54.17.021>
- Müller, A., Stephan, R., & Nüesch-Inderbinen, M. (2016). Distribution of virulence factor in ESBL-producing *Escherichia coli* isolate from the environment, livestock, food and humans. *The Science of the Total Environment*, 667-672. [10.1016/j.scitotenv.2015.09.135](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.135)
- Nataro, J. P., Deng, Y., Maneval, D. R., German, A. L., Martin, W. C., & Levine, M. M. (1992). Aggregative adherence fimbriae I of enteroaggregative *Escherichia coli* mediate ad-

- herence to Hep-2 cells and hemagglutination of human erythrocytes. *Infection and Immunity*, 60(6), 2297-2304. <https://doi.org/10.1128/iai.60.6.2297-2304.1992>
- Navarro-García, F., Gutiérrez-Jiménez, J., García-Tovar, C., Castro, L. A., Salazar-González, H., & Cordova, V. (2010). Pic, an autotransporter protein secreted by different pathogens in the Eterobacteriaceae family, is a potent mucus secretagogue. *Infection and Immunity*, 78(10), 4101-4109. <https://doi.org/10.1128/IAI.00523-10>
- Ngong, I., Ajeagah, A., Kapso, M., Nguapidjio, G., Sotchang, I. O., Fououssong, I., Nnah, J. P., Kechia, K. A., & Enoke, P. (2019). Physicochemical quality of water and influence on the dynamics of bacteria circulating in water points for domestic use in Yaoundé (Cameroon). *International Journal of Natural Resource Ecology and Management*, 4(5), 112-119. <https://doi.org/10.11648/j.ijnrem.20190405.12>
- Nurliyana, M. R., Sahdan, M. Z., Wibowo, K. M., Muslihati, A., Saim, H., Ahmad, S. A., & Mansor, Z. (2018). The detection method of *Escherichia coli* water resources: A review. *Journal of Physics: Conference Series*, 995, 1-12. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/995/1/012065>
- Oliveira, T. S., Aukidy, M. A., & Verlicchi, P. (2017). Occurrence of common pollutants and pharmaceuticals in hospital effluents. In Verlicchi, P. (Ed.). *The handbook of Environmental Chemistry* (pp. 17-32).
- Oliveira, M., Freire, D., & Pedroso, N.M. (2018). *Escherichia coli* is not a suitable fecal indicator to assess water fecal contamination by otters. *Brazilian Journal of Biology*, 78(1), 155-159. [10.1590/1519-6984.167279](https://doi.org/10.1590/1519-6984.167279)
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). Guidelines for drinking-water quality. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>
- Pasic, L., Avguštin, J. A., Erjavec, M., Herzog-Velikonja, B., Podlesek, Z., & Žgur-Bertok, D. (2014). Two tales of prokaryotic genomic diversity: *Escherichia coli* and *Halophiles*. *Food Technology and Biotechnology*, 52, 158-169.
- Pesciaroli, M., Magistrali, C. F., Filippini, G., Epifanio, E.M., Lovito, C., Marchi, L., Maresca, C., Massacci, F. R., Orsini, S., Scoccia, E., Tofani, S., & Pezzotti, G. (2020). Antibiotic-resistant commensal *Escherichia coli* are less frequently isolated from poultry raised using non-conventional management systems than from conventional broiler. *International Journal of Food Microbiology*, 2(314), 108391. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108391>
- Pires, S. M., Majowicz, S., Gill, A., & Devleeschauwer, B. (2019). Global and regional source attribution of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections using analysis of outbreak surveillance data. *Epidemiology and Infection*, (147), e236. <https://doi.org/10.1017/S095026881900116X>
- Pruss-Ustun, A., Bartram, J., Clasen, T., Colford, J.M., Cumming, O., Curtis, V., Bonjour, S., Dangour, A. D., De France, J., Fewtrell, L., Freeman, C. M., Gordon, B., Hunter, P. R., Johnston, R. B., Mathers, C., Mäusezahl, D., Medlicott, K., Neira, M., Stocks, M., ...Gairncross, S. (2014). Burden of disease from inadequate water, sanitation, and

- hygiene in low and middle-income settings: A retrospective analysis of data from 145 countries. *Tropical Medicine and International Health*, 19(8), 894-905. <https://doi.org/10.1111/tmi.12329>
- Puttamreddy, S., Cornick, N. A., & Minion, F. C. (2010). Genome-wide transposon mutagenesis reveals a role for p0157 genes in biofilm development in *Escherichia coli* O157:H7 EDL 933. *Infection and Immunity*, 78(6), 2377-2384. <https://doi.org/10.1128/IAI.00156-10>
- Quainoo, S., Coolen, J., van Hijum, S., Huynen, M. A., Melchers, W., van Schaik, W., & Wertheim, H. (2017). Whole-Genome Sequencing of bacterial pathogens: the future of nosocomial outbreak analysis. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(4), 1015-1063. <https://doi.org/10.1128/CMR.00016-17>
- Rada, A. M., Hernández-Gómez, C., Restrepo, E. y Villegas, M. V. (2019). Distribución y caracterización molecular de beta-lactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia (2001-2016). *Biomédica, Revista del Instituto Nacional de Salud*, 39(Sp. 1) <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4351>
- Ramos, E. G. (2016). *Caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia a antimicrobianos en cepas de 'Escherichia coli' y 'Enterococcus spp.' de origen alimentario* [Tesis Doctoral, Universidad de León]. <https://buleria.unileon.es/handle/10612/5468>
- Ranjbar, R., Hosseini, S., Zahraei, T., Kheiri, R., & Khamesipour, F. (2016). Investigation on prevalence of *Escherichia coli* strains carrying virulence genes ipaH, estA, eaeA, and bfpA isolated from different water sources. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(4), 278-283. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)61031-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)61031-3)
- Rayasam, D. G., Ray, I., Smith, K. R., & Riley, L. W. (2019). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* and antimicrobial drug resistance in a Maharashtrian drinking water system. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(5), 1101-1104. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0542>
- Riveros, M., Barletta, F., Cabello, M., Durand, D., Mercado, E. H., Contreras, C., Rivera, F. P., Mosquito, S., Lluque, Á., & Ochoa, T. J. (2011). Patrones de adherencia de cepas de *Escherichia coli* difusamente adherente (DAEC) provenientes de niños con y sin diarrea. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 28(1), 21-28. <https://doi.org/10.1590/S1726-46342011000100004>
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236-247. [10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08](https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08)
- Robert-Pullés, M. (2014). Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 45(1), 25-36.
- Rutgersson, C., Fick, J., Marathe, N., Kristiansson, E., Jazon, A., Angelin, M., Johansson, A., Souche, Y., Flach, C-F., & Larsson, J. (2014). Fluoroquinolones and qnr genes in sediment, water, solid, and human fecal flora in an environment polluted by manufacturing discharges. *Environmental Sciences and Technology*, 48(14), 7825-7832. <https://doi.org/10.1021/es501452a>

- Rüttler, M. E., Yanzón, C. S., Cuitiño, M. J., Renna, N. F., & Pizarro, M. A. (2006). Evaluation of a multiplex PCR method to detect enteroaggregative *Escherichia coli*. *Biocell*, 30(2), 301-308. <https://doi.org/10.32604/biocell.2006.30.301>
- Sachdeva, S., Palur, R. V., Sudhakar, K. U., & Rathinavelan, T. (2017). *E. coli* Group 1 capsular polysaccharide exportation nanomachinery as a plausible antivirulence target in the perspective of emerging antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00070>
- Sanches, L. A., Gomes, M., Teixeira, R., Cunha, M., Oliveira, M., Vieira, M., Gomes, T., & Knobl, T. (2017). Captive wild birds as reservoirs of enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC). *Brazilian Journal of microbiology*, 48(4), 760-763. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.03.003>
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., Doublet, B., & Cloeckaert, A. (2004). Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews*, 28(5), 519-542. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.04.001>
- Sarker, S., Ahad, A., Kumar Ghosh, S., Mannan, S., Sen, A., Islam, S., Bayzid, M., & Bueaza, Z. (2019). Antibiotic-resistant *Escherichia coli* in deer and nearby water sources at Safari parks in Bangladesh. *Veterinary World*, 12(10), 1578-1583. [10.14202/vetworld.2019.1578-1583](https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1578-1583)
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathogens*, 11(10). [10.1186/s13099-019-0290-0](https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0)
- Sato, T., & Shimonishi, Y. (2004). Structural features of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin that activates membrane-associated guanylyl cyclase. *Journal of Peptide Research*, 63(3), 200-206. [10.1111/j.1399-3011.2004.00125.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.2004.00125.x)
- Senkbeil, J. J., Ahmed, W., Conrad, J., & Harwood, V. J. (2019). Use of *Escherichia coli* genes associated with human sewage to track fecal contamination source in subtropical waters. *Science of the Total Environment*, 686(15). [10.1016/j.scitotenv.2019.05.201](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.201)
- Schang, C., Lintern, A., Cook, P., Rooney, G., Coleman, Murphy, H. M., Deletic, A., & McCarthy, D. (2018). *Escherichia coli* survival and transfer in estuarine bed sediments. *River Research and Applications*, 34(6), 606-614. [10.1002/rra.3281](https://doi.org/10.1002/rra.3281)
- Shenouda, R. N., Abou El-Khier, N. T., El-Daker, M. A., Osman, Y., Badr, R. I., & Nader, R. (2020). Bacteriuria in patients with orthotopic ileal neobladder: The role of Uropathogenic *Escherichia coli*. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 29(1), 1-7. <https://doi.org/10.21608/ejmm.2020.249862>
- Sinton, L. W., Finlay, R. K., & Lynch, P. A. (1999). Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage-polluted seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8), 3605-3613. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.8.3605-3613.1999>
- Soud, F., Agoubi, B., Hamdi, M., Telahigue, F., & Kharroubi, A. (2017). Groundwater

- chemical and fecal contamination assessment of the Jerba unconfined aquifer, southeast of Tunisia. *Arabian Journal of Geosciences*, 10(10). 10.1007/s12517-017-2981-5
- Spangler, B. D. (1992). Structure and function of cholera toxin and the related *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *Microbiological Reviews*, 56(4), 622-647.
- Supardan, D. (2018). Coliform contaminant analysis at dug well in Ungga Village, Central Lombok District, West Nusa Tenggara. *Bioscience*, 2(1), 41-49. <https://doi.org/10.24036/02018219981-0-00>
- Tai-Yi, Y., Ching-Ju, M., & Yu-Jie, C. (2018). Application of *Escherichia coli* antibiotic resistance patterns for contamination source identification in a watershed. *Environmental Science and Pollution Research International*, 26(33), 33936-33945. 10.1007/s11356-018-2747-y.
- Tavares, M., Vianna, M. B., & Wasserman, J. C. (2018). Critical evaluation of the factors affecting *Escherichia coli* environmental decay for outfall plume models. *Ambiente & Água*, 13(4). <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2106>
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 207-217.
- Tessema, H., Sahile, S., & Teshome, Z. (2019). Bacteriological and physicochemical profile of water samples collected from river and stream water basis crossing Gondar town, North West Ethiopia. *Journal of Academia and Industrial Research*, 9(1), 1-5.
- Toro-Ibaceta, M., Rivera, D., Jiménez, M., Díaz, L., Navarrete, P., & Reyes, A. (2018). Isolation and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from retail ground beef in Santiago, Chile. *Food Microbiology*, 75, 55-60. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/155345>
- Trastoy, R., Manso, T., Fernández-García, L., Blasco, L., Ambroa, A., Pérez, M. L., Bou, G., García-Contreras, R., Wood, T. K., & Tomás, M. (2018). Mechanisms of bacterial tolerance and persistence in the gastrointestinal and respiratory environments. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), e00023-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00023-18>
- Truchado, P., Lopez, F., Gil, M. I., Pedrero, F., Alarcón, J. J., & Allende, A. (2016). Suitability of different *Escherichia coli* enumeration techniques to assess the microbial quality of different irrigation water sources. *Food Microbiology*, 58, 29-35. 10.1016/j.fm.2016.03.006
- Uprety, S., Dangol, B., Nakarmi, P., Dhakal, I., Sherchan, S. P., Shisler, J. L., Jutla, A., Amarasiri, M., Sano, D., & Nguyen, T. H. (2020). Assessment of microbial risks by characterization of *Escherichia coli* presence to analyze the public health risks from poor water quality in Nepal. *International journal of hygiene and environmental health*, 226, 113484. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113484>
- Villalobos, L. B., Martínez, R. E., Blanco, A. C., Maldonado, A. J. y Bastardo, J. W. (2008). Detección molecular de *Escherichia coli* productor de shiga toxina (Stx1) y rotavirus en heces de niños con diarrea. *Investigacion Clínica*, 49(3), 387-395.

- Visvalingam, J., Liu, Y., & Yang, X. (2017). Impact of dry chilling on the genetic diversity of *Escherichia coli* on beef carcasses and on the survival of *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157. *International Journal of Food Microbiology*, 244, 62-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.022>
- Walk, S. T., Alm, E. W., Gordon, D. M., Ram, J. L., Toranzos, G. A., Tiedje, J. M., & Whitam, T. S. (2009). Cryptic lineages of the genus *Escherichia*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(20), 6534-6544. <https://doi.org/10.1128/AEM.01262-09>
- Wang, Z., Hu, H., Zhu, T., Zheng, J., Gänzle, M. G., & Simpson, D. J. (2021). Ecology and Function of the Transmissible Locus of Stress Tolerance in *Escherichia coli* and Plant-Associated *Enterobacteriaceae*. *mSystems*, 6(4), e0037821. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00378-21>
- Wanjugi, P., Fox, G.A., & Harwood, V. J. (2016). The interplay between predation, competition, and nutrient levels influences the survival of *Escherichia coli* in aquatic environments. *Microbial Ecology*, 72(3), 526-537. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0825-6>
- Weiler, N., Orrego, M., Alvarez, M. y Huber, C. (2017). Detección molecular de *Escherichia coli* diarreogénica en pacientes pediátricos con síndrome diarreico agudo en Paraguay. *Memorias del Instituto de Investigaciones de Ciencias de la Salud*, 17(1), 16-21. [https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2017.015\(01\)16-021](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2017.015(01)16-021)
- Wilson, B. A., Winkler, M. E., & Ho, B. T. (2019). *Bacterial pathogenesis: A molecular approach*. ASM Press.
- World Health Organization (WHO). (2003). Chapter 4: Faecal pollution and water quality. *En Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1, Coastal and Fresh Waters* (pp. 51-101). World Health Organization.
- Xing, J., Jia, X., Wang, H., Ma, B., Falcão, J., Xu, J. (2020). The legacy of bacterial invasions on soil native communities. *Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15086>
- Yang, C., Lin, M. F., Liao, P. C., Yeh, H. W., Chang, B. V., Tang, T. K., Cheng, C., Sung, C. H., & Liou, M. L. (2009). Comparison of antimicrobial resistance patterns between clinical and sewage isolates in a regional hospital in Taiwan. *Letters in Applied Microbiology*, 48(5), 560-565. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02572.x>
- Yazdanbakhsh, A., Rafiee, M., & Alimoradi, M. (2019). Evaluation of microbiological water quality and coastal water quality index of persian gulf in Bandar Abbas Coastal City, Iran. *Iranian Journal of Health, Safety & Environment*, 6(4), 1244-1347.

CAPÍTULO III

BIOLOGÍA DE BACTERIÓFAGOS / COLIFAGOS SOMÁTICOS



Los bacteriófagos, también conocidos como fagos, son virus que infectan y se replican solo en células bacterianas. Son ubicuos en el medioambiente y se les reconoce como el agente biológico más abundante en la tierra (Suttle, 2005; Clokie et al., 2011; Weitz y Wilhelm, 2013; Simmonds y Aiewsakun, 2018; Esteves y Scharf, 2022). Presentan amplia diversidad en tamaño, morfología, procesos de replicación, placas de lisis y organización genómica (Simmonds y Aiewsakun, 2018). Sin embargo, todos consisten en un genoma de ácido nucleico encerrado en una cápside formada de proteínas, que interactúa con la superficie de proteínas receptoras de la célula hospedera. Si bien es cierto que la caracterización depende de la célula hospedera a la que infecten, por ejemplo, si infectan *Escherichia coli*, son denominados colifagos; si infectan *Shigella* (shigelófagos), *Vibrio* (Vibriófagos) o *Salmonella* (Salmonelófagos), etc. Al presente, los análisis de microscopía electrónica de transmisión (MET) (Ackermann, 2005; 2007; 2009), junto con las herramientas de biología molecular (Kelleher et al., 2018; Feyereisen et al., 2019) y los análisis de proteómica (Kelleher et al., 2018; Feyereisen et al., 2019), son los que aproximan a catalogar a los fagos y sus familias, tipos y morfotipos, según la forma de la cápside, longitud de la cola y el tamaño de sus diferentes estructuras y características discriminatorias (Ackermann, 2005; 2007; 2009; Kelleher et al., 2018; Feyereisen et al., 2019).

Los virus procariotas incluyen 14 familias aceptadas oficialmente y, al menos, otras cinco familias potenciales en espera de clasificación. Aproximadamente, 5.500 virus procariotas habían sido examinados en el microscopio electrónico hasta 2009, no obstante, las herramientas de Biología molecular y Proteómica utilizadas recientemente (Feyereisen et al., 2019), son igualmente importantes en la actualidad. La clasificación tiene un valor predictivo y es invaluable para controlar técnicas y resultados experimentales. Al describir los virus, la elección de los métodos depende de la estructura y la posición taxonómica de estos. El

estudio de virus isométricos, filamentosos y pleomórficos requiere investigaciones más detalladas que las de las especies con cauda (Ackermann, 2009).

Desde 1959 hasta 2012, habían sido descritos morfológicamente, cerca de 6.300 virus procariotas, incluidos 6.196 virus bacterianos y 88 arqueas. La gran mayoría (96,3 %) tienen cola y solo 230 (3,7 %) son poliédricos, filamentosos o pleomórficos. La familia *Siphoviridae*, cuyos miembros se caracterizan por tener colas largas y no contráctiles, es la familia más numerosa (más de 3.600 descripciones -57,3 %-). Los virus de procariotas se encuentran en miembros de doce filos bacterianos y arqueales. Los virus de arqueas pertenecen a 15 familias e infectan miembros de 16 géneros, casi exclusivamente hipertermófilos o halófilos extremos. Los virus de arqueales con cola se encuentran solo en Euryarchaeota, mientras que la mayoría de los virus arqueales filamentosos y pleomórficos se encuentran en Crenarchaeota. Los virus bacterianos pertenecen a diez familias e infectan miembros de 179 géneros bacterianos, en su mayoría miembros de Firmicutes y -proteobacteria (Ackermann y Prangishvili, 2012).

A pesar de esta apariencia caudal, los fagos, al igual que los demás virus, no son móviles y dependen del movimiento browniano para alcanzar sus objetivos (Kasman y Porter, 2021). Como todos los virus, los bacteriófagos son muy específicos de especie con respecto a sus hospederos y, por lo general, únicamente infectan una sola especie bacteriana o incluso, cepas específicas dentro de una especie (Jofre y Muniesa, 2020). Una vez que un bacteriófago se adhiere a un hospedero susceptible, sigue una de dos estrategias de replicación: lítica o lisogénica. Durante un ciclo de replicación lítica, un fago se une a una bacteria susceptible, introduce su genoma en el citoplasma de la célula y utiliza los ribosomas del hospedero para fabricar sus proteínas. Los componentes moleculares de la célula hospedera se convierten rápidamente en genomas virales y proteínas de la cápside, que se ensamblan en múltiples copias del fago original (Abedon, 2009).

A medida que la célula hospedera muere, se lisa de forma activa o pasiva, liberando el nuevo bacteriófago, para infectar a otra célula. En el ciclo de replicación lisogénica, el fago también se une a una bacteria susceptible e introduce su genoma en el citoplasma. Sin embargo, el

genoma del fago se integra en el cromosoma de la célula bacteriana o se mantiene como un elemento episomal donde, en ambos casos, se replica y se transmite a las células bacterianas hijas, sin matarlas. Los genomas de fagos integrados son denominados profagos y, las bacterias que los contienen, lisógenos. Los profagos cuando enfrentan condiciones adversas o de estrés pueden volver a convertirse en un ciclo de replicación lítica y matar a su célula hospedera (Ptashne, 2006; Kasman y Porter, 2021).

Por otro lado, los bacteriófagos, aunque no pueden infectar ni replicarse en células humanas, son una parte importante del microbioma humano y un mediador fundamental del intercambio genético entre bacterias patógenas y no patógenas (Boyd, 2012; Kasman y Porter, 2021). La transferencia de genes de una cepa bacteriana a otra por un bacteriófago se llama transducción, y puede ocurrir de manera generalizada o específica (Simmonds y Aiewsakun, 2018). A continuación, se describe de manera general, cómo se lleva a cabo esos procesos de transducción:

En la transducción **generalizada**, se empaquetan fragmentos aleatorios de ADN genómico bacteriano dentro de las cápsidas de fagos, en lugar del ADN genómico del propio fago, a medida que la célula hospedera se lisa a partir de la replicación lítica (Kasman y Porter, 2021). Si el fago que lleva este ADN bacteriano lo inyecta en una célula hospedera sensible, puede integrarse en el cromosoma de esa bacteria, alterando su genoma y el de sus células hijas.

En la transducción **especializada**, se cree que los fagos lisogénicos, que han sido amplificados en una población de bacterias, escinden parte del ADN bacteriano con su genoma, cuando inician un ciclo de replicación lítica. Debido a que los lisógenos comparten el mismo sitio de integración, todos los fagos de la progenie transducen el mismo gen bacteriano a sus nuevos hospederos (Kasman y Porter, 2021).

Además del intercambio genético, los bacteriófagos pueden alterar las poblaciones microbianas, porque se aprovechan de especies específicas de bacterias y dejan a otras ilesas (Kasman y Porter, 2021). Durante más de 100 años, la investigación ha intentado utilizar esta propiedad como un medio para tratar infecciones bacterianas patógenas en personas y animales.

Si bien los fagos silvestres, probablemente, tienen efectos transitorios en las poblaciones bacterianas silvestres (De Sordi et al., 2019; Kasman y Porter, 2021), existen muchos obstáculos para el uso clínico de los bacteriófagos líticos, como terapia antimicrobiana (terapia de fagos) en humanos. Por un lado, las cepas bacterianas silvestres son muy diversas y muchas son resistentes a uno o a varios fagos (Kasman y Porter, 2021).

Actualmente y, gracias a los avances en biología celular y molecular, se conoce muchos mecanismos de defensa; un ejemplo de ellos es el sistema CRISPR-Cas9, mecanismo de defensa bacteriano contra la infección por bacteriófagos (Kasman y Porter, 2021; Christin y Beckert, 2016), conocido y diseñado como una herramienta para la manipulación genética en el laboratorio.

Es importante recalcar que, los fagos son mucho más inmunogénicos que los fármacos antimicrobianos y, que el sistema endotelial reticular los elimina rápidamente de la sangre. Su gran tamaño, con relación a los fármacos antimicrobianos, probablemente, limitará su uso a aplicaciones tópicas si se halla cócteles de fagos eficaces (Kasman y Porter, 2021). Algunos investigadores han sugerido que, el uso de enzimas de fagos que pueden penetrar las paredes celulares bacterianas, puede ser una estrategia más sencilla (Maciejewska et al., 2018). Hasta 2021, no ha habido ensayos aleatorizados, controlados y doble ciego que demuestren la eficacia de cualquiera de las estrategias en humanos (Kasman y Porter, 2021).

3.1 Generalidades

El concepto original de un fago fue construido por Stent (1963), quien documentó varias observaciones realizadas con anterioridad por varios científicos, entre las que se destaca la formación de placas de lisis en los medios de cultivo bacterianos, característica observada por Frederick Twort en 1915 (Sharma, et al., 2016); adicionalmente, tomó como base, los estudios realizados por Félix d'Herelle en 1917, quien concluyó que un virus era un agente que no podía filtrarse a través de dispositivos en donde las bacterias se filtraban normalmente. Se creía además que, este era un agente aparentemente producido por bacterias, que su exposición a estas le permitía algún tipo de autopropagación y que, los cultivos bacterianos eran 'comidos' por ellos, generando como consecuencia, la ausencia de turbidez (muerte bacteriana) (Stent, 1963). Adicionalmente,

Stent (1963) fue el primero en usar la palabra ‘fago’, para referirse a estos agentes, la cual es derivada de las letras griegas φαγειν, que significan devorador.

Una estimación del número de virus en la tierra alcanza una cifra astronómica de alrededor de 10^{31} que, es mucho más que la cantidad de estrellas en el universo (Weitz y Wilhelm, 2013). Un virus depende totalmente de su hospedero para replicarse, lo que convierte al hospedero en una parte fundamental en el entorno del virus. Esta faceta de la existencia viral significa que, el estudio de la interacción entre estos organismos y su entorno es relevante para entender cómo funciona la relación del virus con su hospedero (Kerr et al., 2008). La mayoría de los virus representa un papel importante en los ciclos biogeoquímicos globales, ya que tienen que infectar microorganismos como bacterias, arqueobacterias y microeucariotas (Suttle, 2007).

Los fagos son considerados como las entidades más diversas y abundantes en la tierra; son omnipresentes, ya que existen en todos los tipos de ecosistemas, desde ambientes extremadamente calurosos como las aguas termales o el desierto del Sahara, hasta ambientes extremadamente fríos, como las aguas que se encuentran en el interior de los cascos polares (Hanlon, 2007; Le Romancer et al., 2007). Los bacteriófagos desempeñan un papel importante en la regulación y el mantenimiento de la dinámica del equilibrio bacteriano en los ecosistemas naturales, dada su alta especificidad, capacidad de replicarse rápidamente y supervivencia a largo plazo (João et al., 2021). En este sentido, los microcosmos de bacterias y fagos han sido utilizados por muchos investigadores, con la finalidad de estudiar la ecología de las interacciones hospedero-parásito (Schrag y Mittler, 1996; Bohannan y Lenski, 1999; 2000).

Se estima que, el número total de partículas de fagos en el mundo varía entre 10^{30} y 10^{32} , correspondiente con las proporciones de fago a bacteria de 10: 1. Si bien todos los géneros bacterianos son virtualmente susceptibles a los fagos, estos son inofensivos para los demás organismos, incluidos los humanos (Knoll y Mylonakis, 2014). El agua de mar es uno de los entornos naturales más diversos y densos para fagos y otros virus, pues, de acuerdo con Breitbart (2012), el agua de mar superficial tiene una concentración de aproximadamente 10 millones de virus por mililitro.

3.2 Estructura y biología de los bacteriófagos

La longitud de los fagos varía ampliamente entre los 24 y 200 nm; los fagos T4 son los de mayor tamaño conocidos, con una longitud aproximada de 200 nm y entre 80 y 100 nm de ancho (Mayer, 2016). Aunque la típica partícula de fago (o virión) es morfológicamente diversa, comprende una cápside de proteína que encierra el genoma del ácido nucleico (ADN o ARN), además de elementos adicionales que median la interacción bacteria/fago (Harada, et al., 2018). Algunos de estos elementos incluyen una cola contráctil en espiral o vaina y una placa base con fibras de la cola que sobresalen (Figura 3.1). En la parte posterior del virus se encuentran las proteínas, que permiten el reconocimiento y la unión a los receptores específicos de la superficie de la membrana bacteriana (Orlova, 2012).

Los fagos pueden ser clasificados estructuralmente, como fagos con cola (simetría binaria), fagos icosaédricos sin cola (simetría cúbica), fagos filamentosos (simetría helicoidal) y fagos pleomórficos (Orlova, 2012). Algunos fagos contienen lípidos en la cápside, los cuales pueden estar ubicados al exterior o al interior de esta (João, et al., 2021). El genoma del fago puede estar segmentado o no segmentado, con tamaños que varían desde unos pocos miles de pares de bases hasta 4.8×10^5 pares de bases (fago G) (Ackermann, 2005). La mayoría de sus genomas están compuestos por ADN de doble hebra (dsDNA), ADN de una sola hebra (ssDNA), ARN monocatenario (ssRNA), o ARN bicatenario (dsRNA) que puede encontrarse en pequeños grupos de fagos (Weisberg et al., 1999; Ackermann, 2012).

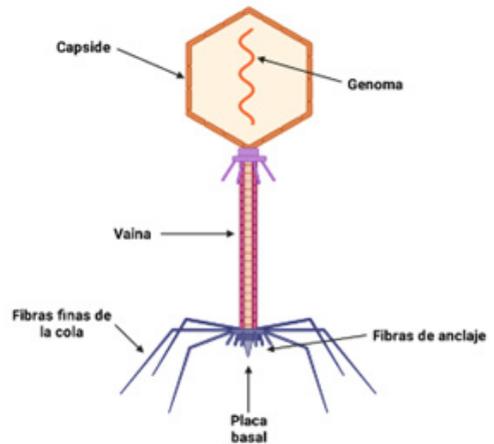


Figura 3.1 Estructura general de un bacteriófago

Nota: En la figura se encuentra la estructura general de un bacteriófago, se señala la cápside, el genoma, la vaina o cola contráctil y, la base con las fibras de la cola o cauda, fibras de anclaje y placa basal.

En general, los fagos tienen la capacidad de infectar a especies de bacterias específicas o un subgrupo de la misma especie, los cuales expresan receptores específicos de superficie de la membrana bacteriana (Orlova, 2012). Algunos de los ejemplos de receptores incluyen: flagelos, pili, lipopolisacáridos (LPS) u otros componentes de la membrana externa en bacterias gram negativas; y, componentes de los peptidoglicanos, ácidos teicoicos y proteínas de la pared celular en bacterias gram positivas (Sharma et al., 2016). Debido a esta alta especificidad natural, la infección no puede ocurrir si una célula bacteriana no expone un receptor de superficie específico para el fago invasor (Harada, et al., 2018).

3.3 Relación entre bacteriófagos y *E coli*

Estudios previos han reportado el impacto de los bacteriófagos en la patogénesis bacteriana, ya que estos tienen la capacidad de transportar, además de factores de virulencia, genes de resistencia a antimicrobianos y factores de adaptación del hospedador (Brussow et al., 2004). Como importantes vehículos de transferencia horizontal de genes, los fagos contribuyen significativamente a las diferencias entre bacterias de una misma especie bacteriana (Desiere et al., 2001). En la familia *Enterobacteriaceae*, ellos pueden infectar aislados específicos o grupos de especies relacionadas (King et al., 2012). Otro aspecto importante es que colaboran con el control del equilibrio de estas especies o poblaciones competitivamente dominantes (Weinbauer, 2004).

Los colifagos son bacteriófagos que atacan cepas de *E. coli*. De acuerdo con Jofre et al. (2016), su nombre es muy vago, ya que puede referirse a que estos afectan cualquier cepa de *E. coli*; sin embargo, se sabe que la susceptibilidad de las cepas hospederas varía, dependiendo de los diferentes tipos de bacteriófagos. Han sido utilizados como indicadores de contaminación de agua por coliformes fecales y virus entéricos (International Organization for Standardization, 2000). No obstante, se han aislado colifagos a partir de entornos clínicos de efluentes hospitalarios (Peng y Yuan, 2018), diferentes muestras de origen humano como el tracto gastrointestinal, la cavidad oral, la saliva, el esputo o la orina (Hyman y Abedon, 2012; Pacífico, et al., 2019). Por otra parte, existen dos grupos de bacteriófagos que tienen la capacidad de infectar a *E. coli*: los colifagos somáticos (infección por el contacto con la pared celular bacteriana) y los colifagos F-específicos (requieren del pili sexual para la

infección); estos se encuentran en altas concentraciones en aguas residuales crudas y otros tipos de muestras contaminadas con restos de heces (Jofre, 2007).

Es importante resaltar que, aunque a lo largo de los años, el número de genomas de fagos secuenciados ha aumentado constantemente (Kropinski, 2018), solo un número relativamente pequeño está bien caracterizado y clasificado taxonómicamente (Adriaenssens et al., 2018).

Actualmente, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus clasifica a los fagos caudovirales de *E. coli* en 37 géneros y 157 especies; sin embargo, no son clasificados como cepas de fagos, a menos que haya un porcentaje de igualdad $\geq 95\%$ en la secuencia de genoma al comparar con otros fagos (Adriaenssens y Brister, 2017). Estudios realizados por Korf et al. (2019) en los que se utilizó muestras de origen clínico, demostraron que, aunque los colifagos han sido estudiados por décadas, su diversidad es mucho mayor de lo que se cree, dado que, al realizar los análisis de secuencias de los fagos obtenidos, se encontró que no hubo similitud con los previamente descritos, hecho que permite confirmar su alta variabilidad genética y la facilidad de recombinación genética que existe en los procesos de transferencia horizontal y vertical de genes (Korf et al., 2019).

Otro aspecto fundamental es, entender cómo ocurre la interacción entre los fagos y *E. coli*. En este sentido, la interacción de los fagos con su receptor aislado puede conducir a la liberación de ADN del fago; pero, en otros casos, se requiere un segundo receptor para que se dé dicha liberación (Hantke, 2020).

Experimentalmente, en la mayoría de los estudios no se ha medido la liberación de ADN; únicamente se ha determinado la inactivación del fago por el receptor. Según lo descrito por Hantke (2020), hasta la fecha, se ha dado énfasis en los receptores de proteínas de fagos, cuyas funciones a menudo se aclaran mediante la caracterización de mutantes resistentes a estos, de manera que la resistencia se da por el cambio por mutaciones genéticas en uno o más aminoácidos de la secuencia proteica. No obstante, la situación es más complicada con los receptores que son polisacáridos, como los receptores de lipopolisacáridos (LPS) y el ácido colánico, ya que, una mutación en la biosíntesis de un determinado azúcar puede llevar a la presencia de un oligosacárido truncado o

incluso, a la pérdida de un polisacárido (Klein et al., 2011), una glucosil-transferasa faltante o una modificación de azúcares por fosforilación, generándose la resistencia a los fagos en *E. coli* (Firdich et al., 2003).

Henning y Jann (1979) lograron aislar los fagos TuII, TuIb y Tula usando las proteínas de la membrana externa de *E. coli*, OmpA, OmpC y OmpF (proteínas de membrana externa), respectivamente, las cuales son porinas no-específicas de la membrana externa que transportan sustancias de bajo peso molecular (menores a 600 Da), las cuales son usadas por estos fagos en el proceso infectivo. Existen otros fagos que han utilizado como receptores a estas proteínas; algunos ejemplos son: K3 (OmpA LPS), MeI, PH51, PH105, PA2 (OmpC), SS1 (OmpC/LamB), T4 (OmpC LPS), K20 (OmpF LPS), TP1 (OmpF/LamB) y Ox2hl2hl.1 (OmpP “rare”) (Kaufmann et al., 1994; Hantke, 2020). Los estudios de los receptores de los fagos son realizados con cepas de mutantes de *E. coli* K-12, ya que estas se constituyen como las herramientas principales en el estudio genómico para los biólogos moleculares (Hantke, 2020).

Además de proteínas, existen otros compuestos como los LPS, que pueden funcionar como receptores de estos fagos. Algunos ejemplos de fagos que se adhieren a los LPS son: ϕ X174, P1, Mu G (+) y T4 (Washizaki, et al., 2016). Asimismo, lípidos como FadL, son receptores para los fagos T2, StxPhiI y StxPhiII (Watarai, et al., 1998) y el ácido colánico para el fago NST1 (Firozi, et al., 2010). Otros receptores caracterizados han sido los de tipo TonB, FepA TonB (“rare”) receptores de los fagos H8 e IME253 (Li et al., 2019), FhuA TonB receptores de T1, ϕ 80; FhuA receptor de T5, flagelo receptor de (Chi) (Samuel, et al., 1999); “*Inc-P pilus*” receptor de PRD1 (Eisenbrandt, 2000), entre otros. Se debe resaltar que, aunque todos estos receptores cumplen funciones específicas para la sobrevivencia de *E. coli*, no todas sus funciones han sido dilucidadas y, en ocasiones, se requiere de la presencia de más de un receptor, proteico o no, para que se dé el reconocimiento por parte de los fagos y posteriormente la infección (Hantke, 2020).

3.4 Uso de colifagos como bioindicadores de contaminación fecal en muestras de agua

Desde hace más de 40 años se ha propuesto que, los bacteriófagos de bacterias entéricas (origen intestinal) pueden actuar como indicadores víricos y de contaminación fecal de la calidad microbiológica de las

aguas (Martín-Díaz y Pascual-Benito, 2021). Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias y, por lo tanto, son inocuos (no virulentos) para la especie humana. Así, se le confiere un interés adicional a su uso como indicadores microbianos, por su seguridad para los analistas.

Los colifagos han sido confirmados y consolidados por las agencias nacionales e internacionales de salud, como los indicadores víricos más adecuados para el control microbiológico de las aguas y de los procesos de potabilización, tratamiento y reutilización de aguas, lodos y biosólidos (Jofre et al., 2016; Martín-Díaz et al., 2016; 2020; Jofre et al., 2021; Martín-Díaz y Pascual-Benito, 2021). Además, existe un consenso científico en cuanto a que, tanto los indicadores bacterianos como las bacterias coliformes y *Escherichia coli* no son parámetros adecuados para evaluar la calidad virológica del agua potable. En su lugar, es más apropiado utilizar colifagos (Health and Ecological Criteria Division, Office of Science and Technology, and Environmental Protection Agency, EPA, 2015); OMS (2017).

En consecuencia, los colifagos, como indicadores víricos han sido incluidos progresivamente en guías de la OMS (2017 y WHO, 2017), en normativas como la nueva directiva de la UE sobre agua potable, el reglamento de la UE (2020) sobre requisitos mínimos para la reutilización del agua y el agua regenerada para el riego agrícola o, también, en la valoración de procesos de higienización de lodos de depuradora de aguas en las normativas nacionales francesas (République Française, 2021; Martín-Díaz y Pascual-Benito, 2021).

Además, los bacteriófagos tienen características morfológicas similares a las de muchos virus patógenos entéricos, lo que sugiere que pueden imitar mejor su comportamiento en el medio ambiente y frente a los diferentes tratamientos del agua. En consecuencia, los análisis de los colifagos se han considerado sustitutos adecuados de la monitorización rutinaria y de control de los patógenos víricos, siendo, además, unos excelentes indicadores de contaminación fecal en muchos tipos diferentes de agua: agua potable, aguas residuales, agua regenerada y aguas recreativas, entre otras (Burbano-Rosero et al., 2011; Martín-Díaz y Pascual-Benito, 2021).

En este contexto, su uso como bioindicadores de contaminación fecal en medios acuáticos, tiene múltiples ventajas; los métodos usados

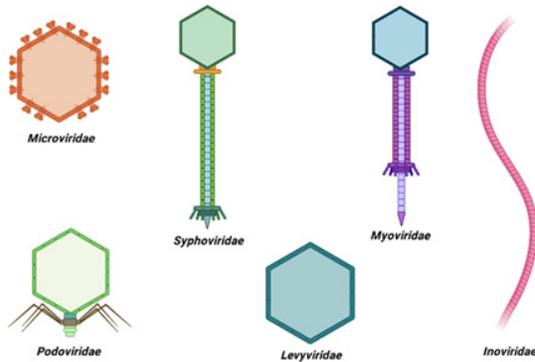
para su detección son relativamente fáciles, rápidos, rentables y muy confiables, dada su persistencia en el ambiente acuático y su resistencia a los tratamientos usados para inhibición de virus, que los hace buenos indicadores, con una amplia variedad de aplicaciones (Mendez et al., 2002). Adicionalmente, no se replican en un entorno natural, a menos que su hospedero esté presente y metabólicamente activo (Jofre, 2009; Toribio-Avedillo et al., 2021). No obstante, investigaciones sobre la sobrevivencia de los colifagos en los ecosistemas acuáticos, han mostrado que, mientras que los fagos son más resistentes al estrés ambiental que *E. coli*, estos siguen siendo sensibles a la temperatura, tratamientos químicos y salinidad (Allwood et al., 2003; Burbano-Rosero et al., 2011; Reyes y Jiang, 2010).

A nivel metodológico, uno de los beneficios adicionales de su manejo, es que las muestras de agua pueden ser conservadas a 4 °C durante, al menos 48 h, sin que se observe un cambio significativo en su número (Mendez et al., 2002) y, que las muestras de volumen pequeño, pueden mantener sus densidades de fagos durante meses, cuando son almacenadas a -20 °C u -80°C, después de la adición de glicerol a concentración final de 10 % (Mooijman, et al., 2005). Finalmente, factores como el 'estrés', 'lesión' y 'reactivación' que, con frecuencia conducen a una mala interpretación de los datos ambientales sobre bacterias indicadoras hasta donde se sabe, no son aplicadas para los bacteriófagos (Jofre et al., 2016).

Es importante considerar que, además de la contaminación fecal en muestras de agua por presencia de bacterias, los colifagos también pueden indicar contaminación viral, ya que los bacteriófagos que infectan a las bacterias en el intestino, se diseminan en el medio ambiente de manera similar a los patógenos virales entéricos y tienen destinos y patrones de supervivencia similares (McMinn et al., 2017). Por otra parte, las autoridades reguladoras, en diferentes partes del mundo, están comenzando a considerar a los colifagos como indicadores esenciales de la calidad del agua; algunos ejemplos de pautas regulatorias que involucran a los bacteriófagos incluyen los relacionados con la recuperación de agua (Casetext Inc., 2022) las aguas subterráneas (United States Environmental Protection Agency, 2006) y los biosólidos utilizados en agricultura, según los criterios para el uso de biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales (Decreto 1287 de 2014).

3.4.1 Colifagos somáticos

Los colifagos somáticos son un grupo heterogéneo de bacteriófagos que infectan a *E. coli* a través de la pared celular. Muchos de los más conocidos corresponden a las familias *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae* y *Microviridae* (Figura 3.2) (Muniesa, 1999); son detectados en las cepas hospederas y son recomendados como métodos estándar, ya que han sido ubicados en aguas residuales municipales (Jofre, 2016).



En la figura 3.2 se puede observar los esquemas generales de algunas familias de bacteriófagos que se encuentran en muestras de agua.

Las figuras 3.3 a 3.5 muestran las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de transmisión (MET) de las diferentes familias de colifagos somáticos encontradas en las muestras de agua.

Figura 3.2 Esquemas generales de algunas de las familias de bacteriófagos que se encuentran en muestras de agua

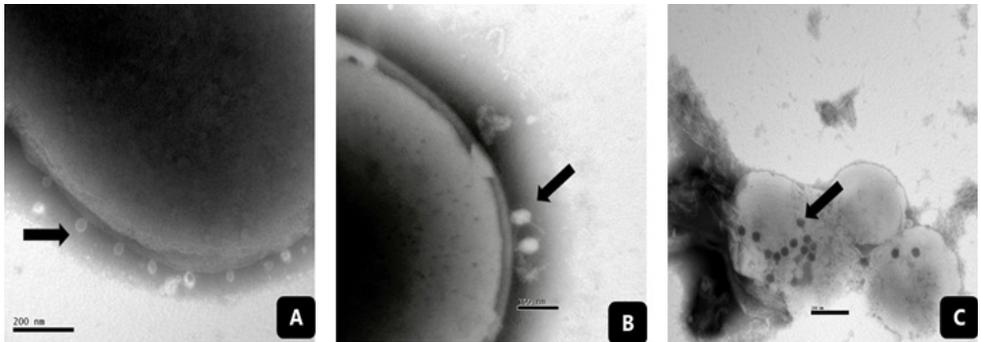


Figura 3.3 Microscopía electrónica de transmisión (MET) de colifagos somáticos infectando *Escherichia coli*. Tinción negativa con fosfotungstato de potasio

Nota: Observación realizada en el microscopio electrónico JEOL EM1011 aumento 150.000X 60V de la Sección de Microscopía Electrónica del Instituto Adolfo Lutz, Brasil. **A.** Adhesión de los colifagos somáticos a la pared de la célula bacteriana. **B.** Reconocimiento e infección. **C.** Proliferación del fagos y lisis bacteriana.

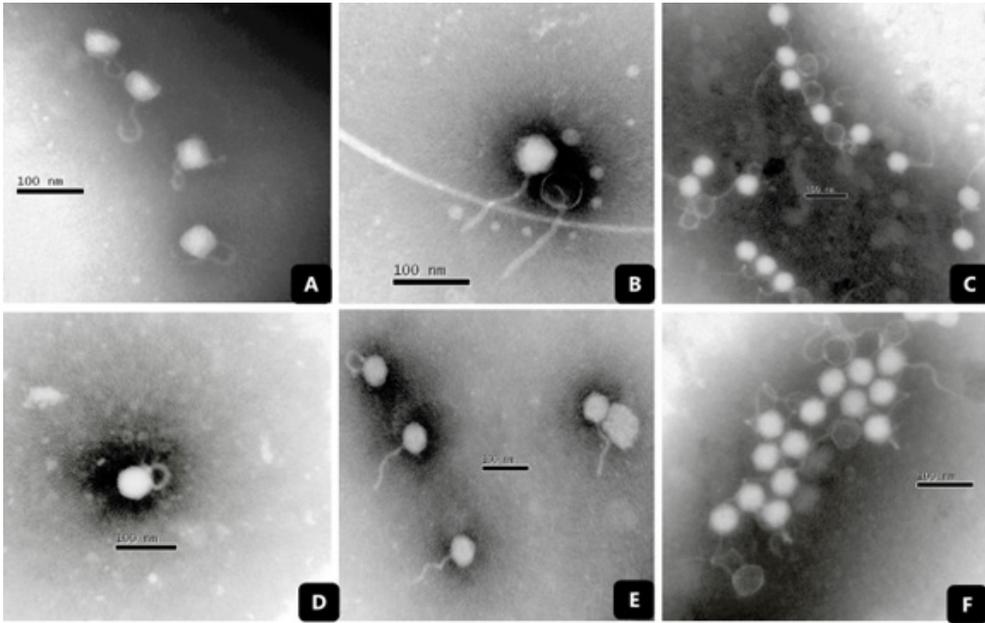


Figura 3.4 Microscopía electrónica de transmisión (MET) de colifagos somáticos de la Familia Siphoviridae (A-D) tipo T1. Tinción negativa con fosfotugstanato de potasio

Nota: Observación realizada en el microscopio electrónico JEOL EM1011 aumento 150.000X 60V. Análisis realizado en la Sección de Microscopía Electrónica del Instituto Adolfo Lutz, Brasil. **B, C, E y F** muestran caudas o colas largas desenrolladas. **A y D** caudas en forma de anillo. Los colifagos fueron aislados de agua de mar.

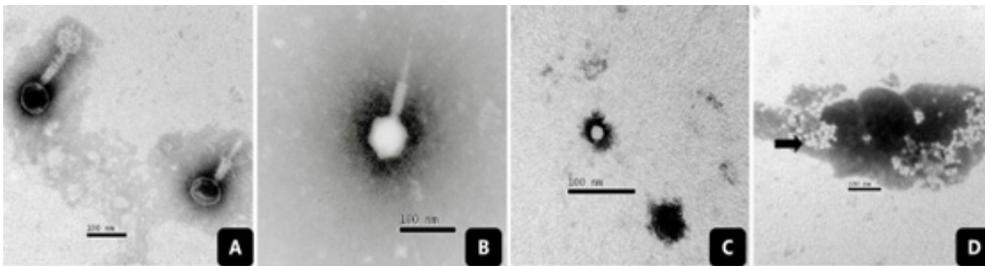


Figura 3.5 Microscopía electrónica de transmisión (MET) de colifagos somáticos de las Familias Podoviridae y Myoviridae. Tinción negativa con fosfotugstanato de potasio

Nota: Observación realizada en el microscopio electrónico JEOL EM1011 aumento 150.000X 60V. Análisis realizado en la Sección de Microscopía Electrónica del Instituto Adolfo Lutz, Brasil. **A y B**. Colifagos somáticos de la Familia Myoviridae (tipo YerA41) aislados de muestras de agua de mar (Baixada Santista-Brasil). **B y C**. Colifagos somáticos de la familia Microviridae (tipo X ϕ 174), aislados de muestras de plancton (Sao Sebastião-Brasil), en D la flecha indica la infección masiva de los fagos en células de *E. coli*

3.4.2 Bacteriófagos F-específicos

Los bacteriófagos F-específicos son conocidos como colifagos sexuales o bacteriófagos '*male-specific*', ya que infectan a las bacterias por medio de su pili sexual. Los bacteriófagos F-específicos contienen ARN y se componen de una cápside simple, con simetría cúbica y un diámetro de entre 21 y 30 nm. Contienen una cadena de ARN sencilla como genoma. Este grupo pertenece a la familia *Leviviridae* que contiene dos géneros: *Levivirus* y *Allolevirus*, además de otros tres grupos menores no clasificados (Fauquet et al., 2005). La figura 3.6 muestra la imagen tomada por microscopía electrónica (MET) de dos ejemplos de Bacteriófagos F-específicos (Jofre et al., 2016).

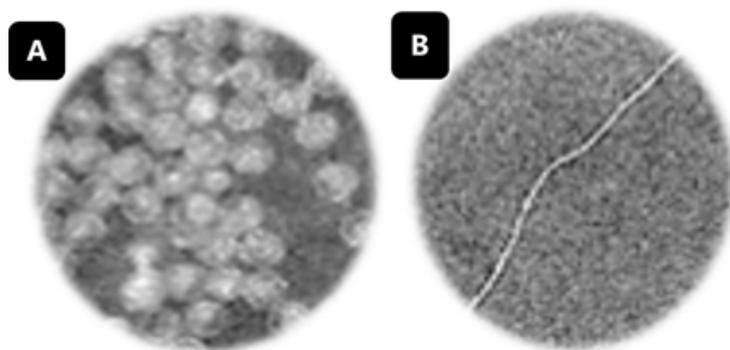


Figura 3.6 Bacteriófagos F-específicos observados por microscopía electrónica de transmisión -Tinción negativa. A. *Leviviridae*, B. *Inoviridae*

El género *Levivirus* contiene los subgrupos I y II, mientras que el *Allolevirus* contiene los subgrupos III y IV. Una caracterización genómica posterior ha establecido que, los subgrupos coinciden con los serotipos (Muniesa et al., 2012), al menos en efectos prácticos. Otro de los bacteriófagos F-específicos son los bacteriófagos de ADN en forma de bastón de la familia *Inoviridae*.

Es fundamental resaltar que ambos grupos de colifagos se encuentran en cantidades significativas en aguas residuales municipales, así como en lodos y estiércol de animales en todo el mundo. También vale la pena señalar que, ni los colifagos somáticos ni los F-específicos muestran variación estacional en fuentes de contaminación o aguas superficiales (Zhang y Farahbakhsh, 2007; Haramoto et al., 2015).

3.5 Ciclo viral

Una vez el proceso de infección viral en la célula hospedera ha sido llevado a cabo por completo, se da la producción de viriones descendientes. Cuando el fago virulento infecta una célula, los resultados son siempre los mismos: los genes de los fagos captan la maquinaria celular de su hospedero y la transforman en una fábrica para la producción de nuevos fagos (Hendrix, 2002). Es así como el ADN de los fagos es replicado, nuevas partículas virales (viriones) son ensambladas y, las células son lisadas, liberando entre 100 y 200 fagos como progenie al medio (Casjens y Hendrix, 2015).

Los procesos de penetración en la célula bacteriana varían dependiendo de la familia de fagos. En general, el fago de la familia *Myoviridae* inserta su material genético en la célula bacteriana mediante el uso de su cauda o cola (Jofre y Muniesa, 2020) (Figura 3.7). Después del reconocimiento del receptor, de forma reversible, la partícula de fago une su base con la superficie bacteriana, utilizando la flexión de sus fibras de la cola; el fago se toma su tiempo para fortalecer la unión con el receptor y hacerla irreversible (Rakhuba, 2010). Posteriormente, ocurre la contracción de la cola del fago con ayuda de ATP y se da el proceso de inyección de su material genético (León y Bastías, 2015).

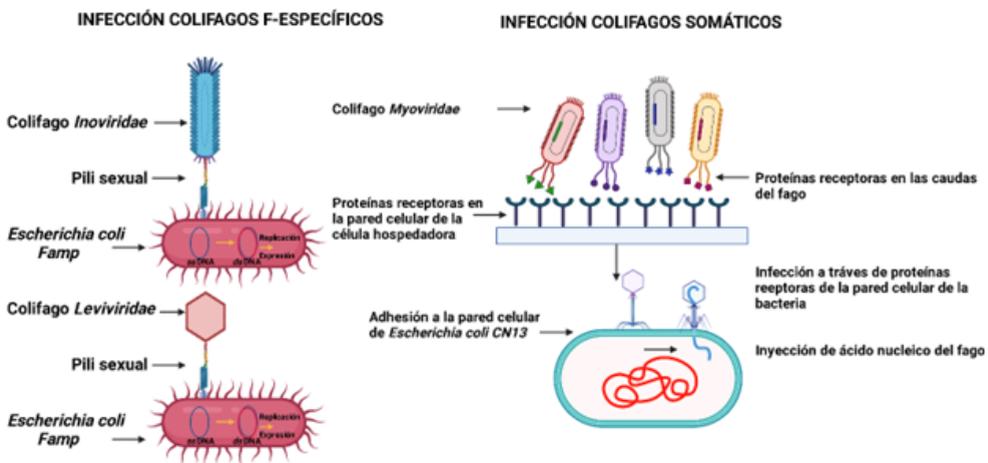


Figura 3.7 Comparación de la infección de los colifagos somáticos y los F específicos

Nota: Los colifagos F-específicos infectan a la célula hospedera a través del factor F, mientras que los colifagos somáticos lo hacen mediante la interacción de la pared celular de la célula bacteriana

En el caso del fago de la familia *Podoviridae*, el cual carece de cauda, antes de insertar su material genético en la célula hospedera, realiza una degradación enzimática en una porción de su membrana celular, utilizando sus pequeñas fibras de la cola en forma de diente (Rakhuba, 2010; Brown et al., 2013). Con la inserción del material genético del fago ocurren dos posibles ciclos de vida: ciclo lítico o ciclo lisogénico, los cuales serán descritos a continuación.

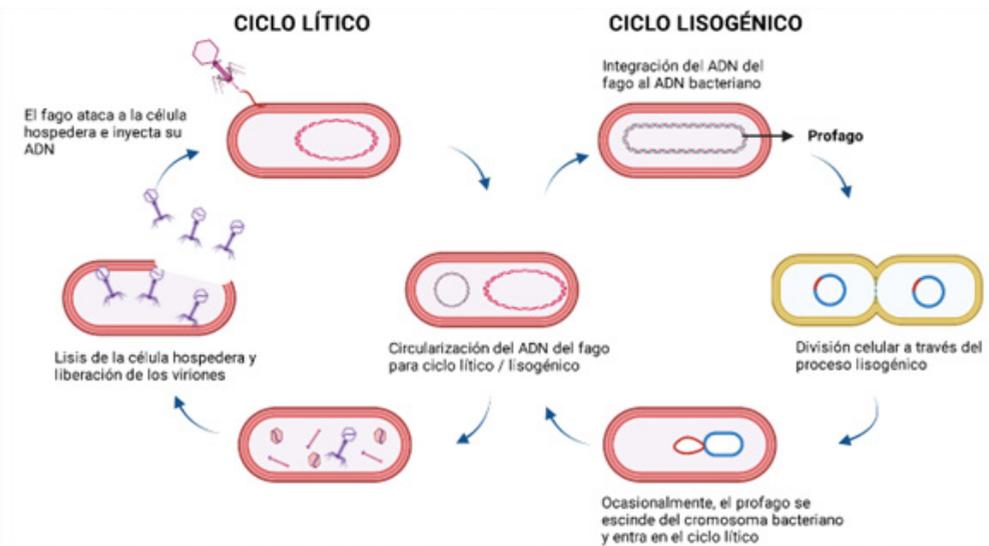


Figura 3.8 Ciclo lítico / lisogénico de un bacteriófago

Esquema comparativo de los principales ciclos de infección que tienen los bacteriofagos, ciclo lítico y ciclo lisogénico

3.5.1. Ciclo lítico

Los fagos que se encuentran en su fase lítica son denominados fagos virulentos. Durante el ciclo lítico, la lisis o muerte de la bacteria hospedera ocurre cuando el fago se multiplica ampliamente dentro de esta. El aumento en el número de fagos ocasiona la ruptura de la membrana bacteriana y la liberación de las nuevas partículas de fago (Figura 3.8). En detalle, una vez se da la interacción que involucra los complejos proteicos de los fagos y se inyecta el material genético (ADN o ARN) (Karlsson et al., 2003), si las condiciones ambientales son las adecuadas, durante los primeros 10 minutos son expresados los genes tempranos del fago. Estos genes codifican para proteínas responsables de la replicación del

ADN, reparo y recombinación; las proteínas que tienen funciones reguladoras y otras proteínas también son expresadas tempranamente, para facilitar la sobrevivencia del fago, ya que estas pueden contrarrestar las enzimas de restricción de la célula hospedera (Hendrix, 2002).

No obstante, si el virus es de ADN, las moléculas se transcriben en moléculas de ARNm (ARN mensajero) directamente, que luego se utilizan para manejar los ribosomas de la célula hospedera (Jofre y Munnies, 2020); pero, si el virus es de ARN (retrovirus), se requiere de una transcriptasa inversa para transcribir el ARN a ADN, la cual se halla asociada al material genético del fago. Una vez transcrito el ARN a ADN, se hace posible continuar con el proceso, como lo realizan los virus de ADN (Figura 3.8) (Madigan y Martinko, 2006).

Entre 10 y 12 minutos después de la infección, se inicia la expresión de los genes tardíos, necesarios para sintetizar la estructura del virión. La expresión continúa a amplia escala hasta llegar a la lisis celular, que ocurre en aproximadamente 50 min. (Casjens y Hendrix, 2015).



Figura 3.9 Unidades Formadoras de Placas (UFP) de colifagos somáticos aislados de muestras de agua de mar de la Baixada Santista-Brasil. A. Enumeración de colifagos em agar TSA (tripticasa de soya) modificado usando la técnica de APHA, 1998. B. Titulación de los fagos para extracción de DNA. C. Procedimiento de propagación de los colifagos para observación por MET.

Cada partícula recién formada continúa infectando nuevas células hospederas y, posteriormente, prolifera, iniciando un nuevo ciclo de replicación (Figura 3.8) (Madigan y Martinko, 2006). En algunos casos, en vez de empaquetarse el genoma del fago en la cápside viral, se empaqueta el cromosoma de la bacteria, produciéndose una transferencia horizontal de genes dentro de las poblaciones bacterianas, cuando los

virus replicados con esta característica participan en nuevos procesos infecciosos (Madigan y Martinko, 2006; Jofre y Muniesa, 2020).

3.5.2 Ciclo lisogénico

Existen dos eventos importantes que diferencian al ciclo lítico del ciclo lisogénico. En primer lugar, virtualmente, la expresión de todos los genes es silenciada en el ciclo lisogénico debido a la acción de una proteína represora; en ese sentido, el único gen del fago expresado en el proceso es el correspondiente a esta proteína (Hendrix, 2002). La represión ocurre cuando la proteína se une al costado de dos promotores asociados en el genoma bacteriano, haciendo que su expresión sea dependiente, directa o indirectamente, del fago, de manera que se mantiene la asociación entre los dos genomas y se da sobrevivencia de la célula hospedera (Aubrey et al., 1992).

En comparación con el ciclo lítico, la fase lisogénica es exhibida solamente por fagos temperados (Campbell y Reecy, 2005). Como resultado, el material genético del fago es integrado con el material genético de la célula bacteriana, lo que se conoce como profago, siendo éste, el segundo evento relevante en ciclo lisogénico, y lo transmite a sus células hijas. Es así como se asegura la replicación continua del material genético viral sin consecuencias fatales para el organismo hospedero (Inal, 2003). Sin embargo, con la inserción del material genético viral en la célula hospedera, es muy común que haya cambios en el fenotipo bacteriano, como un aumento en la patogenicidad de estas (Keen, 2012). Otra importante consecuencia es que, la célula bacteriana adquiere inmunidad a la infección por fagos del mismo tipo al que se expuso durante este ciclo (Casjens y Hendrix, 2015).

Ocasionalmente, la proteína represora no se une al ADN de la célula bacteriana. En estos casos, se induce nuevamente el ciclo lítico, este es un evento no muy común, en el que el material genético del fago es escindido del cromosoma de la bacteria y se procede con los demás eventos del ciclo lítico, en donde se crea una nueva progenie de virus que finalmente son liberados al medio cuando es lisada la célula bacteriana (Hendrix et al., 1999).

La tendencia del fago para producir ciclo lítico/lisogénico depende de tres genes: *cl*, *cII* y *cIII*. El gen *cl* es responsable de codificar la

proteína represora, frecuentemente llamada ‘represor CI’ o ‘proteína CI’ (Reichardt, 1975). La decisión del tipo de ciclo depende específicamente de qué tan rápido se puede asociar esta proteína a los operadores de la célula bacteriana, ya que una vez es activado el ciclo lítico, el proceso es irreversible (Casjens y Hendrix, 2015). La producción del represor CI está determinada por cuánta proteína CII se encuentra disponible, teniendo en cuenta que la proteína CIII tiene una función auxiliar en el proceso (Brödel et al., 2017).

3.6 Ecología de los fagos

La ecología se define como el estudio de las interacciones entre los organismos y sus ambientes, los cuales son directamente afectados por aspectos bióticos y abióticos. De acuerdo con lo descrito por Abedon (2009), la ecología de los fagos puede describirse en términos de seis énfasis principales: **(1)** la supervivencia individual de los fagos; **(2)** el potencial del fago para reproducirse; **(3)** el impacto patológico del fago sobre la bacteria; **(4)** el impacto del fago en la diversidad bacteriana; **(5)** el impacto de los fagos en organismos no hospedadores, incluidos los eucariotas; y, **(6)** el impacto del fago en el mundo abiótico, aunque este último típicamente es formulado en términos biogeoquímicos, referente al número de fagos y su diversidad en hábitats naturales (Abedon, 2009).

Existen varias subdisciplinas empleadas por los ecólogos para el estudio de los fagos; entre estas, se incluye: **ecología fago organismal**, relacionada con el estudio de la reproducción de los fagos y su supervivencia y depende de la competencia fago-fago dependientes de las condiciones ambientales (Turner y Duffy, 2008); **ecología de la comunidad de fagos**, estudiada desde la perspectiva de la interacción entre poblaciones de fagos y poblaciones de bacterias hospedadoras, incluso en términos de coevolución fago-hospedador o inter-especies (Merril, 2008); ecología del sistema de fagos, la cual considera el impacto de los fagos en el ciclo de los nutrientes dentro de los ecosistemas, así como el flujo de energía a través de estos (Suttle, 2007); la **ecología evolutiva** es el estudio de cómo los organismos responden y han respondido evolutivamente a los entornos selectivos en los que viven (Villarreal y DeFilippis, 2000).

En cuanto la ecología evolutiva de los fagos, estos, como organismos relativamente simples, se diferencian por caracteres que pueden estar

asociados con la **adsorción** (una porción pre-reproductiva del ciclo de vida del fago), **infección** (comprende la porción reproductiva del ciclo de vida del fago, así como algunos de la pre-reproductiva) o, el número total de progenie producida (que es la fecundidad) (Lambrechts et al., 2006). El impacto de los fagos en su entorno (su ecología) se debe casi exclusivamente, a los intentos de los fagos de adsorber bacterias (incluyendo su movimiento como fagos libres), la infección de estas células y su producción (y liberación) de la progenie del fago (Abedon, 2009).

Los ambientes, a su vez, pueden afectar las funciones moleculares de los fagos, lo que resulta en lo que puede describirse como la plasticidad fenotípica de un organismo (variación en fenotipo en función de las variables ambientales) y, la plasticidad, que se puede evaluar en términos de cambios en los caracteres de la historia de vida de los fagos (Abedon, 2009). Un ejemplo de la influencia ambiental es que, en un ambiente bajo en nutrientes, los fagos pueden presentar menor tamaño (Hadas et al., 1997) o, pueden ser incapaces de replicarse (Hyman y Abedon, 2009); de igual manera, a través de la selección natural, los entornos afectan las adaptaciones moleculares de los fagos (Kerr et al., 2008).

Los fagos suelen encontrarse y transmitirse en entornos terrestres y acuáticos, aunque pueden recuperarse en cualquier entorno donde estén presentes sus hospederos bacterianos (Weinbauer, 2004; Abedon, 2009). Si bien, han pasado más de 40 años desde que los bacteriófagos fueron propuestos por primera vez como indicadores, la ecología de los colifagos en el medio natural sigue siendo pobremente entendida, probablemente por la gran diversidad genética que estos microorganismos contienen y por la versatilidad de recombinación.

3.7 Aspectos asociados a la virulencia

Los fagos desempeñan un papel crítico en el control de las poblaciones bacterianas a través de la muerte mediada por fagos, así como a través de la formación de lisógenos bacterianos. De esta forma, la supervivencia del fago depende de la supervivencia del hospedero bacteriano en el que reside (Abedon, 2009).

Por lo tanto, es ventajoso que los fagos codifiquen genes que contribuyan al *fitness* bacteriano y amplíen el nicho ambiental. En muchos casos, estos factores de *fitness* también hacen que las bacterias sean más

capaces de sobrevivir en infecciones humanas y, en consecuencia, son considerados factores de patogenicidad o virulencia. Se ha demostrado que, los genes que codifican estos factores de *fitness* a través de una amplia gama de mecanismos son conocidos como ‘morons’ y representan un papel importante en las enfermedades bacterianas. El estudio de Taylor et al. (2019) describe los beneficios proporcionados por los fagos en varios aspectos de la vida bacteriana, incluida la resistencia a los fagos y antibióticos, la motilidad, la adhesión y el *quórum sensing*.

En una célula bacteriana, la expresión de proteínas, incluidos los factores de virulencia, están estrictamente regulados. Las bacterias pueden lograr esto por la expresión de proteínas reguladoras de la transcripción y reguladores postranscripcionales (Van Assche et al., 2015). Curiosamente, también los bacteriófagos han desarrollado una amplia gama de reguladores y, de esta manera, parecen poder modificar la regulación de la virulencia bacteriana (Altuvia et al., 2018). El fenotipo bacteriano puede ser controlado tanto por profagos completos, así como por proteínas reguladoras codificadas por profago y ARN reguladores (Argov et al., 2017; Schroven et al., 2021).

La Tabla 3.1 condensa el efecto de los profagos sobre la sobrevivencia bacteriana, mencionando los genes implicados y la bacteria donde el fenómeno fue observado.

Tabla 3.1

Resumen del efecto de los profagos sobre la virulencia bacteriana. Se enumera las bacterias, el profago, el gen del fago correspondiente y el efecto observado sobre la virulencia bacteriana

Bacteria	Profago	Gen codificado por el fago	Efecto sobre la virulencia bacteria	Referencias
Secreción de toxinas				
<i>Vibrio cholera</i>	CTXφ	Ctx	Producción de toxina colérica	Fujii et al. (1988); Waldor y Mekalanos (1996); Karaolis et al. (1999)

Bacteria	Profago	Gen codificado por el fago	Efecto sobre la virulencia bacteria	Referencias
<i>Clostridium botulinum</i>	CE β , DE β	<i>Ci, D</i>	Producción de toxina botulínica	Sakaguchi et al. (2005); Fortier (2017)
<i>Escherichia coli</i>	933W, H-19B	<i>stx1, stx2</i>	Producción de Shiga toxina	Fortier and Sekulovic (2013)
<i>Staphylococcus aureus</i>	80 α	<i>Tst</i>	Síndrome de shock tóxico Producción de toxin-1	Lindsay et al. (1998)
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	β -phage	<i>cdtA, cdtB</i>	Producción de toxina diftérica	Freeman (1951); Gill, Uchida y Singer (1972)
<i>Clostridium difficile</i>	Profago antiguo	<i>tcdA, tcdB</i>	Producción de toxinas TcdA y TcdB	Fortier (2018)
	PhiSemix9P1	<i>Cdt</i>	Producción de toxinas CDTa y CDTb	Riedel et al. (2017)
Envoltura bacteriana				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	D3	<i>Iap</i>	Reducción de la longitud de la cadena O por inhibición de la alfa polimerasa de la célula hospedera	Taylor et al. (2019)
<i>Salmonella enterica serovar Typhimurium</i>	ϵ 15	22	Reducción de la longitud de la cadena O por inhibición de la alfa polimerasa de la célula hospedera	Kropinski et al. (2018)

Bacteria	Profago	Gen codificado por el fago	Efecto sobre la virulencia bacteria	Referencias
<i>Salmonella enterica serovar Typhimurium</i>	P22	<i>Gtr</i>	Adición de unidades de glucosa a la cadena O	Davies et al. (2013)
<i>Escherichia coli</i>	Sp5	Desconocido	Flagelina para la downregulation	Mitsunaka, Sudo y Sekine (2017)
<i>Escherichia coli</i>	phi4	<i>EC958_1546</i>	Aumento de la expresión de flagelina	Kakkanat et al. (2017)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	JBD26	Desconocido	Mecanismo de inhibición pili Tipo IV	Bondy-Denomy et al. (2016)
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	PHB09	Fago entero	Reducción de la motilidad debido a la interrupción del pilB	Chen et al. (2020)
Infectividad bacteriana				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pf4	Fago entero	Adhesión de las células bacterianas a la mucina.	Webb y Kjelleberg (2004); Secor et al. (2017)
<i>Neisseria meningitidis</i>	φMDA	Fago entero	Adhesión de las células bacterianas a las células epiteliales	Bille et al. (2017)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pf	Fago entero	Reducción de la inflamación y la fagocitosis.	Secor et al. (2020)
<i>Staphylococcus mitis</i>	φSM1	<i>PblA, PblB</i>	Mediación de la interacción bacteriana con plaquetas.	Mitchell et al. (2007)

Bacteria	Profago	Gen codificado por el fago	Efecto sobre la virulencia bacteria	Referencias
<i>Enterococcus faecalis</i>	pp1, pp4, pp6	<i>EF0348, EF2001, EF2811, EF2813</i>	Mediación de la adherencia a plaquetas	Matos et al. (2013)
<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i>	Fels-2	<i>STM2699</i>	Interacción de las células bacterianas con el receptor de espectrina eucariota	Shah et al. (2014)
<i>Vibrio cholera</i>	CTX ϕ	<i>Tcp</i>	Expresión de pili corre regulados por toxinas	Karaolis et al. (1999)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ϕ SP β	<i>sasX</i>	Expresión de una proteína de superficie que promueve la adherencia bacteriana a las células epiteliales	Mulcahy y McLoughlin (2016)
<i>Salmonella enterica</i>	Gifsy-1	<i>gogB</i>	Aumento de la respuesta inflamatoria, aumento del daño tisular y aumento de la colonización bacteriana	Pilar et al. (2012)
<i>Salmonella enterica</i>	Gifsy-1	<i>sarA</i>	Disminución de la producción de especies reactivas de oxígeno por parte de los macrófagos.	Jaslow et al. (2018)

Bacteria	Profago	Gen codificado por el fago	Efecto sobre la virulencia bacteria	Referencias
<i>Clostridium difficile</i>	φCD38-2	<i>cwpV</i>	Aumento de la agregación de células bacterianas	Reynolds et al. (2011)
<i>Staphylococcus aureus</i>	CC398	Desconocido	Aumento de la expresión de proteínas de unión a fibronectina	Laumay et al. (2019)
Regulación de la virulencia bacteriana				
<i>Staphylococcus aureus</i>	φ13	Fago entero	Pérdida de producción de toxina β debido a la interrupción de <i>hly</i>	Coleman et al. (1991)
<i>Listeria monocytogenes</i>	φ10403S	Fago entero	Interrupción del gen <i>comK</i>	Rabinovich et al. (2012)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PaP3	<i>70.1</i>	Inhibición estrés regulador RpoS	Zhao et al. (2016)
<i>Staphylococcus aureus</i>	φ11, φ80α	<i>cl</i>	Inducción del regulón SigB, que impacta en el desarrollo de la infección bacteriana	Fernández et al. (2018)
<i>Clostridium difficile</i>	PhiDHM1	<i>agrB, agrC, agrD</i>	Interferencia con el sistema quorum sensing	Hargreaves et al. (2014)
<i>Vibrio cholera</i>	VP882	<i>vqmA</i>	Interferencia con el sistema quorum sensing	Silpe y Bassler (2019)

Bacteria	Profago	Gen codificado por el fago	Efecto sobre la virulencia bacteria	Referencias
<i>Clostridium difficile</i>	φCD119	<i>repR</i>	Disminución de la expresión de la toxina β	Govind et al. (2009)
<i>Clostridium difficile</i>	φCD27	Desconocido	Disminución de la expresión de la toxina β	Meader et al. (2013)
<i>Clostridium difficile</i>	φCD38-2	Desconocido	Incremento en la expresión de la toxina β	Sekulovic et al. (2011)
<i>Clostridium difficile</i>	φCD2, φCD6, φCD8	Desconocido	Aumento de la expresión de la toxina β	Goh et al. (2005)
<i>Escherichia coli</i>		<i>Cro</i>	Sistema de secreción tipo tres de transcripción de activación	Hernandez-Doria y Sperandio (2018)
<i>Escherichia coli</i>	SpIE1	<i>esr41</i>	Aumento de la motilidad celular y resistencia frente a la colicina, atenuación de la captación de hierro	Sudo et al. (2014); Waters et al. (2017)
<i>Escherichia coli</i>	Sp5	<i>agxR</i>	Aumento de la absorción de hierro	Tree et al. (2014)
<i>Salmonella enterica serovar Typhimurium</i>	BTP1	<i>STnc6030</i>	Proporciona exclusión de superinfección	Owen et al. (2020)

Fuente: creación propia con base en Schroven et al., (2021)

Es esencial notar que, los fagos pueden contribuir a la diversidad biológica, a la variabilidad genética y a la diseminación de genes de virulencia a través de la inserción de genes reguladores, codificadores de lisinas, codificadores de adhesinas, proteínas como la actina y otras, que permiten alcanzar diferentes nichos y hospederos. Por lo tanto, es

tentador plantear la hipótesis de que esos fagos portan reguladores algunos caracterizados y otros aún no, que influyen en la expresión de factores que aumentan la capacidad de adherirse a las proteínas de la matriz extracelular y causar procesos infectivos (Laumay et al., 2019).

Los profagos afectan la virulencia bacteriana en diferentes niveles. Los profagos influyen en la virulencia del hospedero bacteriano en cuatro niveles: secreción de toxinas, modificación de la envoltura bacteriana, infectividad bacteriana y regulación celular bacteriana. Muchos fagos temperados portan genes que codifican exotoxinas y, por lo tanto, pueden transformar aislados bacterianos avirulentos en cepas patógenas (extremo superior izquierdo). En segundo lugar, los profagos pueden modificar la envoltura de la célula al cambiar la estructura del LPS de los flagelos y los pili tipo IV (T4P) (arriba a la derecha). Además, la infectividad bacteriana en el cuerpo humano puede verse alterada por fagos templados, ya sea mejorando la colonización de tejidos o mediante la mediación de la respuesta inmunitaria eucariota (extremo inferior izquierdo). En cuarto lugar, se ha demostrado que los profagos actúan como reguladores generales de las células bacterianas y, de esta manera, afectan la virulencia bacteriana, debido a los efectos de inserción, la proteína codificada por fagos y los reguladores de ARN (extremo inferior derecho).

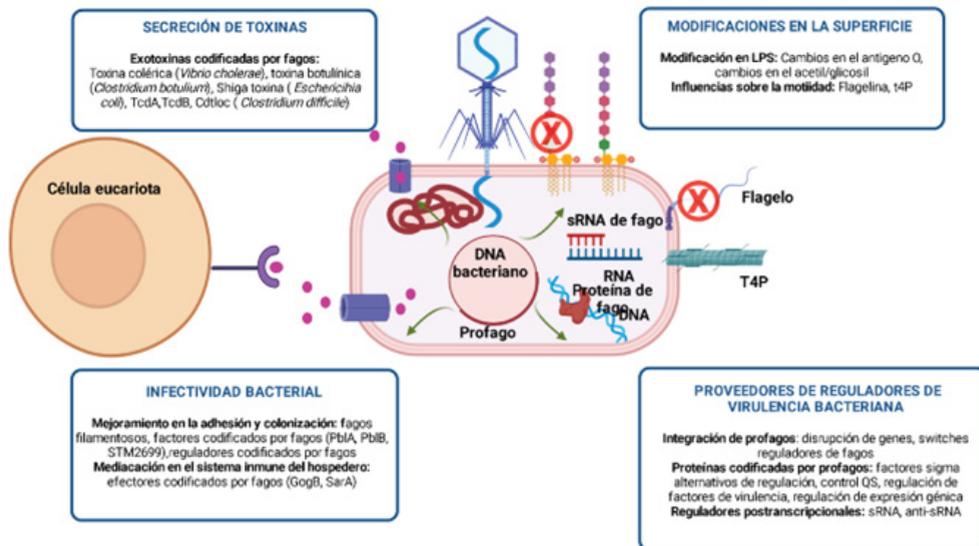


Figura 3.10 Afectación de los profagos en diferentes niveles

Posibles consecuencias de la infección por profagos en diferentes niveles.

Fuente: creación propia con base en Schroven et al. (2021)

3.8 Perspectivas de los bacteriófagos

En la última década, en la literatura internacional se encuentran reportes en los que se demuestra las diversas utilidades prácticas de los bacteriófagos (Domínguez, 2020).

De manera general, se puede observar aplicaciones a los fagos en diferentes áreas. Algunos ejemplos incluyen su uso como sistema modelo en varios campos de Biología Molecular (Ofir y Sorek, 2018), modificación genética de plantas y animales (Donnelly et al., 2015), desarrollo de vacunas (Xu et al., 2018), tecnologías de determinación de afinidad biológica de diferentes moléculas (Wang et al., 2018), biosensores bacterianos (Wang et al., 2016), control de patógenos en plantas (Haq et al., 2012), seguridad alimentaria y bio-conservación (Singh et al., 2013), diseño de fármacos, síntesis de nuevas proteínas, suministro de proteínas (Donnelly et al., 2015), detección de bacterias patógenas, y *'screening'* de bibliotecas de proteínas, péptidos o anticuerpos (Gao et al., 2015). Recientemente, una de las aplicaciones que ha atraído mayor interés es la terapia con fagos, en la que se aplica el uso clínico de fagos naturales o modificados, como antimicrobianos para el tratamiento de infecciones en seres humanos (Viertel et al., 2014; Harada et al., 2018). A continuación, se describirá en detalle algunas de estas aplicaciones:

3.8.1 Biosensores

Los biosensores son dispositivos que utilizan reacciones bioquímicas específicas mediadas por enzimas aisladas, sistemas inmunológicos, tejidos, organelos o células completas para detectar compuestos químicos, generalmente, por señales eléctricas, térmicas u ópticas (Turner y Newman, 1998; Jiménez y León, 2009; Kirsch et al., 2013). Los fagos, debido a sus particulares características biológicas, pueden ser explotados para identificación de bacterias, detección de patógenos y biocontrol (Hwang, 2014). En muchos casos, se realizan modificaciones genéticas a los fagos antes de aplicarlos; entre sus aplicaciones como biosensores se aprecia: anclaje químico, *'phage display'* (visualización de fagos), la cual utiliza la especificidad de los componentes de la superficie de la cápside para determinar diversidad de pequeñas moléculas (ej., proteínas, carbohidratos, lípidos); expresión de proteínas, péptidos, anticuerpos, antígenos en la superficie de los fagos para detección de

patógenos, obtención de imágenes y transporte de genes (Singh et al., 2013; Hwang, 2014; Chuang et al., 2015).

3.8.2 Aplicaciones de los fagos en agricultura y seguridad de los alimentos

La adición de antibióticos subterapéuticos a la alimentación de los animales destinados a la producción de alimentos para promover el crecimiento y prevenir enfermedades, se ha convertido en una práctica agrícola común en muchos países.

La aparición de patógenos resistentes a los antibióticos es una preocupación inminente asociada con el uso de antibióticos promotores del crecimiento (APC) en todo el mundo. Además, algunos estudios como el de Tamang et al. (2017) han demostrado que los APC pueden no solo afectar la resistencia a los antibióticos, sino que también, pueden estimular la diseminación de factores de virulencia a través de los bacteriófagos.

Aunque actualmente solo hay unos pocos estudios disponibles en la literatura sobre este tema, los APC afectarían la transmisión de factores de virulencia mediante la transferencia horizontal de genes a través de fagos en algunas especies de bacterias patógenas significativas para la producción ganadera (Tamang et al., 2017).

En diferentes cultivos, como tomate, cítricos y cebolla, se ha reportado el uso de fagos, con la finalidad de evadir infecciones; y, se ha desarrollado productos a base de fagos omnilíticos, por cuanto atacan a cualquier bacteria (Jones et al., 2014). Productos como el AgriPhage™ están siendo utilizados a gran escala para proteger los cultivos de una serie de enfermedades bacterianas, ya que existe un serio problema de resistencia a antimicrobianos en el área agronómica, y esta es una buena alternativa para resolverlo (Sharma, 2016).

Asimismo, han sido desarrollados productos similares para el tratamiento de alimentos (ej., LISTEX, Listshield™ Intralytix) que incluso, fueron avalados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) y, actualmente, son comercializados ampliamente (Meaden y Koskella, 2013; Wójcicki et al., 2019).

En el área de la acuicultura, también han sido aplicados en la lucha contra microorganismos resistentes, como sucede en la agronómica; la

finalidad principal es eliminar bacterias patógenas transmisibles a humanos, por el consumo de peces y tratamiento de patologías causadas por bacterias en estos organismos (Martínez-Díaz e Hipólito-Morales, 2013; Silva, 2014; Hosseini et al., 2021).

3.8.3 Fagos y resistencia a antibióticos

Entre los factores que contribuyen a la diseminación de la resistencia a los antibióticos, está: el uso y el mal uso de los antibióticos en la medicina, la agricultura y la acuicultura. La aparición y persistencia de bacterias resistentes a los antibióticos afecta el medio ambiente a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales, las escorrentías de granjas y mataderos, los efluentes de hospitales, las aplicaciones de estiércol y la acuicultura. Muniesa et al. (2013^a), propusieron un modelo para explicar la movilización de genes de resistencia a antibióticos por fagos en el medio ambiente. Estos investigadores propusieron que los fagos que albergan genes de resistencia a los antibióticos presentes en diferentes biomas ambientales se movilizan hacia bacterias comensales de biomas animales y humanos. De las bacterias comensales, los genes de resistencia a los antibióticos se transfieren a patógenos de la familia Enterobacteriaceae, como *Salmonella* y *E. coli* O157:H7.

Bajo la presión selectiva ejercida por los antibióticos, los genes de resistencia a los mismos se incorporan a los elementos genéticos móviles (EGM) y, continuarán su movilización a través de los biomas animales y humanos mediante la transferencia horizontal de genes. También, se desarrollarán a través de mutaciones puntuales (Muniesa et al., 2013b; Colavecchio et al., 2017). Además de este modelo, los patógenos transmitidos por los alimentos resistentes a los antibióticos pueden transferirse del ganado a los humanos a través de la carne mal cocinada y la contaminación cruzada (Centers for Disease Control and Prevention, 2002; Schneider et al., 2011; Colavecchio et al., 2017). El agua de riego y la aplicación de estiércol contaminan los cultivos, lo que también conduce a enfermedades transmitidas por los alimentos resistentes a los antibióticos. Finalmente, los genes de resistencia a los antibióticos regresan al medio ambiente a través de las aguas residuales urbanas y los efluentes de aguas residuales y, el ciclo comienza nuevamente (Figura 3.11). Si no se controla, este ciclo tiene el potencial de comprometer en gran medida la eficacia de la terapia con antibióticos (Colavecchio et al., 2017).

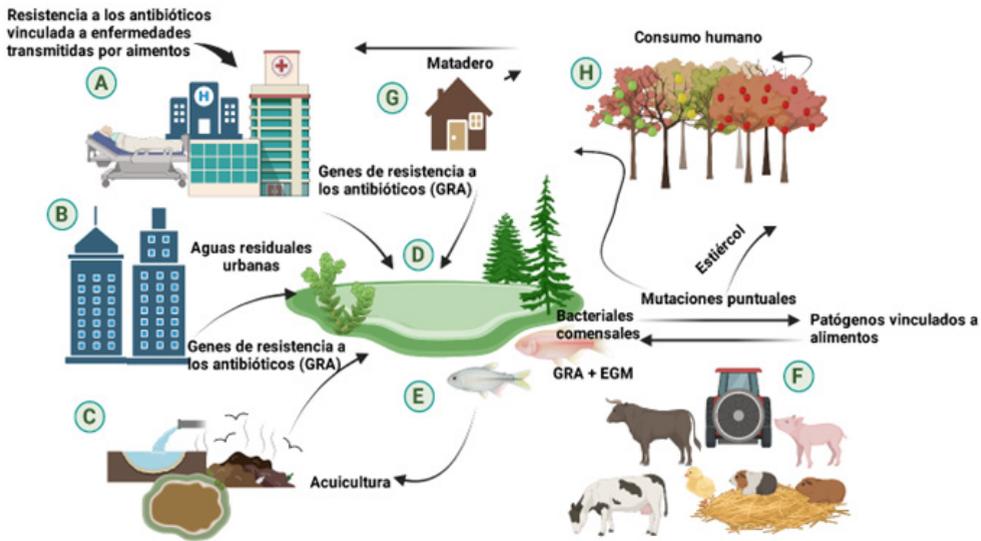


Figura 3.11 Ciclo de diseminación de genes de resistencia a antibióticos, desde el medio ambiente hasta el consumo humano. (A) Efluentes hospitalarios; (B) Alcantarillado urbano; (C) Efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales; (D) Cuerpos de agua como lagos y océanos; (E) Acuicultura; (F) Animales destinados a la producción de alimentos; (G) Matadero; (H) Aplicación de estiércol.

Fuente: creación propia adaptada de Muniesa et al. (2013a)

A pesar de estos estudios y, dada la ubicuidad, abundancia y resiliencia de los fagos y el papel del medio ambiente como reservorio, se debe considerar la contribución de la transducción a la propagación de la resistencia a los antibióticos, razón por la cual debe explorarse más a fondo, en estudios futuros (Colavecchio et al., 2017).

Además, evidencia razonable respalda la idea de que la transducción mediada por fagos es un factor que favorece la diseminación de la resistencia a los antibióticos. El control de la propagación de la resistencia a los antibióticos es una preocupación constante que debe abordarse para garantizar que la defensa contra las enfermedades infecciosas siga siendo eficaz (Colavecchio et al., 2017). Los estudios futuros también deberían abordar los métodos mediante los cuales se mitigaría la propagación de genes de resistencia a los antibióticos basada en fagos. En este sentido, varios estudios han demostrado que, los sistemas CRISPR-Cas transferibles por fagos son capaces de matar patógenos y volverlos a sensibilizar a los antibióticos (Bikard et al., 2014; Citorik et al., 2014).

Un estudio reciente de Yosef et al. (2015) utilizó fagos para administrar un (Cas) asociado a CRISPR para revertir la resistencia a los antibióticos y eliminar la transferencia de resistencia entre cepas. En lugar de matar directamente a los patógenos bacterianos, como en la terapia tradicional con fagos, las bacterias se volvieron a sensibilizar a los antibióticos a los que son resistentes. Si bien este trabajo representó una prueba de concepto, ya que solo los aislados bacterianos susceptibles al fago modificado genéticamente serían resensibilizados, este estudio demuestra el potencial para revertir la resistencia a los antibióticos mediante el uso de enfoques novedosos (Colavecchio et al., 2017).

3.8.4 Aplicaciones en el área médica

El incremento actual en la incidencia de resistencia antibiótica en las bacterias que afectan a los humanos ha favorecido el estudio de los fagos como alternativa terapéutica (fagoterapia). Los estudios previos habían demostrado la eficacia de estos elementos en las infecciones cutáneas e intestinales. No obstante, están en marcha diferentes ensayos clínicos para establecer la seguridad, reactogenicidad y eficacia terapéutica de múltiples fagos (Reina y Reina, 2018).

Si bien la idea de los usos terapéuticos de los fagos surgió desde su descubrimiento, con el descubrimiento de la penicilina, por un tiempo, quedaron de lado en los países occidentales (Summers, 2001). Aunque en los países orientales se ha trabajado con éxito en el área, hasta el momento no existe ningún tratamiento avalado por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) o la FDA, y el número de ensayos clínicos autorizados sigue siendo limitado hasta el momento (Viertel et al., 2014). Entre las aplicaciones que se proponen a futuro en esta área, se incluyen, tratamiento de infecciones del sistema auditivo, respiratorio, urinario, septicemias o bacteremias causadas por bacterias multirresistentes a antibióticos, para los cuales los ensayos clínicos fueron efectivos (Pirnay et al., 2018). Sin embargo, existen ciertas limitaciones sobre la aplicación de fagos, como la reducción de su actividad debida al desarrollo de anticuerpos, inducción de genes de toxinas y rápida descarga de endotoxinas bacterianas debido al efecto lítico de los fagos (Mathur et al., 2003).

En estos últimos años se ha documentado algunos impedimentos importantes para el uso de la fagoterapia (Figura 3.12). Una de las limitantes es que, al igual que la resistencia a los antibióticos, las bacterias

La figura 3.12 hace referencia a una descripción general de varias aplicaciones basadas en fagos y ejemplos que muestran el beneficio potencial y el aspecto ‘amigo’ de los bacteriófagos (lado izquierdo, fondo verde) en la lucha contra las cepas bacterianas resistentes a los antimicrobianos, así como algunos resultados potencialmente perjudiciales o asociados negativamente, que pueden contribuir al aspecto ‘enemigo’ del uso basado en fagos (lado derecho, fondo rojo) y, su papel en la adquisición, mantenimiento y diseminación de genes de resistencia antibacteriana.

Al ser elementos activos, los fagos deben someterse a rigurosos controles de calidad para asegurar la ausencia de efectos indeseables. La lisis bacteriana que provocan es de una magnitud inferior a la provocada por los antibióticos. Como problemas a resolver en el futuro están la posibilidad de utilizar mezclas de varios fagos, establecer la ruta idónea de administración y modificarlos genéticamente para que desactiven los genes de resistencia bacterianos (Reina y Reina, 2018).

3.9 Conclusiones del capítulo

- La transducción por bacteriófagos (fagos) es uno de los muchos mecanismos de transferencia horizontal de genes, que contribuye significativamente a la diseminación de genes relacionados con la resistencia a los antibióticos.
- Los bacteriófagos pueden influir en la abundancia, diversidad y evolución de las comunidades bacterianas. Se ha informado que varios bacteriófagos agregan factores de virulencia a su hospedero y aumentan la virulencia bacteriana. Sin embargo, los bacteriófagos líticos también pueden ejercer una presión selectiva que permite la proliferación de cepas con virulencia reducida.
- Sin embargo, aunque ha habido algunos informes, el papel de los bacteriófagos en la selección de cepas menos virulentas no ha sido estudiado en detalle. La información hasta ahora disponible y presentada en estudios como el de León y Bastías (2015) sugiere que los posibles cambios en la virulencia de las bacterias dependen del sistema específico del bacteriófago-hospedero. Por lo tanto, este fenómeno debe explorarse exhaustivamente, especialmente si se va a utilizar bacteriófagos en la terapia con fagos o en el desarrollo de vacunas.

- La preocupación mundial por las limitaciones del tratamiento de pacientes con procesos infecciosos causados por bacterias multidrogo-resistentes ha obligado a mirar la historia de los bacteriófagos, clásicamente, extrayéndolos de la bacteria causante de la infección, para utilizarlos como arma terapéutica. Sin embargo, se debe evaluar aún los alcances que este tipo de aplicaciones conlleva.

Referencias

- Abedon, S.T. (2009). Phage evolution and ecology. *Advances in Applied Microbiology*, 67, 1-45. 10.1016/S0065-2164(08)01001-0.
- Ackermann, H.-W. (2005). Bacteriophage classification. In Kutter, E., & Sulakvelidze, A. (Eds.). *Bacteriophages: Biology and Applications* (pp. 68-89). CRC Press, Boca Raton.
- Ackermann H.-W. (2007). 5500 Phages examined in the electron microscope. *Archives of Virology*, 152, 227-243. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0849-1>
- Ackermann H.-W. (2009). Phage classification and characterization. In Clokie M.R., & Kropinski, A.M. (Eds.). *Bacteriophages, Methods, and Protocols, vol 501*, (pp. 127-140). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_13
- Ackermann, H.-W., & Prangishvili, D. (2012). Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Archives of Virology*, 157(10), 1843-1849. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1383-y>
- Adriaenssens, E., & Brister, J. R. (2017). How to name and classify your phage: an informal guide. *Viruses*, 9(4), 70. 10.3390/v9040070
- Adriaenssens, E. M., Wittmann, J., Kuhn, J. H., Turner, D., Sullivan, M. B., Dutilh, B. E., Jang, H. B., van Zyl, L.J., Klumpp, J., Lobočka, M., Moreno, A. I., Rumnieks, J., Edwards, R. A., Uchiyama, J., Alfenas-Zerbini, P., Petty, N. K., Kropinski, A. M., Barylski, J., Gillis, A., ... Brister, J. R. (2018). Taxonomy of prokaryotic viruses: 2017 update from the ICTV Bacterial and Archaeal Viruses Subcommittee. *Archives of Virology*, 163, 1125-1129. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3723-z>
- Allwood, P. B., Malik, Y. S., Hedberg, C.W., & Goyal, S. M. (2003). Survival of F-specific RNA coliphage, feline calicivirus, and *Escherichia coli* in water: a comparative study. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9), 5707-5710. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5707-5710.2003>
- Altuvia, S., Storz, G., & Papenfort, K. (2018). Cross-regulation between bacteria and phages at a post-transcriptional level. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 10.1128/microbiolspec.RWR-0027-2018.
- Argov, T., Azulay, G., Pasechnek, A., Stadnyuk, O., Ran-Sapir, S., Borovok, I., Sigal, N., & Herskovits, A.A. (2017). Temperate bacteriophages as regulators of host behavior. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 81-87. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.05.002>
- Aubrey, K. L., Casjens, S. R., & Thomas, G. J. Jr. (1992). Secondary structure and interactions of the packaged dsDNA genome of bacteriophage P22 investigated by Raman difference spectroscopy. *Biochemistry*, 31(47), 11835-11842. 10.1021/bi00162a023.
- Bikard, D., Euler, C. W., Jiang, W., Nussenzweig, P. M., Goldberg, G. W., Duportet, X., Fischetti, V. A., & Marraffini, L. A. (2014). Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nature Biotechnology*, 32(11), 1146-1150. <https://doi.org/10.1038/nbt.3043>

- Bille, E., Meyer, J., Jamet, A., Euphrasie, D., Barnier, J.-P., Brissac, T., Larsen, A., Pelissier, P., & Nassif, X. (2017). A virulence-associated filamentous bacteriophage of *Neisseria meningitidis* increases host-cell colonisation. *PLoS pathogens*, *13*(7), e1006495. [10.1371/journal.ppat.1006495](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006495)
- Bohannan, B. J., & Lenski, R. E. (1999). Effect of prey heterogeneity on the response of a model food chain to resource enrichment. *The American Naturalist*, *153*, 73-82. <https://doi.org/10.1086/303151>
- Boyd, E. F. (2012). Bacteriophage-encoded bacterial virulence factors and phage-pathogenicity island interactions. *Advances in Virus Research*, *82*, 91-118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00014-5>
- Bondy-Denomy, J., Qian, J., Westra, E. R., Buckling, A., Guttman, D. S., Davidson, A. R., & Maxwell, K. L. (2016). Prophages mediate defense against phage infection through diverse mechanisms. *The ISME journal*, *10*(12), 2854-2866.
- Breitbart, M., (2012). Marine viruses: truth or dare. *Annual Review of Marine Science*, *(4)*, 425- 448 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22457982/>
- Brödel, A. K., Jaramillo, A., & Isalan, M. (2017). Intracellular directed evolution of proteins from combinatorial libraries based on conditional phage replication. *Nature Protocols*, *12*(9), 1830-1843. [10.1038/nprot.2017.084](https://doi.org/10.1038/nprot.2017.084).
- Brown, S., Maria, J. P., & Walker, S. (2013). Wall teichoic acids of grampositive bacteria. *Annual Review of Microbiology*, *67*, 313-336. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155620>
- Brussow, H., Canchaya, C., & Hardt, W.-D. (2004). Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *(68)*, 560-602. [10.1128/MMBR.68.3.560c5an01769f](https://doi.org/10.1128/MMBR.68.3.560c5an01769f).
- Burbano-Rosero, E. M., Ueda-Ito, M., Kisielius, J. J., Nagasse-Sugahara, T. K., Almeida, B. C., Souza, C. P., Markman, C., Martins, G. G., Albertini, L., & Rivera, I. N. (2011). Diversity of somatic coliphages in coastal regions with different levels of anthropogenic activity in São Paulo State, Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(12), 4208-4216. <https://doi.org/10.1128/AEM.02780-10>
- Campbell, N. A., & Reece, J. B. (2005). *Biology*. Pearson Benjamin Cummings.
- Casetext Inc. (2022). 15A N.C. Admin. Code 2U.0101. *Current through Register*, *36*(16).
- Casjens, S. R., & Hendrix, R. W. (2015). Bacteriophage lambda: early pioneer and still relevant. *Virology*, *310*-330. [10.1016/j.virol.2015.02.010](https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.010)
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2002). Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Newport--United States, January-April 2002. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, *51*(25), 545-548.
- Chen, Y., Yang, L., Yang, D., Song, J., Wang, C., Sun, E., Gu, C., Chen, H., Tong, Y., Tao, P., & Wu, B. (2020). Specific integration of temperate phage decreases the pathogeni-

- city of host bacteria. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00014>
- Christin, J. R., & Beckert, M. V. (2016). Origins and applications of CRISPR-mediated genome editing. *The Einstein Journal of Biology and Medicine, EJBM*, 31(1-2), 2-5. <https://doi.org/10.23861/EJBM201631754>
- Chuang, C.-H., Wu, T.-F., Chen, C.-H., Chang, K.-C., Ju, J.-W., Huang, Y.-W., Nhan, V. V., (2015). Lab on a chip for multiplexed immunoassays to detect bladder cancer using multifunctional dielectrophoretic manipulations. *Lab on a Chip*, (14), 3056-3064. <https://doi.org/10.1039/C5LC00352K>
- Citorik, R. J., Mimee, M., & Lu, T. K. (2014). Sequence-specific antimicrobials using efficiently delivered RNA-guided nucleases. *Nature Biotechnology*, 32(11), 1141-1145. <https://doi.org/10.1038/nbt.3011>
- Clokic, M. R., Millard, A. D., Letarov, A. V., & Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage*, 1(1), 31-45. <https://doi.org/10.4161/bact.1.1.14942>
- Colavecchio, A., Cadieux, B., Lo, A., & Goodridge, L. D. (2017). Bacteriophages contribute to the spread of antibiotic resistance genes among foodborne pathogens of the *Enterobacteriaceae* Family - A Review. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1108. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01108>
- Coleman, D., Knights, J., Russell, R., Shanley, D., Birkbeck, T. H., Dougan, G., & Charles, I. (1991). Insertional inactivation of the Staphylococcus aureus β -toxin by bacteriophage ϕ 13 occurs by site and orientation specific integration of the ϕ 13 genome. *Molecular microbiology*, 5(4), 933-939. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1991.tb00768.x>
- Davies, M. R., Broadbent, S. E., Harris, S. R., Thomson, N. R., & van der Woude, M. W. (2013). Horizontally acquired glycosyltransferase operons drive salmonellae lipopolysaccharide diversity. *PLoS genetics*, 9(6), e1003568. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003568>
- Decreto 1287 de 2014. (2014, 10 de julio). Presidencia de la República de Colombia. <https://www.suin-juriscol.gov.co/viewDocument.asp?id=1259502>
- Desiere, F., Mcshan, W. M., van-Sinderen, D., Ferretti, J. J., and Brüssow, H. (2001). Comparative genomics reveals close genetic relationships between phages from dairy bacteria and pathogenic streptococci: evolutionary implications for prophage-host interactions. *Virology*, (341), 325-341. [10.1006/viro.2001.1085](https://doi.org/10.1006/viro.2001.1085)
- De Sordi, L., Lourenço, M., & Debarbieux, L. (2019). The battle within: interactions of bacteriophages and bacteria in the gastrointestinal tract. *Cell Host & Microbe*, 25(2), 210-218. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.018>
- Domínguez, N., (2020). Bacteriófagos. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 20(1), 164-165. <https://dx.doi.org/10.25176/rfmh.v20i1.2554>

- Donnelly, A., Yata, T., Bentayebi, K., Suwan, K., Hajitou, A. (2015). Bacteriophage mediates efficient gene transfer in combination with conventional transfection reagents. *Viruses*, 7, 6476-6489. <https://doi.org/10.3390/v7122951>
- Eisenbrandt, R., Kalkum, M., Lurz, R., & Lanka, E. (2000). Maturation of IncP pilin precursors resembles the catalytic Dyad-like mechanism of leader peptidases. *Journal of Bacteriology*, 182(23), 6751-6761. 10.1128/JB.182.23.6751-6761.2000.
- Esteves, N. C., & Scharf, B. E. (2022). Flagellotropic Bacteriophages: Opportunities and Challenges for Antimicrobial Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 7084. <https://doi.org/10.3390/ijms23137084>
- Fauquet, C., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L. (2005). *Virus taxonomy: eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier / Academic Press.
- Feyereisen, M., Mahony, J., Neve, H., Franz, C., Noben, J. P., O'Sullivan, T., Boer, V., & van Sinderen, D. (2019). Biodiversity and Classification of Phages Infecting *Lactobacillus brevis*. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2396. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02396>
- Firozi, P., Zhang, W., Chen, L., Quiocho, F. A., Worley, K. C., & Templeton, N. S. (2010). Identification and removal of colanic acid from plasmid DNA preparations: implications for gene therapy. *Gene Therapy*, 17(12), 1484-1499. 10.1038/gt.2010.97.
- Fortier, L.-C. (2017). The contribution of bacteriophages to the biology and virulence of pathogenic clostridia. *Advances in applied microbiology*, 101, pp. 169-200. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2017.05.002>
- Fortier, L.-C., & Sekulovic, O. (2013). Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. *Virulence*, 4(5), 354-365. <https://doi.org/10.4161/viru.24498>
- Fortier, L.-C. (2018). Bacteriophages contribute to shaping *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* species. *Frontiers in Microbiology*, 2033. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02033>
- Freeman, V. J. (1951). Studies on the virulence of bacteriophage-infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*. *Journal of bacteriology*, 61(6), 675-688. <https://doi.org/10.1128/jb.61.6.675-688.1951>
- Fridrich, E., Lindner, B., Holst, O., & Whitfield, C., (2003). Overexpression of the *waaZ* gene leads to modification of the structure of the inner core region of *Escherichia coli* lipopolysaccharide, truncation of the outer core, and reduction of the amount of O polysaccharide on the cell surface. *Journal of Bacteriology*. 185, 1659-1671. <https://doi.org/10.1128/JB.185.5.1659-1671.2003>
- Fujii, N., Oguma, K., Kimura, K., & Tsuzuki, K. (1988). Characterization of bacteriophage nucleic acids obtained from *Clostridium botulinum* types C and D. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(1), 69-73. <https://doi.org/10.1128/aem.54.1.69-73.1988>

- Gao, C., Hong, M., Geng, J., Zhou, H., & Dong, J. (2015). Characterization of PI (breast cancer cell special peptide) in MDA-MB-231 breast cancer cells and its potential therapeutic applications. *International Journal of Oncology*, 47(4), 1371-1378. [10.3892/ijo.2015.3140](https://doi.org/10.3892/ijo.2015.3140).
- Gill, D. M., Uchida, T., & Singer, R. A. (1972). Expression of diphtheria toxin genes carried by integrated and nonintegrated phage beta. *Virology*, 50(3), 664-668. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(72\)90420-5](https://doi.org/10.1016/0042-6822(72)90420-5)
- Goh, S., Chang, B. J., & Riley, T. V. (2005). Effect of phage infection on toxin production by *Clostridium difficile*. *Journal of Medical Microbiology*, 54(2), 129-135. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.45821-0>
- Gomez, P. & Buckling, A. (2013). Coevolution with phages does not influence the evolution of bacterial mutation rates in soil. *The ISME Journal*, 7, 2242-2244. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.105>
- Govind, R., Vedyappan, G., Rolfe, R. D., Dupuy, B., & Fralick, J. A. (2009). Bacteriophage-mediated toxin gene regulation in *Clostridium difficile*. *Journal of Virology*, 83(23), 12037-12045. <https://doi.org/10.1128/JVI.01256-09>
- Hadas, H., Einav, M., Fishov, I., & Zaritsky, A. (1997). Bacteriophage T4 development depends on the physiology of its host *Escherichia coli*. *Microbiology*, 143(P1) 179-185. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-1-179>
- Hanlon, G.W. (2007). Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30(2),118-128. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.04.006>
- Hantke, K. (2020). Compilation of *Escherichia coli* K-12 outer membrane phage receptors - their function and some historical remarks. *FEMS Microbiol Letters*, 367(2), fnaa013. [10.1093/femsle/fnaa013](https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa013). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa013>
- Haq, I. U., Chaudhry, W. N., Akhtar, M. N., Andleeb, S., & Qadri, I. (2012). Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. *Virology Journal*, 9(9). <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-9>.
- Harada, L. K., Silva, E. C., Campos, W. F., Del Fiol, F. S., Vila, M., Dąbrowska, K., Krylov, V. N., Balcão, V. M. (2018). Biotechnological applications of bacteriophages: state of the art. *Microbiological Research*, (212-213), 38-58. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.007>.
- Haramoto, E., Fujino, S., & Otagiri, M. (2015). Distinct behaviors of infectious F-specific RNA coliphage genogroups at a wastewater treatment plant. *The Sciences of Total Environment*, 520, 32-38.
- Hargreaves, K. R., Kropinski, A. M., & Clokie, M. R. (2014). What does the talking? Quorum sensing signalling genes discovered in a bacteriophage genome. *PloS one*, 9(1), e85131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085131>

- Havelaar, A. H., Pot-Hogbeem, W. M., Furuse, K., Pot, R., & Hormann, M. P. (1990). F-specific RNA bacteriophages and sensitive host strains in faeces and wastewater of human and animal origin. *Journal of Applied Bacteriology*, (69), 30-37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02908.x>
- Hassan, A. Y., Lin, J. T., Ricker, N., & Anany, H. (2021). The ge of Pphage: friend or foe in the new dawn of therapeutic and biocontrol applications? *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(3), 199. <https://doi.org/10.3390/ph14030199>
- Health and Ecological Criteria Division, Office of Science and Technology, United States (U.S.) Environmental Protection Agency (EPA). (2015). Review of coliphages as possible indicators of fecal contamination for ambient water quality. https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-07/documents/review_of_coliphages_as_possible_indicators_of_fecal_contamination_for_ambient_water_quality.pdf
- Hendrix, R. W. (2002). Bacteriophage and its relatives. John Willey and Sons, Inc.
- Hendrix, R. W., Smith, M. C., Burns, R. N., Ford, M. E., & Hatfull, G. F. (1999). Evolutionary relationships among diverse bacteriophages and prophages: all the world's a phage. *Proceedings of the national academics of science of the United States of America*, 96(5), 2192-2197. 10.1073/pnas.96.5.2192.
- Henning, U., & Jann, K. (1979). Two-component nature of bacteriophage T4 receptor activity in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*, 137, 664-666.
- Hernandez-Doria, J. D., & Sperandio, V. (2018). Bacteriophage transcription factor Cro regulates virulence gene expression in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Cell host & microbe*, 23(5), 607-617. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.04.007>
- Hosseini, N., Paquet, V. E., Chehreghani, M., Moineau, S., & Charette, S. J. (2021). Phage cocktail development against *Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida* strains is compromised by a prophage. *Viruses*, 13(11), 2241. 10.3390/v13112241.
- Hwang, I. (2014). Virus outbreaks in chemical and biological sensors. *Sensors*, 14(8), 13592.13612. 10.3390/s140813592
- Hyman, P., & Abedon, S. T. (2009). Practical methods for determining phage growth parameters. *Methods in Molecular Biology*, (501), 175-202. 10.1007/978-1-60327-164-6_18.
- Hyman, P., & Abedon, S. T. (2012). *Bacteriophages in health and disease*. CAB International.
- Inal, J. M. (2003). Phage therapy: a reappraisal of bacteriophages as antibiotics. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 51(4), 237-244.
- International Organization for Standardization. (2000). *Water quality - detection and enumeration of bacteriophages. Part 2. Enumeration of Somatic Coliphages. ISO 10705-2:2000*. Multiple.
- Jaslow, S. L., Gibbs, K. D., Fricke, W. F., Wang, L., Pittman, K. J., Mammel, M. K., ... & Ko, D. C. (2018). Salmonella activation of STAT3 signaling by SarA effector promotes

- intracellular replication and production of IL-10. *Cell reports*, 23(12), 3525-3536. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.072>
- Jiménez, C. y León, D. E. (2009). Biosensores: aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae*, 16(1), 144-154.
- João, J., Lampreia, J., Prazeres, D. M. Azevedo, A. M. (2021). Manufacturing of bacteriophages for therapeutic applications. *Biotechnology Advances*, (49), 107758. 10.1016/j.biotechadv.2021.107758.
- Jofre, J. (2007). Indicators of waterborne enteric viruses. In Bosch, A. (Ed.). *Human viruses in water. Perspectives in medical virology vol. 17*. Elsevier.
- Jofre, J. (2009). Is the replication of somatic coliphages in water environments significant? *Journal of Applied Microbiology*, 106(4), 1059-1069. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03957.x>
- Jofre, J., Lucena, F., Blanch, A. R., & Muniesa, M. (2016). Coliphages as model organisms in the characterization and management of water resources. *Water*, 8(5), 199. <https://doi.org/10.3390/w8050199>
- Jofre, J., & Muniesa, M. (2020). Bacteriophage isolation and characterization: phages of *Escherichia coli*. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2075, 61-79. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9877-7_4
- Jofre, J., Lucena, F., & Blanch, A.R. (2021). Coliphages as a complementary tool to improve the management of urban wastewater treatments and minimize health risks in receiving waters. *Water*, 13(8), 1110. <https://doi.org/10.3390/w13081110>
- Jones, J. B., Vallad, G. E., Iriarte, F. B., Obradović, A., Wernsing, M. H., Jackson, L. E., Balogh, B., Hong, J. C., & Momo, M. T. (2014). Considerations for using bacteriophages for plant disease control. *Bacteriophage*, 2(4), 208-214. 10.4161/bact.23857
- Kakkanat, A., Phan, M. D., Lo, A. W., Beatson, S. A., & Schembri, M. A. (2017). Novel genes associated with enhanced motility of *Escherichia coli* ST131. *PLoS One*, 12(5), e0176290. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176290>
- Karaolis, D. K., Somara, S., Maneval, D. R., Johnson, J. A., & Kaper, J. B. (1999). A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and a phage receptor in cholera bacteria. *Nature*, 399(6734), 375-379. <https://doi.org/10.1038/20715>
- Karlsson, F., Borrebaeck, C., Nilsson, N., & Malmberg-Hager, A.C. (2003). The mechanism of bacterial infection by filamentous phages involves molecular interactions between TolA and phage protein 3 domains. *Journal of Bacteriology*, 185(8), 2628-2634. <https://doi.org/10.1128/JB.185.8.2628-2634.2003>
- Kasman, L. M., & Porter, L. D. (2021). *Bacteriophages*. StatPearls Publishing.
- Kaufmann, A., Stierhof, Y. D., & Henning, U. (1994). New outer membrane - associated protease of *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*, 176(2), 359-367. <https://doi.org/10.1128/jb.176.2.359-367.1994>

- Keen, E. C. (2012). Paradigms of pathogenesis: targeting the mobile genetic elements of disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2(161). 10.3389/fcimb.2012.00161.
- Kelleher, P., Mahony, J., Schweinlin, K., Neve, H., Franz, C. M., & van Sinderen, D. (2018). Assessing the functionality and genetic diversity of lactococcal prophages. *International Journal of Food Microbiology*, 272, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.024>
- Kerr, B., West, J., & Bohannan, B. (2008). Bacteriophages: Models for exploring basic principles of ecology. In S. Abedon (Ed.), *Bacteriophage ecology: population growth, evolution, and impact of bacterial viruses* (pp. 31-63). Cambridge University Press. 10.1017/CBO9780511541483.005
- King, A., Adams, M., Carstens, E., & Lefkowitz, E. (2012). Order – Caudovirales. In A.M. King, E. Lefkowitz, M.J. Adams, & E.B. Carstens (Eds.). *Virus Taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* (pp. 39-45) 10.1016/B978-0-12-384684-6.00001-X
- Kirsch, J., Siltanen, C., Zhou, Q., Revzin, A., & Simonian, A. (2013). Biosensor technology: recent advances in threat agent detection and medicine. *Chemical Society Reviews*, 42(2), 8733-8768. <https://doi.org/10.1039/c3cs60141b>
- Klein, G., Lindner, B., Brade, H., & Raina, S. (2011). Molecular basis of lipopolysaccharide heterogeneity in *Escherichia coli*: envelope stress-responsive regulators control the incorporation of glycoforms with a third-3-deoxy-a-D-manno-oct-2-ulosonic acid and rhamnose. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(50), 42787-42807. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.291799>
- Knoll, B. M., & Mylonakis, E. (2014). Antibacterial bioagents based on principles of bacteriophage biology: an overview. *Clinical Infectious Disease*, 58(4), 528-534. <https://doi.org/10.1093/cid/cit771>.
- Korf, I. H., Meier-Kolthoff, J. P., Adriaenssens, E. M., Kropinski, A. M., Nimtz, M., Rohde, M., van Raaij, M. J., & Wittmann, J. (2019). Still something to discover: novel insights into *Escherichia coli* phage diversity and taxonomy. *Viruses*, 11(5), 454. 10.3390/v11050454.
- Kropinski, A. M. (2018). Bacteriophage research - What we have learnt and what still needs to be addressed. *Research in Microbiology*, 169(9), 481-487. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.05.002>
- Lambrechts, L., Fellous, S., & Koella, J. C. (2006). Coevolutionary interactions between host and parasite genotypes. *Trends in Parasitology*, 22(1), 12-16. 10.1016/j.pt.2005.11.008
- Laumay, F., Corvaglia, A. R., Diene, S. M., Girard, M., Oechslin, F., van der Mee-Marquet, N., Entenza, J. M., & François, P. (2019). Temperate prophages increase bacterial adhesion expression and virulence in an experimental model of endocarditis due to *Staphylococcus aureus* from the CC398 lineage. *Frontiers in Microbiology*, 10, 742. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00742>

- Le Romancer, M., Gaillard, M., Geslin, C., & Prieur, D. (2007). Viruses in extreme environments. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 6, 17-31. <https://doi.org/10.1007/s11157-006-0011-2>
- León, M., & Bastías, R. (2015). Virulence reduction in bacteriophage-resistant bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 6, 343. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00343>
- Li, P., Lin, H., Mi, Z., Xing, S., Tong, Y., Wang, J. (2019). Screening of polyvalent phage-resistant *Escherichia coli* strains based on phage receptor analysis. *Frontiers in Microbiology*, 18(10), 850. [10.3389/fmicb.2019.00850](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00850).
- Lindsay, J. A., Ruzin, A., Ross, H. F., Kurepina, N., & Novick, R. P. (1998). The gene for toxic shock toxin is carried by a family of mobile pathogenicity islands in *Staphylococcus aureus*. *Molecular microbiology*, 29(2), 527-543. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00947.x>
- Maciejewska, B., Olszak, T., & Drulis-Kawa, Z. (2018). Applications of bacteriophages versus phage enzymes to combat and cure bacterial infections: an ambitious and also a realistic application? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(6), 2563-2581. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8811-1>
- Madigan, M., & Martinko, J. (2006). *Brock Biology of Microorganisms* (11th ed.). Prentice Hall, USA.
- Martín-Díaz, J., Casas-Mangas, R., García-Aljaro, C., Blanch, A. R., & Lucena, F. (2016). Somatic coliphages as surrogates for enteroviruses in sludge hygienization treatments. *Water Science and Technology*, 73(9), 2182-2188. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.066>
- Martín-Díaz, J., Lucena, F., Blanch, A. R., & Jofre, J. (2020). Review: Indicator bacteriophages in sludge, biosolids, sediments and soils. *Environmental Research*, 182, 109-133. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109133>
- Martín-Díaz, J. y Pascual-Benito, M. (2021). Colifagos, el nuevo indicador vírico en las regulaciones y normativas del agua potable. *Revista Tecnoagua*, (50), 70-75.
- Martínez-Díaz, S. F., & Hipólito-Morales, A. (2013). Efficacy of phage therapy to prevent mortality during the vibriosis of brine shrimp. *Aquaculture*, 400-401, 120-124. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.03.007>
- Mathur, M. D., Vidhani, S., & Mehndiratta, P. L. (2003). Bacteriophage therapy: an alternative to conventional antibiotics. *The Journal of Association of Physicians of India*, 51, 593-596.
- Matos, R. C., Lapaque, N., Rigottier-Gois, L., Debarbieux, L., Meylheuc, T., Gonzalez-Zorn, B., Repoila, F., Lopes, M. F., & Serror, P. (2013). Enterococcus faecalis prophage dynamics and contributions to pathogenic traits. *PLoS genetics*, 9(6), e1003539. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003539>
- Mayer, G. (2016). Bacteriology - Chapter Seven Virology -, Chapter Twenty-four Bacteriophage. <http://www.microbiologybook.org/mayer/phage.htm>

- McMinn, B. R., Ashbolt, N. J., & Korajkic, A. (2017). Bacteriophages as indicators of faecal pollution and enteric virus removal. *Letters in Applied Microbiology*, 65(1), 11-26. <https://doi.org/10.1111/lam.12736>
- Meaden, S., & Koskella, B. (2013). Exploring the risks of phage application in the environment. *Frontiers in Microbiology*, 4(8), 358. 10.3389/fmicb.2013.00358
- Meador, E., Mayer, M. J., Steverding, D., Garding, S. R., & Narbad, A. (2013). Evaluation of bacteriophage therapy to control *Clostridium difficile* and toxin production in an in vitro human colon model system. *Anaerobe*, 22, 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.05.001>
- Mendez, J., Jofre, J., Lucena, F., Contreras, N., Mooijman, K., & Araujo, R. (2002). Conservation of phage reference materials and water samples containing bacteriophages of enteric bacteria. *Journal of Virology*, 106, 215-224. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00163-5](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00163-5)
- Merril, C. R. (2008). Interaction of bacteriophages with animals. In S.T. Abedon (Ed.). *Bacteriophage Ecology* (pp. 332-352). Cambridge University Press.
- Mitchell, J., Siboo, I. R., Takamatsu, D., Chambers, H. F., & Sullam, P. M. (2007). Mechanism of cell surface expression of the *Streptococcus mitis* platelet binding proteins PblA and PblB. *Molecular microbiology*, 64(3), 844-857. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05703.x>
- Mitsunaka, S., Sudo, N., & Sekine, Y. (2017). Lysogenisation of Shiga toxin-encoding bacteriophage represses cell motility. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 64(1), 34-41. <https://doi.org/10.2323/jgam.2017.05.001>
- Mooijman, K. A., Ghameshlou, Z., Bahar, M., Jofre, J., & Havelaar, A. H. (2005). Enumeration of bacteriophages in water by different laboratories of the European Union in two interlaboratory comparison studies. *Journal of Virology*, 127, 60-68. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.02.013>
- Mulcahy, M. E., & McLoughlin, R. M. (2016). Host-bacterial crosstalk determines *Staphylococcus aureus* nasal colonization. *Trends in Microbiology*, 24(11), 872-886. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.06.012>
- Muniesa, M., Lucena, F., & Jofre, J. (1999). Study of the potential relationship between the morphology of infectious somatic coliphages and their persistence in the environment. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 402-409. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00833.x>
- Muniesa, M., Lucena, F., Blanch, A. R., Payán, A., & Jofre, J. (2012). Use of abundance ratios of somatic coliphages and bacteriophages of *Bacteroides thetaiotaomicron* GA17 for microbial source identification. *Water Research*, 46(19), 6410-6418. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.09.015>
- Muniesa, M., Colomer-Lluch, M., & Jofre, J. (2013a). Could bacteriophages transfer antibiotic resistance genes from environmental bacteria to human-body associated

- bacterial populations? *Mobile genetic elements*, 3(4), e25847. <https://doi.org/10.4161/mge.25847>
- Muniesa, M., Colomer-Lluch, M., & Jofre, J. (2013b). Potential impact of environmental bacteriophages in spreading antibiotic resistance genes. *Future Microbiology*, 8(6), 739-751. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.32>
- Ofir, G., & Sorek, R. (2018). Contemporary phage biology: from classic models to new insights. *Cell*, 172(6), 1260-1270. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.045>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). Guidelines for drinking-water quality. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>
- Orlova, E. V. (2012). Bacteriophages and their structural organization. In: Kurtboke, I. (Ed.), *Bacteriophages* (pp. 3-30). <https://doi.org/10.5772/34642>
- Owen, S. V., Canals, R., Wenner, N., Hammarlöf, D. L., Kröger, C., & Hinton, J. C. (2020). A window into lysogeny: revealing temperate phage biology with transcriptomics. *Microbial genomics*, 6(2). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000330>
- Pacífico, C., Hilbert, M., Sofka, D., Dinhopl, N., Pap, I. J., Aspöck, C., Carriço, J. A., & Hilbert, F. (2019). Natural occurrence of *Escherichia coli*-infecting bacteriophages in clinical samples. *Frontiers in Microbiology*, (10), 2484. [10.3389/fmicb.2019.02484](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02484)
- Pal, C., Macia, M. D., Oliver, A., Schachar, I., & Buckling, A. (2007). Coevolution with viruses drives the evolution of bacterial mutation rates. *Nature*, 450, 1079-1081. <https://doi.org/10.1038/nature06350>
- Paul, J. H. & Kellogg, C. A. (2000). Ecology of Bacteriophages in Nature. In C. Hurst (Ed.), *Viral Ecology* (pp. 211-246). Academic Press.
- Peng, Q., & Yuan, Y. (2018). Characterization of a newly isolated phage infecting pathogenic *Escherichia coli* and analysis of its mosaic structural genes. *Scientific Reports*, (8), 8086. [10.1038/s41598-018-26004-26004](https://doi.org/10.1038/s41598-018-26004-26004)
- Pilar, A. V. C., Reid-Yu, S. A., Cooper, C. A., Mulder, D. T., & Coombes, B. K. (2012). GogB is an anti-inflammatory effector that limits tissue damage during *Salmonella* infection through interaction with human FBXO22 and Skp1. *PLoS pathogens*, 8(6), e1002773. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002773>
- Pirnay, J. P., Merabishvili, M., Van Raemdonck, H., De Vos, D., & Verbeken, G., (2018). Bacteriophage production in compliance with regulatory requirements. *Methods in Molecular Biology*, 233-252. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7395-8_18
- Ptashne, M. (2006). Lambda's switch: lessons from a module swap. *Current biology: CB*, 16(12), R459-R462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.05.037>
- Rabinovich, L., Sigal, N., Borovok, I., Nir-Paz, R., & Herskovits, A. A. (2012). Prophage excision activates *Listeria* competence genes that promote phagosomal escape and virulence. *Cell*, 150(4), 792-802. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.036>

- Rakhuba, D. V., Kolomiets, E. I., Dey, E. S., & Novik, G. I. (2010). Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell. *Polish Journal of Microbiology*, 59(3), 145-155. <https://doi.org/10.33073/pjm-2010-023>
- Reichardt, L. F. (1975). Control of bacteriophage lambda repressor synthesis after phage infection: the role of the N, cII, cIII and cro products. *Journal of Molecular Biology*, 93(2), 267-288. 10.1016/0022-2836(75)90132-1.
- Reina, J., & Reina, N. (2018). Fagoterapia ¿una alternativa a la antibioticoterapia? *Revista Española de Quimioterapia*, 31(2), 101-104.
- République Française. (2021). Arrêté du 20 avril 2021 modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19. <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000043534752>
- Reyes, V. C. & Jiang, S. C. (2010). Ecology of coliphages in southern California coastal waters. *Journal of Applied Microbiology*, 109(2), 431-440. 10.1111/j.1365-2672.2010.04676.x.
- Reynolds, C. B., Emerson, J. E., De la Riva, L., Fagan, R. P., & Fairweather, N. F. (2011). The *Clostridium difficile* cell wall protein CwpV is antigenically variable between strains, but exhibits conserved aggregation-promoting function. *PLoS pathogens*, 7(4), e1002024. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002024>
- Riedel, T., Wittmann, J., Bunk, B., Schober, I., Spröer, C., Gronow, S., & Overmann, J. (2017). A *Clostridioides difficile* bacteriophage genome encodes functional binary toxin-associated genes. *Journal of Biotechnology*, 250, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.02.017>
- Sakaguchi, Y., Hayashi, T., Kurokawa, K., Nakayama, K., Oshima, K., Fujinaga, Y., Ohnishi, M., Ohtsubo, E., Hattori, M., & Oguma, K. (2005). The genome sequence of *Clostridium botulinum* type C neurotoxin-converting phage and the molecular mechanisms of unstable lysogeny. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(48), 17472-17477. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505503102>
- Samuel, A. D., Pitta, T. P., Ryu, W. S., Danese, P. N., Leung, E. C., & Berg, H. C. (1999). Flagellar determinants of bacterial sensitivity to chi-phage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(17), 9863-9866. 10.1073/pnas.96.17.9863.
- Schneider, J. L., White, P. L., Weiss, J., Norton, D., Lidgard, J., Gould, L. H., Yee, B., Vugia, D. J., & Mohle-Boetani, J. (2011). Multistate outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Newport infections associated with ground beef, October to December 2007. *Journal of Food Protection*, 74(8), 1315-1319. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-046>
- Schrag, S. J., & Mittler, J. E. (1996). Host-parasite coexistence: the role of spatial refuges in stabilizing bacteria-phage interactions. *The American Naturalist*, (148), 348-377. <https://doi.org/10.1086/285929>
- Schroven, K., Aertsen, A., & Lavigne, R. (2021). Bacteriophages as drivers of bacterial

- virulence and their potential for biotechnological exploitation. *FEMS Microbiology Reviews*, 45(1), fuaa041. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa041>
- Secor, P. R., Michaels, L. A., Smigiel, K. S., Rohani, M. G., Jennings, L. K., Hisert, K. B., Arrigoni, A., Braun, K. R., Birkland, T. P., Lai, Y., Hallstrand, T. S., Bollyky, P. L., Singh, P. K. & Parks, W. C. (2017). Filamentous bacteriophage produced by *Pseudomonas aeruginosa* alters the inflammatory response and promotes noninvasive infection *in vivo*. *Infection and immunity*, 85(1), e00648-16. <https://doi.org/10.1128/IAI.00648-16>
- Secor, P. R., Burgener, E. B., Kinnersley, M., Jennings, L. K., Roman-Cruz, V., Popescu, M., Van Belleghen, J. D., Haddock, N., Copeland, C., Michaels, L. A., De Vries, C. R., Chen, Q., Pourtois, J., Wheeler, T. J., Milla, C. E., & Bollyky, P. L. (2020). Pf bacteriophage and their impact on *Pseudomonas* virulence, mammalian immunity, and chronic infections. *Front Immunol*, 11, 244. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00244>
- Sekulovic, O., Meessen-Pinard, M., & Fortier, L. C. (2011). Prophage-stimulated toxin production in *Clostridium difficile* NAP1/027 lysogens. *Journal of Bacteriology*, 193(11), 2726-2734. <https://doi.org/10.1128/JB.00787-10>
- Shah, J., Desai, P. T., & Weimer, B. C. (2014). Genetic mechanisms underlying the pathogenicity of cold-stressed *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in cultured intestinal epithelial cells. *Applied and environmental microbiology*, 80(22), 6943-6953. <https://doi.org/10.1128/AEM.01994-14>
- Sharma, S., Chatterjee, S., Datta, S., Prasad, R., Dubey, D., Prasad, R.K., Vairale, M.G. (2016). Bacteriophages and its applications: an overview. *Folia Microbiológica (Praha)*, 62(1), 17-55. [10.1007/s12223-016-0471-x](https://doi.org/10.1007/s12223-016-0471-x).
- Silpe, J. E., & Bassler, B. L. (2019). A host-produced quorum-sensing autoinducer controls a phage lysis-lysogeny decision. *Cell*, 176(1-2), 268-280. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.059>
- Silva, Y. J., Costa, L., Pereira, C., Mateus, C., Cunha, Â., Calado, R., Gomes, C. M., Pardo, M. A., Hernández, I., & Almeida, A. (2014). Phage therapy as an approach to prevent *Vibrio anguillarum* infections in fish larvae production. *PLoS One*, 9(12), e114197. [10.1371/journal.pone.0114197](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114197)
- Simmonds, P., & Aiewsakun, P. (2018). Virus classification - where do you draw the line? *Archives of Virology*, 163(8), 2037-2046. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3938-z>
- Singh, A., Poshtiban, S., & Evoy, S. (2013). Recent advances in bacteriophage-based biosensors for food-borne pathogen detection. *Sensors (Basel)*, 13, 1763-1786. <https://doi.org/10.3390/s130201763>.
- Stent, G. S. (1963). *Molecular biology of bacterial viruses*. San Francisco, W.H. Freeman.
- Sudo, N., Soma, A., Muto, A., Iyoda, S., Suh, M., Kurihara, N., Abe, H., Tobe, T., Ogura, Y., Hayashi, T., Kurokawa, K., Ohnishi, M., & Sekine, Y. (2014). A novel small regulatory RNA enhances cell motility in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *The Journal of general and applied microbiology*, 60(1), 44-50. <https://doi.org/10.2323/jgam.60.44>

- Summers, W. C. (2001). Bacteriophage therapy. *Annual Review of Microbiology*, 55, 437-451. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.437>.
- Suttle, C. A. (2005). Viruses in the sea. *Nature*, 437(7057), 356-361. <https://doi.org/10.1038/nature04160>
- Suttle, C. A. (2007). Marine viruses - major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*, 5, 801-812. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1750>
- Tamang, M., Sunwoo, H., & Jeon, B. (2017). Phage-mediated dissemination of virulence factors in pathogenic bacteria facilitated by antibiotic growth promoters in animals: A perspective. *Animal Health Research Reviews*, 18(2), 160-166. 10.1017/S1466252317000147
- Taylor, V. L., Fitzpatrick, A. D., Islam, Z., & Maxwell, K. L. (2019). The diverse impacts of phage morons on bacterial fitness and virulence. *Advances in Virus Research*, 103, 1-31. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.08.001>
- Taylor, T. L., Volkening, J. D., DeJesus, E., Simmons, M., Dimitrov, K. M., Tillman, G. E., ... & Afonso, C. L. (2019). Rapid, multiplexed, whole genome and plasmid sequencing of foodborne pathogens using long-read nanopore technology. *Scientific reports*, 9(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52424-x>
- Toribio-Avedillo, D., Blanch, A. R., Muniesa, M., & Rodríguez-Rubio, L. (2021). Bacteriophages as fecal pollution indicators. *Viruses*, 13(6), 1089. 10.3390/v13061089.
- Tree, J. J., Granneman, S., McAteer, S. P., Tollervy, D., & Gally, D. L. (2014). Identification of bacteriophage-encoded anti-sRNAs in pathogenic *Escherichia coli*. *Molecular cell*, 55(2), 199-213. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.05.006>
- Turner, A. P., & Newman, J. D. (1998). An introduction to biosensor. In T.W. Gateshead (Ed.). *Biosensor for food analysis* (pp. 13-27).
- Turner, P. E., & Duffy, S. (2008). Evolutionary ecology of multi-phage infections. In S. T. Abedon (Ed.). *Bacteriophage Ecology* (pp. 195-216). Cambridge University Press.
- Unión Europea (UE). (2020). Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de mayo de 2020 relativo a los requisitos mínimos para la reutilización del agua. <https://www.boe.es/doue/2020/177/L00032-00055.pdf>
- United States Environmental Protection Agency. (2006). National primary drinking water regulations. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>.
- Van Assche, E., Van Puyvelde, S., Vanderleyden, J., & Steenackers, H.P. (2015). RNA-binding proteins involved in post-transcriptional regulation in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 6, 141. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00141>
- Viertel, T. M., Ritter, K., Horz, & H. P. (2014). Viruses versus bacteria-novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug-resistant pathogens. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(9), 2326-2336. <https://doi.org/10.1093/jac/dkul73>.

- Villarreal, L. P., & DeFilippis, V. R. (2000). A hypothesis for DNA viruses as the origin of eukaryotic replication proteins. *Journal of Virology*, 74(15), 7079-7084. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.15.7079-7084.2000>
- Waldor, M. K., & Mekalanos, J. J. (1996). Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science*, 272(5270), 1910-1914. <https://doi.org/10.1126/science.272.5270.1910>
- Wang, Z., Wang, D., Chen, J., Sela, D.A., & Nugen, S.R. (2016). Development of a novel bacteriophage based biomagnetic separation method as an aid for sensitive detection of viable *Escherichia coli*. *The Analyst*, 141(3), 1009-1016. <https://doi.org/10.1039/>
- Wang, Y., Gao, S., Lv, J., Lin, Y., Zhou, L., & Han, L. (2018). Phage display technology and its applications in cancer immunotherapy. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 19(2), 229-235. <https://doi.org/10.2174/1871520618666181029140814>
- Washizaki, A., Yonesaki, T., & Otsuka, Y. (2016). Characterization of the interactions between *Escherichia coli* receptors, LPS and OmpC, and bacteriophage T4 long tail fibers. *Microbiologyopen*, 5(6), 1003-1015. <https://doi.org/10.1002/mbo3.384>
- Watarai, M., Sato, T., Kobayashi, M., Shimizu, T., Yamasaki, S., Tobe, T., Sasakawa, C., & Yoshifumi, T. (1998). Identification and characterization of a newly isolated Shiga toxin 2-converting phage from Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 66(9), 4100-4107. <https://doi.org/10.1128/IAI.66.9.4100-4107.1998>
- Waters, S. A., McAteer, S. P., Kudla, G., Pang, I., Deshpande, N. P., Amos, T. G., Leong, K. W., Wilkings, M. R., Strugnell, R., Gally, D. L., Tollervey, D., & Tree, J. J. (2017). Small RNA interactome of pathogenic *E. coli* revealed through crosslinking of RNase E. *The EMBO Journal*, 36(3), 374-387. <https://doi.org/10.15252/embj.201694639>
- Webb, J. S., Lau, M., & Kjelleberg, S. (2004). Bacteriophage and phenotypic variation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Journal of Bacteriology*, 186(23), 8066-8073. <https://doi.org/10.1128/JB.186.23.8066-8073.2004>
- Weinbauer, M.G. (2004). Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiology Reviews*, 28(2), 127-181. [10.1016/j.femsre.2003.08.001](https://doi.org/10.1016/j.femsre.2003.08.001)
- Weisberg, R. A., Gottesmann, M. E., Hendrix, R. W., & Little, J. W. (1999). Family values in the age of genomics: comparative analyses of temperate bacteriophage HK022. *Annual Review of Genetics*, 33, 565-602. [10.1146/annurev.genet.33.1.565](https://doi.org/10.1146/annurev.genet.33.1.565)
- Weitz, J. S. & Wilhelm, S. W. (2013). An ocean of viruses. *The Scientist Magazine*. <https://www.the-scientist.com/features/an-ocean-of-viruses-39112>
- World Health Organization (WHO). (2017). Potable reuse. Guidance for producing safe drinking water. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/258715>
- Wójcicki, M., Błażejczak, S., Gientka, I., & Brzezicka, K. (2019). The concept of using bacteriophages to improve the microbiological quality of minimally processed foods. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 18(4), 373-383. [10.17306/J.AFS.0695](https://doi.org/10.17306/J.AFS.0695)

- Xu, H., Bao, X., Wang, Y., Xu, Y., Deng, B., Lu, Y., & Hou, J. (2018). Engineering T7 bacteriophage as a potential DNA vaccine targeting delivery vector. *Virology Journal*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-0955-1>
- Yosef, I., Manor, M., Kiro, R., & Qimron, U. (2015). Temperate and lytic bacteriophages programmed to sensitize and kill antibiotic-resistant bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(23), 7267-7272. <https://doi.org/10.1073/pnas.1500107112>
- Zhang, K., & Farahbakhsh, K. (2007). Removal of native coliphages and coliform bacteria from municipal wastewater by various wastewater treatment processes: Implications to water reuse. *Water Research*, 41(12), 2816-2824.
- Zhao, X., Chen, C., Jiang, X., Shen, W., Huang, G., Le, S., Lu, S., Zou, L., Ni, Q., Li, M., Zhao, Y., Wang, J., Rao, X., Hu, F., & Tan, Y. (2016). Transcriptomic and metabolomic analysis revealed multifaceted effects of phage protein Gp70.1 on *Pseudomonas aeruginosa*. *Front in Microbiology*, 7, 1519. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01519>

CAPÍTULO IV

BIOINDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL EN EL LAGO GUAMUEZ



La contaminación de los cuerpos de agua está relacionada directamente con la presencia y proliferación de organismos patógenos que afectan la salud, entre los que se incluyen, parásitos, virus, hongos y bacterias, agentes responsables de enfermedades como: cólera, fiebre tifoidea, hepatitis A, hepatitis E y diarrea aguda (Moreno, 2020). La razón principal se debe a que este recurso hídrico se destina para entornos domésticos e industriales, sin las respectivas medidas de tratamiento, de manera que la población se ve directamente expuesta (Moreno, 2020). Al respecto, en Colombia, se ha establecido una normatividad vigente para la protección y control de la calidad del agua para consumo humano, instituida por la República de Colombia en el Decreto número 1575 de 2007, con el cual se establece que deben existir controles fisicoquímicos y microbiológicos que garanticen la calidad del recurso hídrico; no obstante, para garantizarla, los protocolos de análisis deben ser aplicados continuamente y requieren gastos de infraestructura, personal e insumos que, resultan altamente costosos.

Es importante mencionar que, con respecto al estudio de los cuerpos de agua en Colombia, se ha realizado varias investigaciones enfocadas en establecer la calidad. Sin embargo, en la mayoría de ellas se ha usado únicamente metodologías rutinarias y sin periodicidad de inspección fisicoquímica y microbiológica, usando para esta última, la presencia/ausencia de coliformes totales y fecales con tubos múltiples, protocolos que no permiten dilucidar la calidad del agua a largo plazo y, tampoco, se conduciría a la implementación de sistemas de vigilancia epidemiológica.

Bajo este entendimiento, fue entonces necesario formular un proyecto de investigación que integrara la dinámica poblacional de *E. coli*, bioindicador comúnmente utilizado para determinar la contaminación fecal en el ambiente y colifagos somáticos, indicadores de virus entéricos en el agua, analizándolos inicialmente bajo los enfoques microbiológico y molecular; para luego acoplar los respectivos resultados de

peso, a la formulación de modelos matemáticos que describieran con mayor cercanía a la realidad, la dinámica poblacional y de infección de estos en el ambiente. La propuesta en mención fue aprobada por el Programa Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación en Ambiente, Biodiversidad y Hábitat, en la Convocatoria 818-2018 I+D+i Nariño, Código 65200 y desarrollada en consorcio por tres grupos categorizados en Colciencias: Biotecnología Microbiana (COL0021327 - Categoría B), Grupo de Investigación en Biología Matemática y Matemática Aplicada (COL0126928 - Categoría A), Grupo de Investigación Salud Pública (COL0003069 - Categoría A1).

A continuación, se presenta algunos resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto; se incluye metodologías estandarizadas de la detección de colifagos somáticos y *E. coli*, como también las bases preliminares de la formulación de los modelos matemáticos. Los resultados más específicos y de mayor análisis se encontrarán en corto plazo en publicaciones científicas direccionadas a la comunidad académica que sienta un mayor interés por este tipo de temáticas.

4.1 Descripción del área de estudio

El Lago Guamuez (LG), comúnmente conocido como laguna de La Cocha, es uno de los ecosistemas más importantes en Colombia; corresponde al segundo cuerpo de agua más grande del país y se encuentra ubicado en el departamento de Nariño (López y Palacios, 2015). Es un lago tropical de alta montaña que hace parte del humedal de importancia internacional RAMSAR; este sistema está localizado entre las coordenadas 0°50'-1°15' de latitud norte y 77°05'-77°20' de longitud oeste. Situado a una altura promedio de 2700 m s.n.m., su área es de aproximadamente 39000 ha (Ministerio del Medio Ambiente, 2000). Esta área es de origen volcánico y pertenece a la cuenca del río Guamuez; aquí sobresalen múltiples quebradas, turberas, páramos azonales y bosques altoandinos. Adicionalmente, es un área de importancia en cuanto a sus componentes étnicos y arqueológicos. Por otro lado, la cuenca del Guamuez medio y bajo presenta una variación térmica de acuerdo con la altitud; su clima se clasifica como súper húmedo, con temperaturas que oscilan entre 8 y 12 °C para un promedio de 11.6 °C (Ministerio del Medio Ambiente, 2000).

El régimen de lluvias es monomodal, entre 2000 y 3800 mm, siendo el periodo de mayores lluvias, entre los meses de abril y agosto y, lluvias mínimas, en diciembre (Ministerio del Medio Ambiente, 2000). La dinámica hidrológica de la cuenca se ve influenciada por el régimen amazónico que origina altas precipitaciones, que enriquecen las corrientes de los ríos y las quebradas de la zona.

Con respecto a los parámetros fisicoquímicos, en el Plan de Manejo Integral del Humedal Ramsar Laguna de la Cocha (Álvarez, 2015) se estipula los indicadores que permiten estimar el grado de contaminación orgánica de las aguas: Amonio, con valores que han oscilado históricamente entre 0.22 y 0.89 mg/L, los cuales han sido asociados con procesos de descomposición de materia orgánica por acción de los microorganismos, debido a la presencia de hidrocarburos petrogénicos (CORPONARIÑO, 2003), y la demanda bioquímica de oxígeno (DBO5), cuyo promedio anual se mantiene en los 7 mg/L. Sin embargo, los valores de DBO5 en algunas de las quebradas y efluentes del lago oscilan entre 7 y 22.16 mg/L, y, en los sitios en donde hay alta concentración de jaulas flotantes para cría de trucha, el nivel de DBO5 sobrepasa los 6 mg/L (Plan de Manejo Integral del Humedal Ramsar Laguna de la Cocha, Álvarez, 2015).

En todos los casos, para las muestras de agua de las quebradas y efluentes del lago, los niveles sobrepasan el límite permisible para aguas de abastecimiento humano (2,5 mg/L), pero están en los rangos normales reportados para aguas continentales de medio natural. Otro parámetro importante es la Demanda Química de Oxígeno (DQO) relacionada con la determinación del grado de contaminación inorgánica de las aguas del lago (Plan de Manejo Integral del Humedal Ramsar Laguna de la Cocha, Álvarez, 2015), para el cual, CORPONARIÑO (2003) reportó valores de 24 mg/L, que indican bajos niveles de reacciones químicas de oxidación de minerales y otros compuestos, ya que el límite permisible de DQO para aguas crudas susceptibles de tratamiento para consumo es de 55 mg/L. La relación DBO-DQO en el reporte Plan de Manejo Integral del Humedal Ramsar Laguna de la Cocha (Álvarez, 2015) mostró buenas condiciones de biodegradabilidad del sistema del humedal, por ser la zona del Humedal Ramsar, un área natural.

Con relación a la detección de microorganismos patógenos direccionada por el Ministerio del Medio Ambiente (2000) y realizada en la subcuenca del lago Guamuez, se observó que las muestras de agua que presentaron contaminación en aquella época fueron las provenientes del río El Encano, quebrada El Motilón, quebrada San José y quebrada Quillinzayaco, áreas que corresponden a la zona de mayor concentración poblacional. En este documento se describe cómo sobre el recurso hídrico existen alteraciones por la contaminación bacteriológica y fisicoquímica del agua, dada la proliferación de bacterias coliformes y la alteración de los parámetros fisicoquímicos por la incorporación de sustancias orgánicas e inorgánicas, respectivamente. Asimismo, se muestra la contaminación del agua por sedimentos y materiales de arrastre, ocasionada principalmente, por la erosión antropogénica.

Adicionalmente, estudios realizados por Moncayo y López (2021) en los que se determinó la dinámica espaciotemporal de la profundidad medida en el Lago Guamuez utilizando disco de Secchi, establecieron que, entre 2006-2008 y 2017-2020, hubo mayor variabilidad en los puntos de análisis de la investigación, con valores de 3,3 y 2,8 m, respectivamente, indicando mayor presencia de sedimentos, materia orgánica y contaminación.

Con relación a la biodiversidad, de acuerdo con la Política Nacional para Humedales interiores de Colombia (Ministerio del Medio Ambiente, 2002), los humedales del país concentran una proporción significativa de esta, representada en una flora y fauna relativamente restringida y especializada a estos ecosistemas. Estos también funcionan como hábitats clave para la fauna reofílica, como los peces de los ríos y como lugares de paso de la avifauna migratoria (Naranjo, 1997, citado por Acevedo-Charry et al., 2013).

Como se describe en el Plan de Acción en Biodiversidad 2006-2030 Nariño (Árevalo y Ruiz, 2007), la conservación del humedal RAMSAR de La Cocha, es relevante porque representa ecosistemas acuáticos alto-andinos; hábitat de especies acuáticas, sitios de anidamiento y alimentación para garzas, pollas de agua, patos zambullidores, alcaravanes y de especies consideradas con algún riesgo de extinción; sustenta especies vegetales y animales cuando se encuentran en una etapa crítica de su ciclo biológico o, les ofrece refugio cuando prevalecen condiciones adversas.

Según el Ministerio del Medio Ambiente (2002), entre las formaciones vegetales de estos ecosistemas y de gran importancia, se aprecia los páramos azonales, en donde habitan plantas como las turberas, con especies representativas como, musgos, helechos, frailejones, paja de páramo, entre otros. Las plantas acuáticas de importancia en los sistemas lóticos y lénticos presentes en el lago hacen parte de la familia *Cyperaceae*, representada en cuanto a extensión y cobertura en el cuerpo de agua con la totora y, en menor grado, la totorilla. A su alrededor, se halla bosques primarios, donde el estrato arbóreo dominante lo constituye el uraco y el encino y, en el arbustivo, predomina el amarillo y el helecho espinudo. En el estrato herbáceo predomina el helecho cuy, horqueta y el uvo y, como especie en vía de extinción, el pino hayuelo. Otras especies que presentan una alta reducción poblacional en algunas áreas son el naranjo y el amarillo; sobresalen algunas especies ornamentales como las orquídeas.

Igualmente, el Ministerio del Medio Ambiente (2002) sostiene que, estos ecosistemas han sido afectados por innumerables factores de intervención antropogénica, entre los que se destaca: las técnicas de manejo agrícola inadecuadas, la explotación desmesurada para el crecimiento de especies introducidas de peces con fines económicos como la producción y venta de la especie *Oncorhynchus mykiss* (trucha arcoíris), el incremento de los vertimientos de aguas residuales en las fuentes hídricas, desechos de hidrocarburos generados por los motores de las lanchas, producción de carbón, turismo (López y Palacios, 2015), la deforestación progresiva del bosque natural primario, secundario y deterioro del páramo azonal, ocasionado por la tala indiscriminada, los aprovechamientos ilícitos, y técnicas inadecuadas de manejo que, han generado un panorama alarmante con respecto a la calidad del agua e impacto en la salud de la población. Asimismo, la frontera agrícola se amplía anualmente en 625 ha, debido a la baja disponibilidad de tierras para uso agrícola. Adicional, las políticas de desarrollo sectorial son inconsistentes y desarticuladas, aumentando la amenaza de destrucción de los humedales en Colombia (Ministerio del Medio Ambiente, 2002).

4.2 Materiales y métodos

Para la ejecución de este proyecto, fueron definidas algunas estrategias metodológicas, todas encaminadas a responder la pregunta de

investigación: ¿Cuál es la diversidad de los indicadores microbiológicos *Escherichia coli* y colifagos somáticos aislados de muestras de agua del Lago Guamuez, ecosistema estratégico productivo de Nariño? Para esto, se hicieron muestreos mensuales durante seis meses, con la finalidad de monitorear los parámetros fisicoquímicos y relacionarlos con el recuento de los bioindicadores *E. coli* y colifagos somáticos en los puntos de recolección de muestras de agua. Los análisis a nivel microbiológico y de biología molecular fueron hechos en el Laboratorio 604 de Procesos Microbianos de la Universidad de Nariño y, algunos análisis fisicoquímicos complementarios diferentes a los análisis in situ fueron realizados en la empresa Empopasto. A continuación, se efectúa una descripción detallada de los métodos empleados:

4.2.1 Selección de puntos y toma de muestras en el Lago Guamuez

Para seleccionar los sitios de muestreo se realizó una triangulación del mapa del Lago Guamuez, de forma que se ubicaron nueve puntos para la toma de las muestras de agua (Figura 4.1); la Tabla 4.1 permite apreciar las coordenadas.

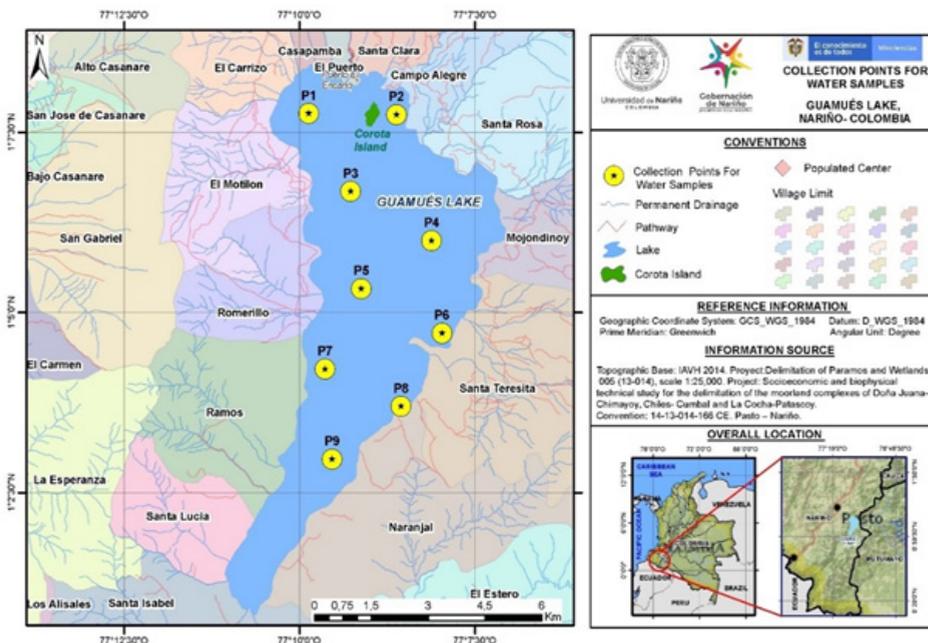


Figura 4.1 Puntos seleccionados para la recolección de agua del Lago Guamuez

Tabla 4.1

Coordenadas correspondientes a los puntos de muestreo establecidos en el proyecto

Punto	Latitud Norte	Longitud Oeste
<i>P1</i>	1°07'46"	77°09'52"
<i>P2</i>	1°07'45"	77°08'37"
<i>P3</i>	1°06'41"	77°09'16"
<i>P4</i>	1°06'00"	77°08'07"
<i>P5</i>	1°05'20"	77°09'07"
<i>P6</i>	1°04'43"	77°07'58"
<i>P7</i>	1°04'13"	77°09'38"
<i>P8</i>	1°03'42"	77°08'33"
<i>P9</i>	1°02'58"	77°09'32"

En cada punto, a 10 cm de profundidad, se tomaron, las muestras de agua por triplicado en frascos ámbar estériles de 500 mL (para análisis fisicoquímicos) y, en bolsas estériles *Whirl-Pack* de 1L (para los análisis microbiológicos). *In situ*, con el equipo multisonda *ThermoScientific Orion Start A329*, se determinaron los parámetros fisicoquímicos: temperatura, pH, ORP (potencial de oxidación-reducción), ISE, conductividad, sólidos totales disueltos, salinidad, resistividad y oxígeno disuelto, en cada uno de los puntos. Las muestras de agua fueron transportadas en condiciones de refrigeración hacia Empopasto para el análisis de cloruros, fosfatos, nitratos, nitritos y nitrógeno amoniacal y, al Laboratorio de Procesos Microbianos de la Universidad de Nariño, para la ejecución de los análisis microbiológicos y moleculares, enfocados inicialmente al aislamiento de *E. coli* y la detección de colifagos somáticos.

4.2.2 Aislamiento de *E. coli*

Para aislar *E. coli*, 100 mL de cada una de las muestras de agua (27) fueron filtradas por duplicado, 54 membranas en total, cada una colocada en sendas cajas petri conteniendo medio chromocult. Este medio permite la identificación simultánea de enterobacterias y *E. coli*, a través de dos sustratos cromógenos. El sustrato Salmon-GAL es escindido

por la enzima B-D-galactosidasa característica de coliformes y provoca una coloración roja de las colonias de coliformes. La identificación de la B-D-glucoronidasa característica para *E. coli* tiene lugar mediante el sustrato X-glucorónido, cuyo producto de escisión produce una coloración azul de las colonias positivas. Ya que *E. coli* escinde tanto Salmon-GAL como X-glucorónido, las colonias se tiñen de violeta-azul oscuro y, debido a ello, son fáciles de diferenciar de las restantes colonias de coliformes que se presentan de color rojo. El contenido de triptófano mejora la reacción de Indol para la confirmación adicional de la presencia de *E. coli* y aumenta con ello la seguridad de identificación en combinación con la reacción Salmon-GAL y la reacción X-glucorónido.

Posteriormente, las cajas de chromocult con las membranas fueron selladas herméticamente e incubadas en baño María a 44.5 ± 0.5 °C por 24 h. Terminado el tiempo de incubación, se realizó el recuento de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por 100 mL. Las colonias azules fueron tomadas como recuento de *E. coli* en 100 ml y, las rojas más las azules, se asumieron como recuento de enterobacterias UFC/100 ml. Entonces, para el aislamiento de *E. coli* se tomaron las colonias azules características del crecimiento de *E. coli* en este medio de cultivo, las cuales fueron codificadas y sembradas por agotamiento en agar Eosin Metil Blue (EMB Merck), e incubadas a 30 ± 0.5 °C por 18 a 24 h (Figura 4.2).

Las colonias sembradas que presentaron color verde metálico, característico del crecimiento de *E. coli* en el agar EMB (Figura 4.3), fueron transferidas al medio Luria Bertani (LB Merck) e incubadas a 37 °C durante 18 h. Para confirmar el género y especie, se realizó la caracterización macro y microscópica y se efectuaron las respectivas pruebas bioquímicas confirmatorias: Triple Sugar Iron Agar (TSI), Lisina Hierro Agar (LIA), Citrato de Simmons (CS), Indol, Metil Red-Voges-Proskauer (VP), Sulfide Índole Motility (SIM), oxidasa (-) (Farmer, 1995). Los aislados presuntivos de ser *E. coli* fueron llevados a conservación en medio LB a temperatura ambiente, para los posteriores análisis moleculares.

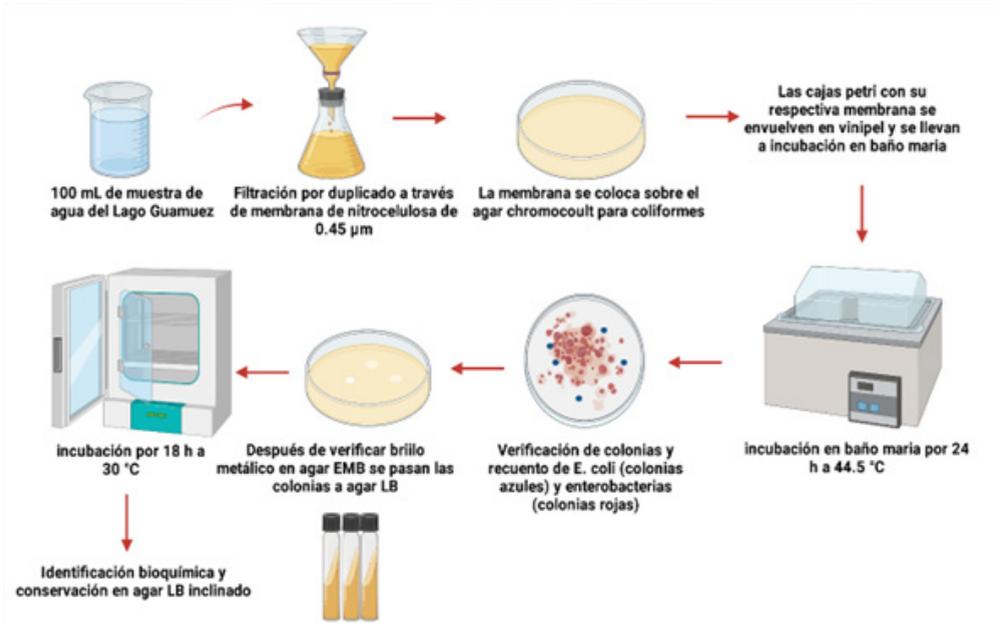


Figura 4.2 Procesamiento de muestras de agua para el aislamiento de *E. coli*

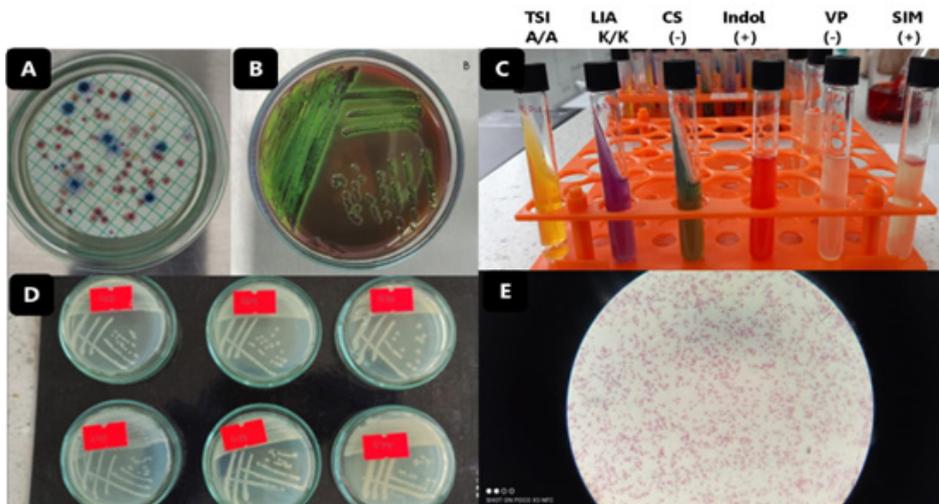


Figura 4.3 Aislamiento e identificación de *E. coli*. **A**). Crecimiento de colonias en agar Chromocult. **B**). Crecimiento de *E. coli* en medio EMB, se observa la coloración verde metálica característica. **C**). Siembra de *E. coli* por agotamiento en medio LB. **D**). Pruebas bioquímicas confirmatorias TSI (A/A) con gas, LIA (K/K), CS (-), Indol (+), VP (-), SIM (+), oxidasa (-). **E**). Observación microscópica de *E. coli*.

4.2.3 Aislamiento de colifagos somáticos

Para el caso de los colifagos somáticos, desde el día anterior a la toma de muestras se procedió a preparar a la bacteria hospedera *E. coli* ATCC 13706 en caldo triplicasa de soya (TSB Merck) y se incubó a 30 °C +/- 0.5 °C por 18 h (Figura 4.4).

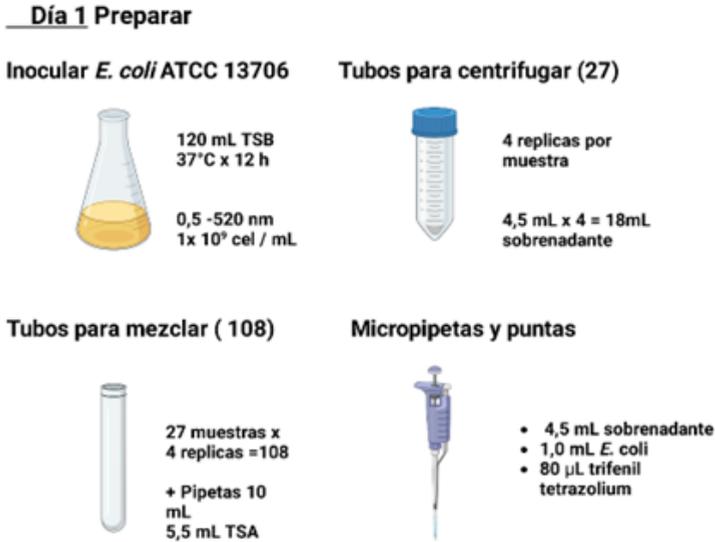


Figura 4.4 Preparación de cultivo de *E. coli* ATCC 13706 en medio TSB y preparación de material para muestreo

Al siguiente día, después de la toma de muestras, se procedió a realizar la metodología que permite la detección de los colifagos Norma N° 9211D (*American Public Health Association*, APHA, 1995). El protocolo inició con la centrifugación de 15 ml de las muestras de agua a 7800 rpm por 30 min. Se realizó una mezcla de 4.5 ml, 1 ml de *E. coli* y 80 µl de cloruro de trifenil tetrazolium, compuesto indicador de la presencia de metabolismo bacteriano que, además, facilita la observación de las placas de lisis bacteriana originadas por el crecimiento de los colifagos en sus células hospederas (Figura 4.5).

Finalmente, a la mezcla se le adicionó 5.5 ml del Agar Tripticasa de soya (TSA Merck) fundido; la mezcla se homogenizó con vórtex y se sirvió en cajas de Petri. Por cada replica biológica se sirvieron cuatro placas. Una vez solidificada la muestra, se incubó a 37 °C hasta que se observó las placas de lisis (entre 6 y 8 h).

Terminado el tiempo, se realizó un recuento de las placas de lisis observadas en los medios de cultivo. De acuerdo con sus características, fueron seleccionadas teniendo en cuenta la morfología de la placa y la presencia de precipitado en el interior. Las placas de lisis fueron cortadas directamente, tomadas y colocadas en medio TSB previamente crecido con la cepa hospedera de *E. coli* ATCC 13706.

Posteriormente, se realizó la titulación de los colifagos, con el fin de conservarlos, de acuerdo con las normas APHA (1995). Para ello, fueron preparadas diluciones seriadas, adicionando 500 L del sobrenadante de los colifagos por cada 4.5 mL de solución salina estéril 0,85 %, hasta llegar al factor de dilución de 10^{-8} . Las diluciones pares fueron tomadas y mezcladas con 5.5 mL de agar TSA fundido y 1 mL de la cepa patrón de *E. coli* ATCC 13706. Una vez preparada la mezcla, se sirvió en cajas de Petri y se incubó a 37 °C, hasta la observación de crecimiento bacteriano y placas de lisis (entre 6 y 10 h).

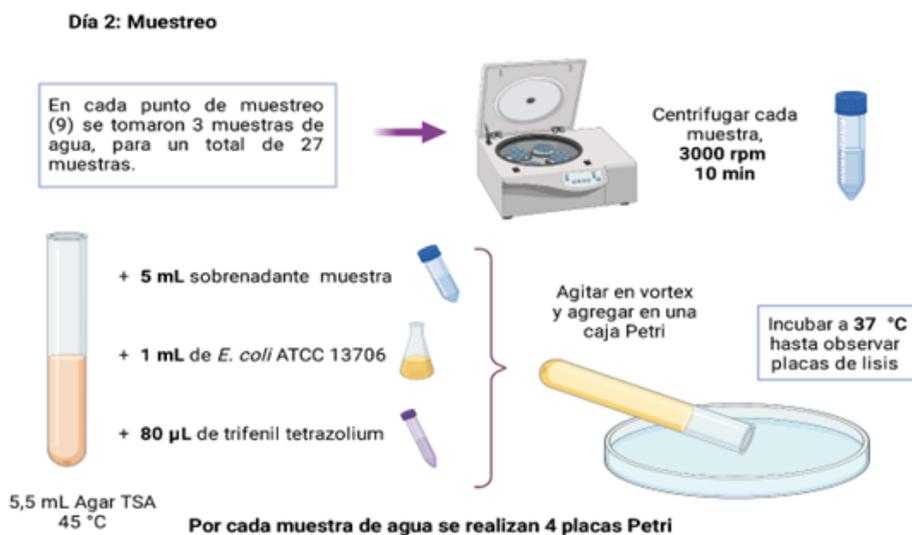


Figura 4.5 Segunda parte del protocolo de obtención de colifagos somáticos

4.2.4 Extracción de ADN

4.2.4.1 Extracción, cuantificación y análisis de ADN cromosomal de *E. coli* por electroforesis en geles de agarosa

La extracción de ADN de los aislados de *E. coli* se realizó con el kit comercial “Wizard® Genomic ADN Purification Kit”, siguiendo las instrucciones del fabricante (Figura 4.6). Se verificó la concentración e integridad del ADN cromosomal por espectrofotometría usando el *Nanodrop* (Thermo Scientific *Nanodrop One*®). Posteriormente, se ajustó la concentración del ADN de trabajo a 100 ng/μL con agua ultrapura (agua mili-q) y se estableció un banco de ADN stock (original), el cual se almacenó a -20 °C.

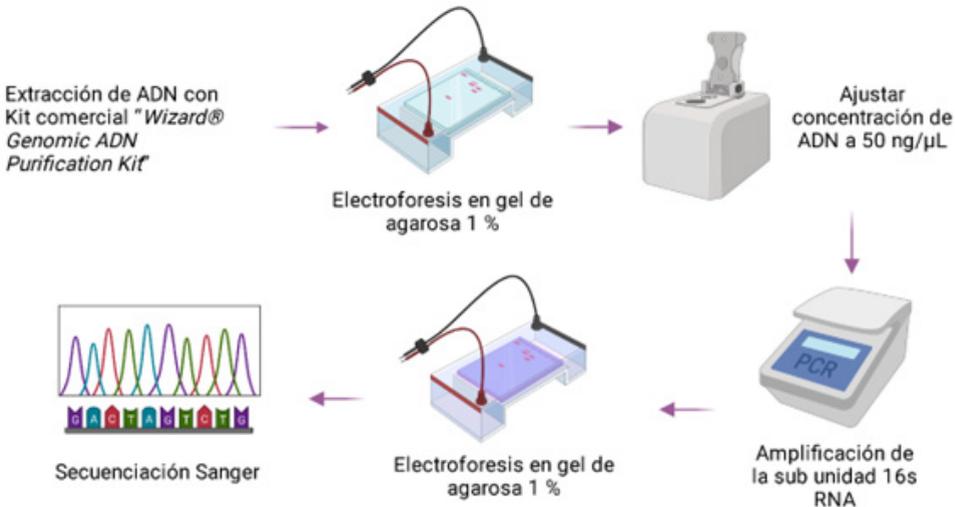


Figura 4.6 Flujo de trabajo para la extracción, cuantificación y análisis de calidad del ADN extraído a partir de los aislados de *E. coli*. Se incluye además la amplificación de la subunidad 16S ARNr

A continuación, se realizó el gel de electroforesis para evaluar la calidad del ADN extraído de las muestras (Figura 4.6). Para ello se preparó un gel de agarosa 1 % en tampón TAE 1X, se agregó al respectivo molde de la cámara, se colocó el peine para la construcción de los pozos y se dejó polimerizar. Se preparó una mezcla que contenía 2 μL de la solución de ADN y 1 μL del tampón de la muestra (azul de bromofenol 6 X) que contenía gel red en concentración final de 1 X y, como marcador de tamaño molecular, se utilizó *lambda Hind III* (Promega). Las condiciones

de la corrida electroforética fueron 80 V por 1.5 h (Burbano-Rosero et al., 2017), y se realizó en la cámara *Multisub Electrophoresis System Cleaver Scientific* usando TAE 1X como tampón de corrida. El gel fue visualizado en el transiluminador *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda de 302 nm.

4.2.4.2 Extracción, cuantificación y análisis de ADN de los colifagos somáticos por electroforesis en geles de agarosa

Para la extracción de ADN se aplicó el método de Lockett (1990) con algunas modificaciones. Del medio de cultivo donde se encontraba la cepa hospedera y el colifago somático, se tomó 1 ml y se llevó a un tubo para microcentrífuga en donde se le adicionaron 5 µl de ARNasa y se incubó en baño María a 37 °C por 1 h (Figura 4.7).

Terminado el tiempo, se adicionó 20 µl de ZnCl₂ 2M (previamente filtrado), se incubó a 37 °C por 15 min y se centrifugó a 8000 rpm por 10 min; se descartó la fase acuosa y se trabajó con el pellet, el cual fue resuspendido en 500 µl de tampón TES (Tris/EDTA/SDS). Se homogenizó en vortex e incubó a 65 °C por 15 min y se agregó 60 µl de Acetato de potasio 3M, se incubó en hielo por 15 min y se centrifugó a 8000 rpm por 10 min. El sobrenadante se transfirió a otro tubo para microcentrífuga y se descartó el pellet. A continuación, se adicionaron 100 µl de isopropanol 99,9 % grado molecular (Merck), necesario para facilitar la precipitación del ADN, y se centrifugó nuevamente a 8000 rpm por 10 min (Figura 4.7). Posterior a esto, se descartó el sobrenadante, el pellet se lavó con 200 µl de etanol a 70 % grado molecular, se centrifugó a 10000 rpm por 5 min y se dejó secar toda la noche a temperatura ambiente. Finalmente, el ADN se resuspendió en tampón TE (Tris/EDTA) y se realizó la cuantificación en el Nanodrop para determinar la concentración y calidad del ADN obtenido. Determinada la concentración, se procedió a realizar la electroforesis en gel de agarosa a 1 %, como se describió en el ítem anterior.

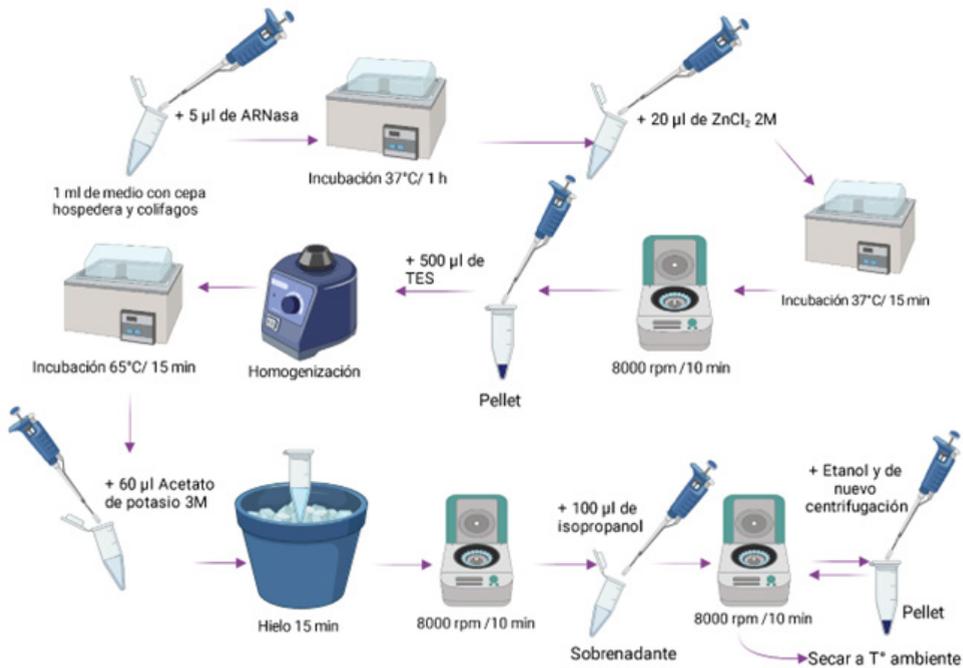


Figura 4.7 Flujo de trabajo de la extracción de ADN de los colifagos somáticos

4.2.5 Identificación molecular de las cepas de *E. coli*, por amplificación del gen 16S ARNr

Para la amplificación de la subunidad 16S rARN se empleó los primers 27F (5' – AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG – 3') (Weisburg et al., 1991) y 1041R (5' – CGG TGT DTA CAA GAC CC – 3') (Nübel, et al., 1996). Se trabajó a una concentración final de 0.4 µM de primers, 0.05 mM de mix de dNTPs, 0.025 u/µL de GoTaq DNA Polimerasa, 1 mM de MgCl₂. Se adicionó 10 L de tampón Colorless (Promega) y 32,75 L de H₂O ultrapura. Como control negativo se usó agua ultrapura grado molecular y, como control positivo, una muestra de ADN previamente amplificada. La amplificación de la subunidad 16S rARN se realizó por PCR en el termociclador (*Termociclador T100™ Touch. BIORAD*) con el siguiente programa de termociclado: 95 °C por 2 min, 30 ciclos de 94 °C por 2 min, 55 °C por 1 min, 72 °C por 3 min, y una extensión final de 10 min a 72 °C. La amplificación fue verificada por electroforesis en geles de agarosa a 1 % usando tampón TAE 1 X para la corrida; el montaje del gel se realizó

como se describió previamente. Las condiciones de corrida fueron 70 V por 1.5 h y el gel fue registrado y analizado usando el filtro de referencia E5001. Para que los amplicones fueran secuenciados en la empresa Macrogen-Korea, se procedió con el trámite de salida de muestras ante el Ministerio del Medio Ambiente - ANLA (Autoridad Nacional de Licencias Ambientales) y, después de cumplir con todos los requisitos documentales exigidos por la entidad, se nos aprobó la salida con los permisos pertinentes mediante expediente AIE0298-00-2021 No GITES 2591.

4.2.6 Análisis de variabilidad genética por BOX - PCR para *E. coli* y colifagos somáticos

Tanto para *E. coli* como para los colifagos somáticos en los análisis de BOX-PCR se empleó el primer BOX A1R (5'CTACGGCAAGGCGAC-GCTG 3') en el proceso de amplificación (Adiguzel, et al., 2009). La reacción (25µL) se realizó en una mezcla que contenía concentraciones finales de: 0.2 µM del iniciador BOX A1 (IDT - Integrated DNA Technologies), 0.025 mM del mix de dNTPs, 0.025 u/µL de Taq DNA Polimerasa (GoTaq[®] flexi DNA Polimerase (Promega)), 1 mM de MgCl₂, y fueron adicionados 5 µL de tampón Colorless (Promega). Para la reacción se utilizó 1 µL del ADN de cada muestra, ajustado a concentración de 100 ng/µL y, como control negativo, se usó agua ultrapura grado molecular. En el análisis de BOX-PCR para los colifagos somáticos, la reacción se realizó utilizando las mismas soluciones y concentraciones finales que para *E. coli*, pero para un volumen final de 50 µL, para lo cual fueron adicionados 2 µL de ADN ajustados a 100 ng/µL (Figura 4.8).

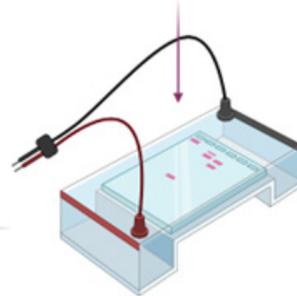
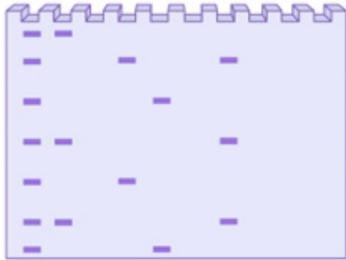
La PCR se realizó utilizando el siguiente programa de termociclado: 95 °C por 7 min, 30 ciclos de 94 °C por 1 min, 53 °C por 1 min y 65 °C por 8 min, con una extensión final de 15 min a 65 °C (Adiguzel et al., 2009). Las muestras fueron analizadas mediante electroforesis en geles de agarosa a 1 % - TAE 1X, como se describió en el ítem 4.2.4.1; las condiciones de corrida fueron 60 V por 1.5 h y, terminada la corrida, los geles fueron digitalizados en el equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda de 302 nm. Obtenidos los resultados, se efectuó los análisis de los polimorfismos utilizando el software libre *Photocaptw*.

Mezcla de reacción

BOX A1R 0,2mM
Mix dNTPs 0.025 mM
Taq Polimerasa 0.025 u / μ L
MgCl₂ 1 mM
5 μ L de tampón Colorless
1 μ L muestra de ADN



MIX



Análisis de polimorfismos (variabilidad genética), Software Photocaptw

Figura 4.8 Flujo de trabajo del Análisis de variabilidad genética por BOX – PCR para *E. coli* y colifagos somáticos

Nota: En la figura se observa las condiciones (mezcla de la reacción) y pasos a realizar para la técnica BOX – PCR respecto a los bioindicadores y el análisis realizado en el software Photocaptw, mediante la determinación del tamaño molecular de cada una de las bandas generadas.

4.2.7 Amplificación de genes asociados a patogenicidad

Para la vinculación de genes asociados a las islas de patogenicidad, se amplificaron los genes *terD*, *rfb*₀₁₀, *fliCH₄*, *lp*, *st* y *lt*, asociados a los diferentes serotipos de *E. coli*.

La PCR se realizó utilizando el siguiente programa de termociclado: 94 °C por 5 min, 30 ciclos de 94 °C, 30 s, 55 °C por 1min, con una extensión de 72 °C por 1 min y una extensión final de 72 °C por 5 min para los genes *terD*, *rfb*₀₁₀, *fliCH₄*, *lp*. Para los genes *lt* y *st* se trabajó con las condiciones propuestas por Burbano-Rosero (2017): 95 °C por 5 min, 40 ciclos de 95 °C por 40 s, 58 °C por 1 min, una extensión de 72 °C por 2 min y una extensión final de 72 °C por 7 min. El control negativo para la amplificación de todos los genes fue agua ultrapura grado molecular (Figura 4.9).

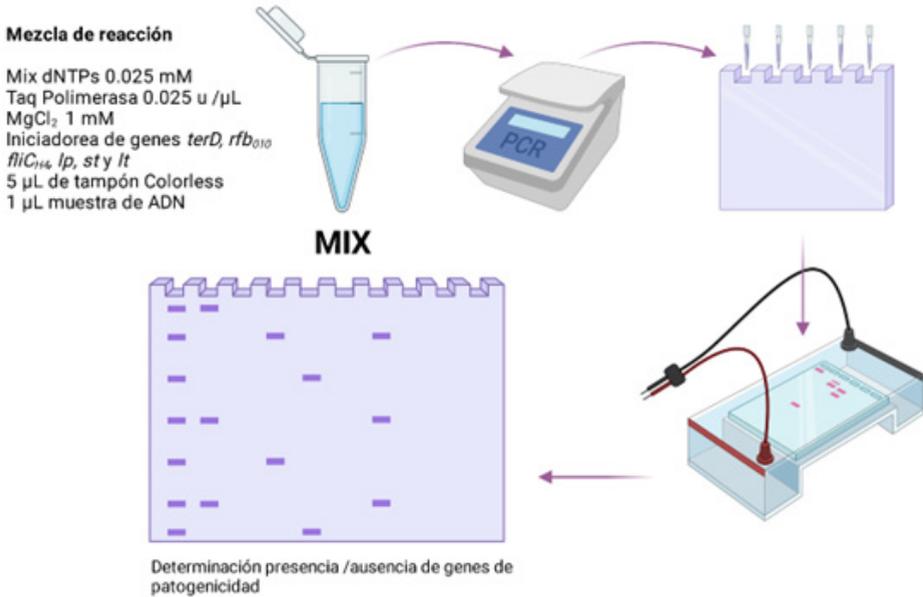


Figura 4.9 Flujo de trabajo genes asociados a Islas de Patogenicidad para *E. coli* y colifagos somáticos

Nota: En la figura se observa las condiciones (mezcla de la reacción) y pasos a realizar para la detección de genes de virulencia respecto a los bioindicadores y el análisis realizado mediante una matriz de presencia – ausencia.

4.2.8 Modelamiento matemático

Para formular el modelo matemático que describe la dinámica de interacción *E. coli*–colifagos somáticos en ciclo lítico, se tuvo en cuenta las siguientes consideraciones:

- La población de bacterias infectadas no presenta crecimiento
- Las bacterias requieren nutrientes y, por lo tanto, compiten por ellos en el medio
- El crecimiento de *E. coli* susceptible se modeló mediante una función logística con capacidad de carga (K) que sustente los individuos en el medio
- Una sola bacteria puede absorber más de un colifago somático, debido a que la célula bacteriana puede presentar múltiples receptores en la pared celular.

4.2.9 Análisis estadístico

Se usó el coeficiente Rho de Spearman para analizar la correlación lineal entre las variables de recuentos de *E. coli*, enterobacterias y colifagos somáticos con las variables fisicoquímicas, meteorológicas, hidrológicas, uso del suelo y microbiológicas. Complementariamente, para evaluar la variabilidad de estas últimas variables y su aporte a la variación total de las mismas en la región estudiada, se utilizó un análisis factorial con componentes principales.

4.3 Resultados y Discusión

Según lo descrito en el Plan de Manejo Integral del Humedal Ramsar Laguna de la Cocha (Álvarez, 2015), existen algunos factores que pueden contribuir con el deterioro de la calidad del agua del Lago Guamuez; entre ellos se incluyen, procesos erosivos, sedimentación del lago, deforestación, pérdida de biodiversidad y presencia de asentamientos humanos cercanos a las fuentes de agua. Según estudios realizados por López y Palacios (2015), el Lago Guamuez, hasta hace algunos años, fue considerado como oligotrófico o ultra oligotrófico, caracterización que lo refiere a un lago de baja contaminación ambiental.



Figura 4.10 Jaulas para acuicultura de trucha instaladas en diferentes espacios en el Lago Guamuez

Nota: En la Figura se logra observar una de las actividades que se desarrollan en el Lago Guamuez como la acuicultura, mediante la implementación de jaulas flotantes, destinadas para la producción de trucha. Estas fotografías fueron tomadas en los puntos de colecta número 2, 7 y 8.

No obstante, en los últimos años se ha intensificado la acuicultura, actividad que se relaciona directamente con la calidad de los cuerpos de agua (Price et al., 2015). En este sentido, durante la recolección de las muestras de agua, se pudo observar en lugares cercanos a los puntos de muestreo, la presencia de varias jaulas de cría de trucha arcoíris (Figura 4.10) y, los recuentos de los microorganismos bioindicadores fueron mayores que los puntos que presentaban jaulas más distantes.

Es importante resaltar que, el lago tiene 16 km de largo, un ancho de 6 km y una profundidad máxima de 75 m. La superficie es de 42 km², el volumen de agua de $1,55 \times 10^9$ m³ y es afluente del río Guamuez (Duque-Trujillo et al., 2016).

Además del río Guamuez, el lago recibe otros 26 afluentes en una cuenca de 225,9 km² que se encuentra entre 2780 y 3650 m s.n.m. (Duque-Trujillo et al., 2016). Según información dada por parte de CORPONARIÑO, existen 86 proyectos de jaulas flotantes para la cría de trucha arcoíris, que pueden ser de diferentes tamaños. Esta observación es importante porque, aunque la superficie del lago es extensa, esa cantidad de jaulas es un número considerable para incidir en la intervención antropogénica, causando la contaminación.

Estudios previos realizados por López-Macias y Salas-Benavides (2013) han descrito que, las actividades acuícolas en granjas de jaulas flotantes tienen afectación contra la biodiversidad en el Lago Guamuez. Los investigadores evaluaron durante 90 días, los parámetros limnológicos del lago, con el propósito de establecer el efecto de la producción de trucha arcoíris en jaulas flotantes, en la eutrofización de este cuerpo de agua. Concluyeron que, existen valores elevados de nitrógeno cerca de las jaulas flotantes de mayor producción, debido a las excretas de las truchas, los flujos procedentes de las salas de evisceración que, en algunas explotaciones, llegan directamente al lago y el alimento no consumido por los peces, que se acumula en el fondo del cuerpo de agua, sufriendo procesos de descomposición aerobios y anaerobios que liberan gradualmente en la columna de agua, fósforo y nitrógeno.

Esto resulta un motivo de preocupación, ya que las acumulaciones, sedimentos y aumento de algunos parámetros como N y P pueden relacionarse con la proliferación de microorganismos patógenos que afectarían directa o indirectamente la calidad de agua de estos ecosistemas

acuáticos (González-Legarda et al., 2017). Por lo tanto, en el caso del Lago Guamuez, la presencia de estas jaulas sin un plan integral para el desarrollo de las actividades de uso del cuerpo hídrico tiende a generar más efectos negativos que positivos sobre la calidad del agua y las poblaciones aledañas. Es importante resaltar que, la contribución al aumento de la contaminación por la presencia de estos peces se debe, principalmente, al aumento de los sedimentos por el uso de concentrado para la alimentación y la producción de heces, procesos que no cuentan con sistemas de tratamiento para su inactivación (Imues-Figueroa et al., 2018).

Por otro lado, además de la piscicultura, otros factores pueden deteriorar la calidad de los cuerpos de agua; como son: la agricultura (Mali et al., 2015) y el turismo, pues el flujo de personas casi a diario, en especial los fines de semana, es muy alto (Redacción Turismo. Colombia.com, 2013); por ende, su uso como fuente de agua potable ha llevado a que estos cuerpos de agua puedan actuar como sumideros de contaminantes liberados de manera intensiva. Como resultado, y debido al aumento del desarrollo urbano y agrícola de la región, han surgido problemas relacionados con la erosión, sedimentación y eutrofización del lago (Mali et al., 2015). Otro factor importante para considerar es que, en el Lago Guamuez existen plantas acuáticas invasoras que han proliferado por el aumento en las concentraciones de nitrógeno y fósforo, contribuyendo a la eutrofización y afectación de la biodiversidad (Quintero, 2006).

Es igualmente importante considerar algunos datos exclusivos del lago para atender la afectación a la que nos estamos refiriendo. Según el Instituto Alexander Von Humboldt, *World Wildlife Fund Colombia* (WWF), Asociación Para El Desarrollo Campesino (ADC) (2004), el 52,08 % de la población total del área estudiada cuenta con el suministro de agua por acueducto; el 19,86 % la toma de nacimientos; el 11,44 % lo hace de un aljibe o pozo; el 6,72 % de quebradas y, un 3,74 % directamente del río Guamuez. Este recurso hídrico, cuando se usa de forma directa, se consume sin ningún proceso de potabilización, razón por la cual se constituye en un factor esencial de generación de enfermedades en la comunidad.

Por otra parte, existen algunos datos sobre cómo los habitantes del corregimiento de El Encano evacúan sus excretas, entre estos se encuentran, a través de pozo séptico (45,70 %); a campo abierto (19,60 %);

alcantarillado (10,80 %); quebradas (5 %) y, directamente en la laguna (4,88 %). Estos datos muestran la disposición inadecuada de excretas y de residuos sólidos que, además de perjudicar la calidad de vida y las condiciones de producción, afectan la integridad de esta fuente de agua en particular. Dicho deterioro, unido a la carencia de agua potable, crean ambientes insalubres que propician las enfermedades y disminuyen la productividad de la población (Organización Mundial de la Salud, 2019).

4.3.1 Análisis fisicoquímicos

En la Tabla 4.2 se presenta los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos correspondientes a las diferentes colectas; se observó que no existe una variación significativa en la temperatura, pH, conductividad, sólidos totales, salinidad, resistividad, oxígeno disuelto y cloruros.

Tabla 4.2

Media de los parámetros fisicoquímicos determinados en las recolecciones de muestras de agua

Parámetro Físicoquímico		M-01 Octubre 2021	M-02 Noviembre 2020	M-03 Diciembre 2020	M-04 Enero 2021	M-05 Marzo 2021	M-06 Abril 2021
Temperatura (°C)		16,7	16,87	16,8	16,4	16,5	16,3
pH		7,47	7,59	7,7	7,73	8,41	7,66
Potencial Oxidación y Reducción	Mv	-14,9	-26,4	-32,2	-34,9	-79,25	-45,42
	ORP	-15,37	-26,41	-32,2	-34,8	-79,37	-45,76
ISE (ppb)		0,55	0,36	0,29	0,26	0,035	0,19
Conductividad (Ms/cm)		42,59	43,95	43,84	42,66	9,46	9,42
Sólidos Totales		21,68	22	21,97	21,96	5,12	5,11
Salinidad (psu)		0,074	0,075	0,075	0,075	0,061	0,061
Resistividad		23,09	22,8	22,84	22,84	105,97	106,2
Oxígeno Disuelto		6,73	7,11	7,17	7,33	7,33	7,33

Parámetro Físicoquímico	M-01 Octubre 2021	M-02 Noviembre 2020	M-03 Diciembre 2020	M-04 Enero 2021	M-05 Marzo 2021	M-06 Abril 2021
Cloruros (mg Cl/L)	3,36	3,16	3,99	4,57	4,51	4,6
Fosfatos (mg PO4/L)	0,085	0,68	0,077	0,16	0,16	0,19
Nitratos (mg NO3/L)	0,58	0,91	0,69	0,57	0,21	0,54
Nitritos (mg NO2/L)	0,039	0,021	0,059	0,033	0,025	0,030
Nitrógeno amoniacal (mg NH4/L)	0,087	0,38	0,182	0,4	0,37	0,27
Pluviosidad	0	0,4	0	5,1	5,6	16,6

*M: Muestreo

4.3.2 Análisis Factorial con Componentes Principales

Mediante un análisis factorial con componentes principales (ACP) se estableció que, variables físicoquímicas, meteorológicas, hidrológicas, uso del suelo y microbiológicas presentan mayor variabilidad en la región estudiada. Según los resultados, que se pueden evidenciar en la Tabla 4.3, las variables conductividad, sólidos totales disueltos, salinidad, resistividad y pluviosidad se agrupan en una primera componente, la cual aporta el mayor peso, con el 51,06 % de la varianza total de las variables observadas, y los parámetros pH, Mv, ORP e ISE tienen el mayor peso en la segunda componente y aportan el 10,34 % a la varianza total de los datos.

Tabla 4.3
Análisis estadístico - Matriz de componentes

Matriz de componentes rotado					
Variables	Componentes				
Temperatura			0,78		
pH		0,85			
Mv		0,84			
ORP		0,84			
ISE (ppb)		0,82			
Conductividad (Ms/cm)	0,901				
Sólidos totales disueltos (ppm)	0,901				
Salinidad (psu)	0,9				
Resistividad (Kohm*cm)	0,9				
Oxígeno disuelto (mg/L)					
Cloruros (mg Cl-/L)					
Fosfatos (mg PO4/L)				0,71	
Nitratos (mg NO3/L)					0,83
Nitritos (mg NO2/L)				0,762	
Nitrógeno amoniacal (mg NH4/L)					
Pluviosidad (mm)	0,87				

El mayor peso de la tercera componente lo tiene la temperatura. Fosfatos y nitritos soportan el mayor peso del cuarto componente. Y en la quinta componente los nitratos. Oxígeno disuelto y cloruros presentan un aporte mínimo en las cinco componentes, que aportan un poco más de 85 % de la varianza total de los datos observados en las variables medidas. La Figura 4.11 presenta el agrupamiento de dichas variables, según la correlación entre las mismas y el aporte a las dos primeras componentes del ACP.

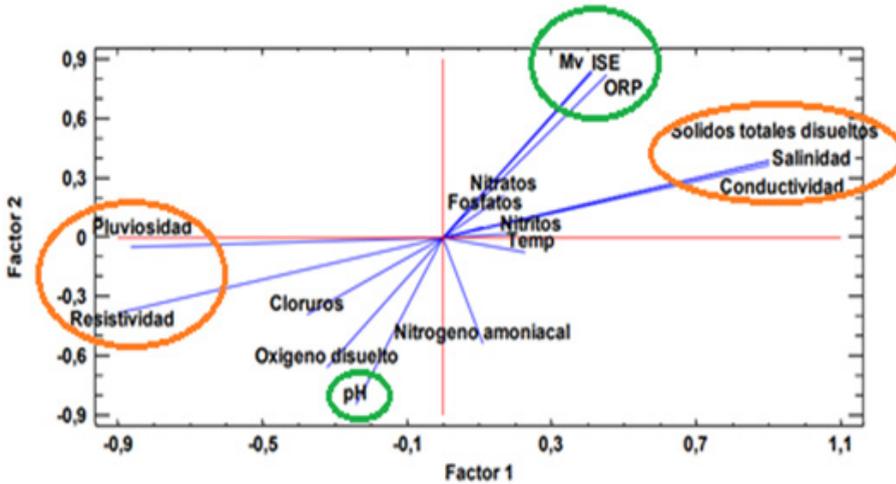


Figura 4.11 Variables con mayor aporte a la varianza total, en las dos primeras componentes, de los parámetros fisicoquímicos estudiados

Nota: En la figura se determinó que las variables con mayor aporte son la conductividad, sólidos totales disueltos, salinidad, resistividad y pluviosidad, representando el 51,06 % de la varianza total de los datos.

4.3.3 Recuentos de *E. coli* y colifagos somáticos en los puntos de muestreo del Lago Guamuez

En la tabla 4.4 y figuras 4.12 y 4.13 se observa el recuento de colonias de *E. coli* y enterobacterias; se resalta que el punto 2 del total de los muestreos fue el que presentó mayor número de UFC/100 mL y, el menor número se encuentra en el punto 9; de igual manera, se observa que, para enterobacterias, el menor y mayor número registrado en UFC/100 mL fueron los puntos 9 y 2, respectivamente.

Los resultados obtenidos muestran que existe un mayor recuento de *E. coli* en los puntos de muestreo 2 y 4, de manera que fueron los sitios con mayores índices de contaminación microbiológica. Con relación al punto 2, se observa que los recuentos de *E. coli* fueron mayores durante la segunda colecta. La presencia de *E. coli* como bioindicador en altas concentraciones en este lugar de muestreo y en esta fecha de toma de muestras, indica la presencia de un evento relacionado con contaminación fecal que contribuyó a disminuir la calidad del agua en este espacio del lago de forma considerable.

Tabla 4.4

Recuento de enterobacterias, *E. coli* y colifagos somáticos por cada punto en seis muestreos

RECuentos de los bioindicadores																		
Puntos de muestreo	<i>E. coli</i> (UFC/100mL)						Enterobacterias (UFC/100 mL)						Colifagos somáticos (UFP/100 mL)					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M1	M2	M3	M4	M5	M 6	M1	M2	M3	M4	M5	M6
P1	2	5,2	0	4	1	2,7	5	57,33	9,5	96	109	40,5	0,0	3,3	7,5	541,7	718,3	715,0
P2	3,8	49,5	0	5,2	3,3	6,2	0,5	17	7,8	58,2	130,3	19,2	0,0	6,7	7,5	205,0	16,7	484,2
P3	0	4,5	0	3	1,2	1	2,17	13,83	162,83	23	25,17	0,33	0,0	1,7	0,0	38,3	160,8	266,7
P4	0,3	3,2	1,2	5,8	1	14	1,17	6,33	60,33	31,33	41,5	30,17	0,0	8,3	9,2	9,2	218,3	0,0
P5	0,2	2	1,7	2,8	1,7	1,3	0,67	9,17	6,33	35,83	42,83	5,67	1,7	2,5	1,7	0,0	9,2	393,5
P6	0	0,5	0	1,7	6,7	0,5	1,67	3,17	6	1,17	14,33	9	2,5	0,8	1,7	0,0	21,7	1,7
P7	0,2	1,7	1,2	1	0,7	0	0,83	1,5	3,67	7	3,33	12	4,2	0,0	155,8	0,0	0,8	532,5
P8	0	0,3	0,7	2,2	0,5	0,2	7	1,5	35,33	4,5	3,83	5,17	0,0	11,7	585,0	266,7	7,5	207,0
P9	0,8	0,7	0,2	1,2	0,3	0,3	2,67	1,67	2	0	9	2,33	0,0	0,0	267,5	0,8	98,3	0,0

M*: Muestrei

Al realizar el recuento de colifagos somáticos (Figura 4.14), la mayor cantidad fue observada en los puntos de muestreo 1 y 8, con diferencias de recuentos dependientes de las fechas de las colectas. No obstante, durante la tercera colecta, hubo un aumento considerable en los colifagos en la mayoría de los puntos de muestreo, con excepción de los puntos 4, 6 y 9.

Dadas las diferentes condiciones ambientales, *E. coli* no presenta una tasa de supervivencia alta en ambientes externos al intestino delgado de animales homeotermos; sin embargo, una alta presencia de esta cepa bacteriana en ambientes acuáticos se debe, principalmente, a la continua transferencia de estos microorganismos a través de fuentes de contaminación humana (Larrea-Murrell et al., 2013). Debido a lo anterior, la alta presencia de *E. coli* y coliformes termotolerantes en los muestreos realizados en la laguna de La Cocha, hacen referencia a una continua deposición de aguas residuales o contaminación antropogénica por parte de la comunidad (Barrera-Escorcía et al., 2013; Andrade y Barros, 2019); esto se evidencia, esencialmente, en los primeros puntos de muestreo, los cuales estuvieron ubicados cerca a zonas de turismo y alta densidad poblacional, lo que se correlaciona con los estudios realizados por Dayanti et al. (2018), quienes describieron que existe una correlación indirecta entre el número de bacterias (*E. coli*) y la profundidad de un pozo séptico y la distancia de este con respecto a la fuente de agua; es decir, a una menor profundidad y distancia, la abundancia de bacterias y microorganismos patógenos se incrementa.

Por otro lado, Ngong et al. (2019) identificaron que, el mayor número de bacterias se encuentra en aguas estancadas como lagos, en comparación con aguas móviles (ríos), debido a que, en las primeras no existe el recambio entre agua nueva y agua contaminada, incrementando de esta forma la deposición de partículas en suspensión y favoreciendo el crecimiento de microorganismos patógenos en estos ambientes, lo que concuerda con nuestros resultados, debido a que el Lago Guamuez es un lago tropical con poca o ninguna movilidad, en el cual se realizan actividades de acuicultura y una continua deposición de materia orgánica por parte de la comunidad, lo que hacen de este, un ambiente con alta densidad poblacional de bacterias patógenas. De igual manera, Frago-Castilla et al. (2021) indican que no existe una relación entre variables

fisicoquímicas y el porcentaje de presencia y remoción de coliformes en un sistema de lagunas de oxidación de la ciudad de Valledupar y, el nivel de contaminación en este tipo de ecosistemas acuáticos que no presentan recambio de agua es considerablemente alto.

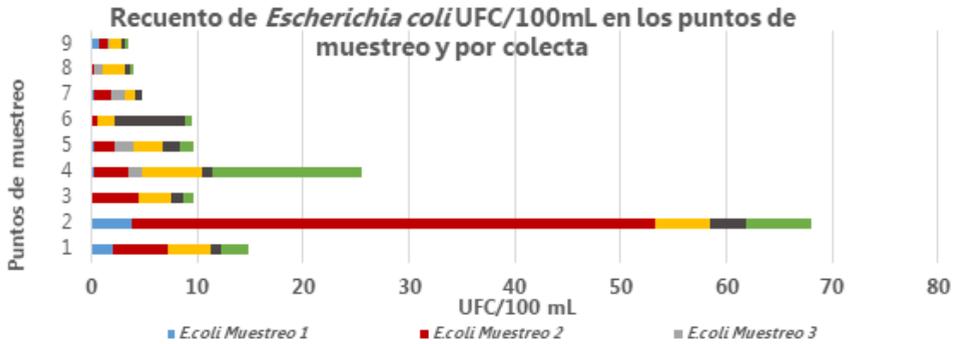


Figura 4.12 Media del recuento de *Escherichia coli* (UFC/100mL) discriminada por muestreo y por cada punto de recolección de muestras de agua.

Nota: En la figura se observa que el mayor recuento de *E. coli* se presentó en el punto de colecta 2 y 4; relacionado probablemente con el grado de contaminación antrópica y la cercanía con la población aledaña.

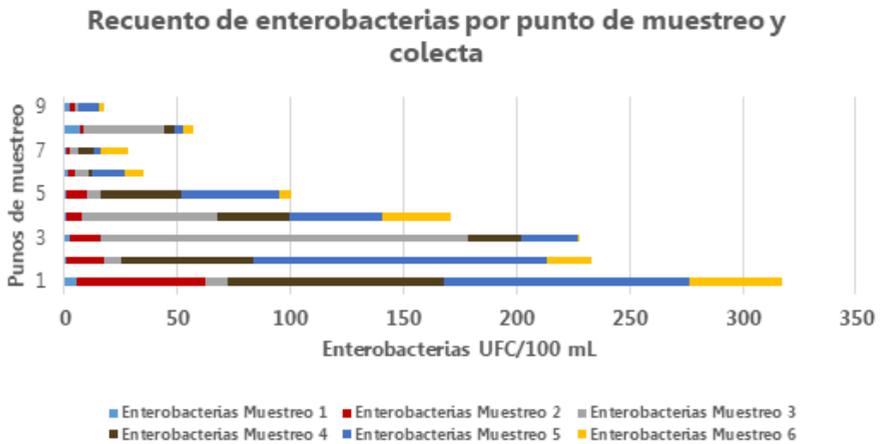


Figura 4.13 Media del recuento de enterobacterias (UFC/100mL) discriminada por muestreo y por cada punto de recolección de muestras de agua.

Nota: En la figura se observa que el mayor y menor recuento de enterobacterias corresponden a los puntos de colecta 1 y 9 respectivamente, y en el muestreo número 5 se presentó un mayor número de UFC/mL.

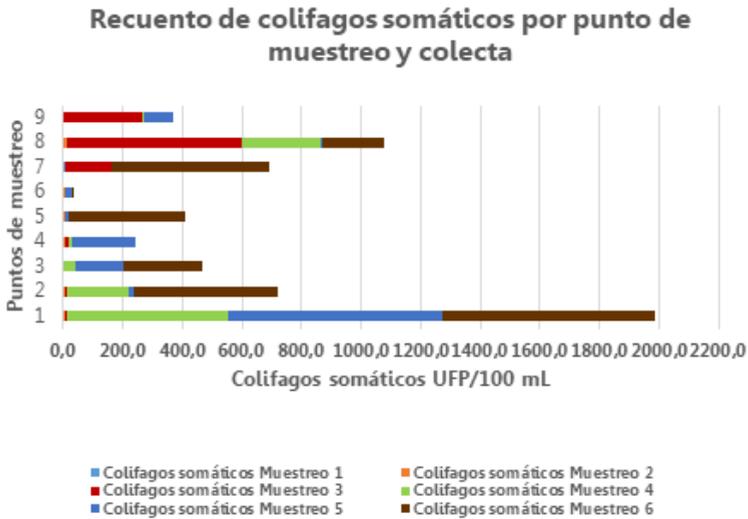


Figura 4.14 Media del recuento de colifagos somáticos (UFP/100mL) discriminada por muestreo y por cada punto de recolección de muestras de agua

Nota: En la figura sobresalen los mayores recuentos de colifagos somáticos, que corresponden a los puntos de colecta 1 y 8, esto confirma las variaciones entre los muestreos y los datos de colecta en que fueron realizados.

4.3.4 Análisis estadísticos de correlación entre análisis microbiológicos y fisicoquímicos

Mediante el coeficiente de correlación de Spearman fueron establecidos los parámetros fisicoquímicos que se correlacionan con las concentraciones de *E. coli*, enterobacterias y colifagos somáticos. Las Tablas 4.5, 4.6 y 4.7 presentan los resultados con correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0,005$). Como se observa en ellas, los parámetros Fosfatos, Nitrógeno amoniacal y Pluviosidad con la concentración de *E. coli*, con enterobacterias se correlacionan con los parámetros Mv, ORP, ISE y Oxígeno disuelto, mientras que con la concentración de colifagos son varios los parámetros fisicoquímicos correlacionados: H, v, RP, SV, Conductividad, Sólidos totales, Salinidad, Resistividad, Oxígeno disuelto, Cloruros y Pluviosidad.

Tabla 4.5

Correlaciones lineales significativas (p valor $<0,05$) de concentración de *E. coli* con parámetros fisicoquímicos

Rho de Spearman		Fosfatos (mg PO ₄ /L)	Nitrógeno amoniacal (mg NH ₄ /L)	Pluviosidad (mm)
<i>E. coli</i>	Coeficiente	0,3	0,34	0,314
	p valor	0,03	0,01	0,02

Tabla 4.6

Correlaciones lineales significativas (p valor $<0,05$) de concentración de Enterobacterias con parámetros fisicoquímicos

Rho de Spearman		Mv	ORP	ISE (ppb)	Oxígeno disuelto (mg/L)
Enterobacterias	Coeficiente	-0,308	0,306	0,432	0,304
	p valor	0,023	0,024	0,001	0,026

Tabla 4.7

Correlaciones lineales significativas (p valor $<0,05$) de concentración de colifagos con parámetros fisicoquímicos

Rho de Spearman		H	v	RP	SE	Conductividad	Sólidos totales	Salinidad	Resistividad	Oxígeno disuelto	Clo-ruros	Plu- v- io- si- dad
Colifa- gos	coef.	0,426	0,54	0,543	0,624	-0,344	0,302	0,311	0,297	0,54	0,382	0,431
	Valor	0,001	0,000	0,000	0,000	0,011	0,027	0,022	0,029	0,000	0,004	0,001

Igualmente, mediante el coeficiente de Spearman, se determinó la correlación entre las concentraciones de *E. coli*, enterobacterias y colifagos somáticos, encontrando correlaciones significativas entre las dos primeras y las dos últimas, cuyos resultados se puede evidenciar en la Tabla 4.8

Tabla 4.8

Correlaciones entre concentraciones de *E. coli*, enterobacterias y colifagos somáticos:

Variables	Spearman	valor
<i>E. coli</i> con enterobacterias	0,337*	0,013
<i>E. coli</i> con colifagos somáticos	0,143	0,301
Enterobacterias con colifagos somáticos	0,309*	0,023

**p* valor <0.05

4.3.5 Caracterización microbiológica de *E. coli*

Según las características morfológicas y bioquímicas, se obtuvo un total de 412 aislados, a los cuales les fueron determinadas las características microscópicas y macroscópicas. Según su morfología microscópica, corresponden en su totalidad a bacilos gramnegativos; de igual manera, se resalta una uniformidad en los atributos culturales de los aislados bacterianos, exceptuando pequeñas diferencias en el tamaño, margen y elevación de las colonias (forma circular, margen entero, con elevación, superficie lisa, textura cremosa, propiedad óptica brillante, tamaño pequeñas, configuración redonda, color crema). La descripción morfológica de los aislados es importante, ya que es uno de los primeros niveles de identificación y clasificación de los microorganismos; sin embargo, se debe tener en cuenta que algunos de los atributos morfológicos pueden variar, dependiendo del medio y las condiciones de cultivo; por lo tanto, es esencial que este tipo de procesos se lleve a cabo bajo condiciones controladas, asegurando la reproducibilidad de los resultados (Figuras 4.15 y 4.16) (Gutiérrez-Jiménez et al., 2015; Porres y Ruiz , 2018).

La mayoría de los aislados bacterianos exhibieron características bioquímicas similares, presentando una respuesta positiva para la producción de indol, ácidos láctico, fórmico y succínico, producción de gas, fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y movilidad. Una respuesta negativa para la producción de DI-acetil, citocromo oxidasa, ácido sulfhídrico, uso de citrato como única fuente de carbono y descarboxilación de lisina. Aquellos aislados que tuvieron variaciones en estas pruebas fueron descartados. Teniendo como referencia la caracterización

microbiológica y las características propias de la especie *E. coli*, reportadas en el manual Garrity (2005), se establece que, los 390 aislados, presuntivamente pertenecen a esta especie.

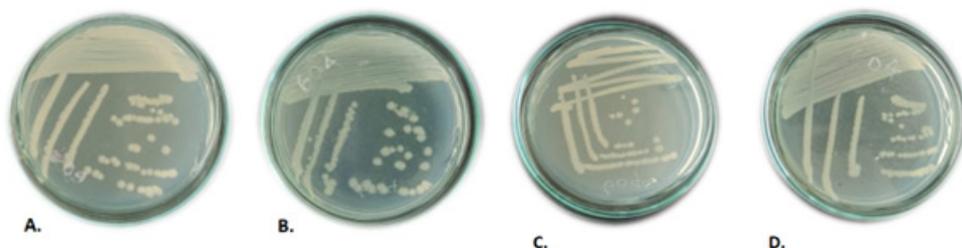


Figura 4.15 Características macroscópicas de los aislados de *E. coli*. **A.** Aislado 26. **B.** Aislado 28. **C.** Aislado 31. **D.** Aislado 32. La imagen indica características uniformes entre los diferentes aislados

Nota: En la figura se indican las características macroscópicas (colonias con forma circular, margen entero, con elevación, superficie lisa, textura cremosa, propiedad óptica brillante, tamaño pequeñas, configuración redonda, color crema) en los aislados de *E. coli*

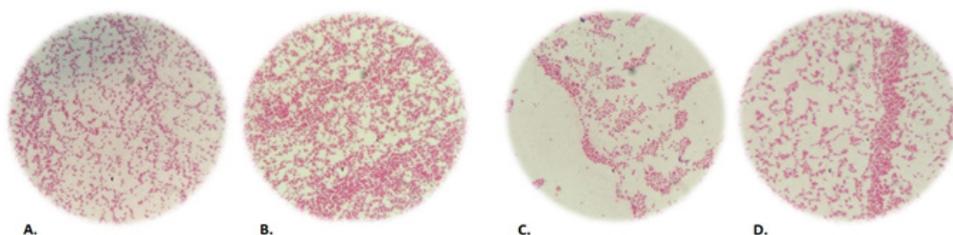


Figura 4.16 Coloración de gram de los aislados de *E. coli*.

Nota: En la figura se observan algunos de los aislados bacterianos provenientes de muestras de agua del Lago Guamuez, los cuales presentan una morfología bacilar y agrupaciones características como diplobacilos y empalizada. **A.** Aislado 1. **B.** Aislado 5. **C.** Aislado 11. **D.** Aislado 16. Aumento real observado 1000X.

4.3.6. Extracción de ácido nucleico de los bioindicadores *E. coli* y colifagos somáticos

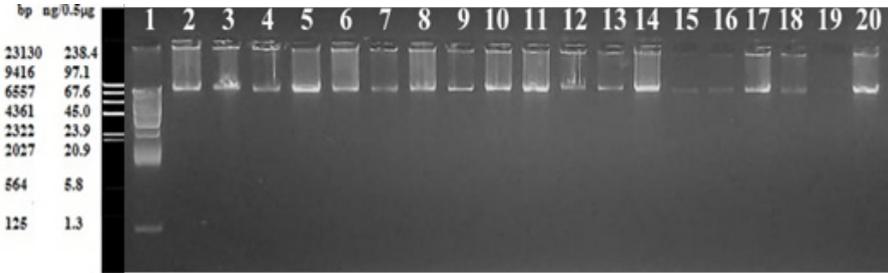


Figura 4.17 Verificación de extracción de ADN cromosomal

Nota: Gel de agarosa 1 %, corrido en buffer TBE 1X a 70 V durante 1 hora y 30 minutos, tratado con Gel Red (Biotium) y fotodocumentado en el equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda de 302 nm. En el primer carril se observa el marcador molecular 1Kb (Promega); en los carriles 2 a 20, se encuentran los aislados 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20 y 21 de los aislados de *E. coli* de muestras de agua del Lago Guamuez.

Una vez se realizó la extracción de ADN cromosomal de *E. coli*, se obtuvieron buenos resultados, respecto a calidad y cantidad de material genético (mayor o igual a 100 ng/ μ L y todos en el rango de 1.8-2.0 en la relación absorbancia 260/280 nm). Por tanto, el ADN obtenido fue adecuado para la realización de posteriores procedimientos moleculares (Chávez-Jacobo et al., 2017; Sambrook, 2001).

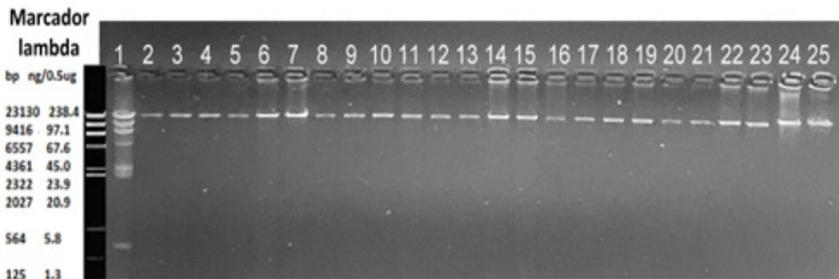


Figura 4.18 Verificación de extracción de ADN de los colifagos somáticos

Nota: Gel de agarosa 1 %, corrido en buffer TBE 1X a 70 V por 1h, tratado con Gel Red (Biotium) y fotodocumentado en el equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda de 302 nm. En el primer carril se observa el marcador de tamaño molecular 1Kb (Promega); en los carriles 2 a 25, correspondientemente, ácido nucleico de los colifagos 33-44 (por duplicado) aislados de muestras

de agua del Lago Guamuez. En el gel de agarosa se puede observar la calidad y concentración aproximada del ADN de aislados de colifagos somáticos, respecto a las bandas generadas por el marcador de tamaño molecular.

En cuanto a los colifagos somáticos, como se observa en la figura 4.18, el ADN obtenido fue adecuado para la realización de los protocolos moleculares, se puede observar las bandas muy bien definidas, que concuerdan con el rango de absorbancia relación A260/280 entre 1.8 y 2.0 que refiere a un DNA de buena calidad, cuando fue medido en el nanodrop.

4.3.7. Análisis molecular 16s *E. coli*

Como producto esperado después del proceso de termociclado, se obtuvo un valor para la PCR de, aproximadamente, 1500 pb (Figura 4.19), característico del gen 16s rRNA. Según estudios realizados por Pereira et al., (2016) en bacterias aisladas del ambiente y por Herrera (2017), se reportó que el gen 16s rRNA posee un tamaño molecular de 1500 pb. Cabe resaltar que el gen 16s rRNA suministra información valiosa para la caracterización molecular de especies bacterianas, ya que es un marcador ampliamente utilizado en estudios de filogenia y taxonomía bacteriana (Anguisaca y Castañeda, 2016).

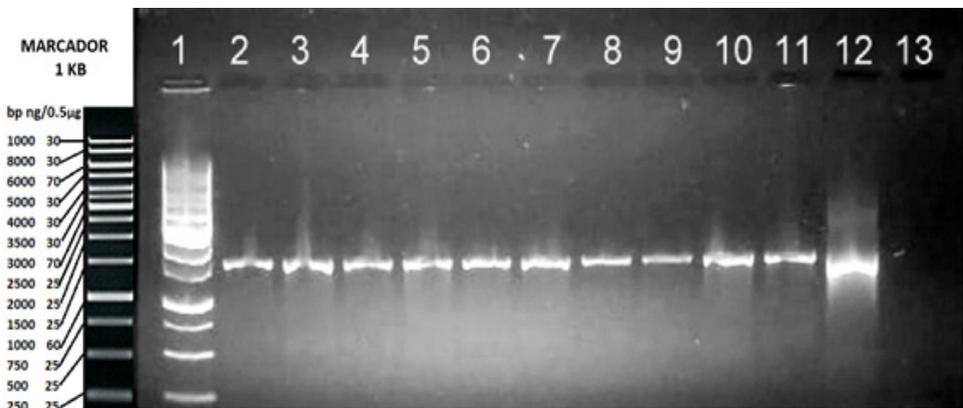


Figura 4.19 Verificación de la amplificación de gen 16S RNA de *E. coli*

Nota: Gel de agarosa 1%, corrido en buffer TBE 1X a 60 V durante 1 hora y 30 minutos, tratado con el intercalante *Gel Red* (Biotium) y fotodocumentado en el equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda 302 nm. En el primer carril se observa el marcador molecular 1Kb (Promega); carriles de 2 a 11, aislados de *E. coli* 7, 9,11,12,13,14,15,16,17 y 19, correspondientemente. En el gel de agarosa

sa se visualiza la amplificación del gen 16S RNA de aislados de *E. coli* con un tamaño aproximado de 1500 pb respecto a las bandas generadas por el marcador de tamaño molecular.

4.3.8. Verificación de los perfiles de BOX-PCR en *E. coli* y colifagos somáticos

En las Figuras 4.20 y 4.21 se evidencia los perfiles generados mediante la técnica BOX-PCR, para *E. coli* y colifagos somáticos, respectivamente. En cuanto a *E. coli* (Figura 4.20), en los carriles 2, 4 y 9 se puede observar tres perfiles de BOX diferentes, en donde se aprecia bandas con tamaños que oscilaban entre 0.5 y 4 kb. El análisis de similaridad mostró 17 estados clonales genéticamente idénticos con un porcentaje de similaridad de 100 % (Figura 4.21). En el dendrograma se ve la formación de dos *clusters*; en el primero se ubican 99 aislados y, en el segundo, el aislado 71, el cual difiere significativamente del resto de los aislados (Figura 4.21).

Se ha documentado y confirmado en varios estudios que, la caracterización molecular mediante BOX-PCR y ERIC-PCR es eficiente para algunos microorganismos. Mishra et al., (2015) concluyeron la idoneidad y reproducibilidad de BOX-PCR y ERIC-PCR para la discriminación genética de aislados de *Fusarium oxysporum*. Michelim et al., (2008) también informaron que BOX-PCR y ERIC-PCR pudieron discriminar aislados clínicos de *Proteus mirabilis*. Aparte de eso, Syrmis et al., (2004) demostraron que BOX-PCR y ERIC-PCR son potentes herramientas de vigilancia para caracterizar aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados de pacientes con fibrosis quística.

Bilung et al. (2018), por su parte, sostienen que, los elementos BOX (mosaico de elementos repetitivos compuestos por diferentes combinaciones de secuencias de tres subunidades, *boxA*, *boxB* y *boxC* que son 59, 45 y 50 nucleótidos de largo, respectivamente), son de utilidad para la tipificación molecular de microorganismos, tanto de enterobacterias, como de algunas bacterias como *Leptospira* patógena aislada de ratas y ambientes, en Sarawak, Malasia. Este fue uno de los estudios pioneros que usó BOX y ERIC-PCR para *Leptospira*; los investigadores concluyeron que, tanto BOX-PCR como ERIC-PCR dieron una eficiencia comparable en la determinación de la relación genética de 29 aislamientos de *Leptospira* patógena, aunque se obtuvo un índice discriminatorio

más alto con ERIC-PCR (0,826) que con BOX-PCR (0,809). En general, estos aislamientos no pudieron discriminarse claramente en grupos individuales en función de diferentes localidades y fuentes de muestra. Aunque estos dos métodos son fáciles de realizar en poco tiempo, los hallazgos de este estudio revelaron el poder de resolución limitado de BOX-PCR y ERIC-PCR en la determinación de la relación genética entre las leptospiras patógenas.

Sin embargo, para el caso de enterobacterias, estos marcadores moleculares (BOX-PCR), como lo reportaron Gambero et al. (2017), Jena et al. (2017) y López-Ramírez et al. (2018), permiten analizar la relación clonal de los microorganismos, discriminar su diseminación e identificar poblaciones.

Los resultados encontrados en nuestra investigación hicieron posible determinar que, los aislados provenientes de muestras de agua del Lago Guamuez presentan una amplia heterogeneidad o variabilidad genética. Igualmente, se evidenció que el estado clonal I presentaba mayor número de aislados -22- y, por lo tanto, se puede inferir que estos clones pueden ser responsables de la contaminación y diseminación de genes de virulencia; sin embargo, es necesario realizar estudios más analíticos, con el fin de estimar el verdadero impacto de la diseminación clonal. Por otra parte, los valores de similaridad bajos en las demás agrupaciones pueden ser atribuidos a eventos genéticos como mutaciones, inserciones o deleciones que ocurren de manera espontánea y hacen parte de la evolución propia de cada población (López-Ramírez, et al., 2018).

Se infirió que, ninguna herramienta molecular única es ideal para tipificar diferentes especies de bacterias. Sin embargo, la combinación de diferentes herramientas moleculares los diferenciará mejor y proporcionará datos de relación genética más completos.

Es importante resaltar que, el alto grado de heterogeneidad en los aislados de *E. coli* indican, presuntivamente, que existen diferentes fuentes de contaminación hídrica relacionadas principalmente por actividades antropogénicas como el vertido de aguas residuales domésticas, desechos de hidrocarburos generados por los motores de las lanchas, producción de carbón, deforestación, turismo y escorrentía de

fertilizantes (Torres, 2017; González-Legarda, 2017; Imues-Figueroa et al., 2018). Estos resultados indican un panorama alarmante, dado que existe un riesgo alto de contraer infecciones de difícil tratamiento, de acuerdo con la amplia variabilidad genética que se encuentra en este hábitat acuático. Por lo tanto, se recomienda emplear estrategias de seguimiento y mitigación de este tipo de bacterias, con la finalidad de evitar problemas sanitarios mayores en la comunidad.

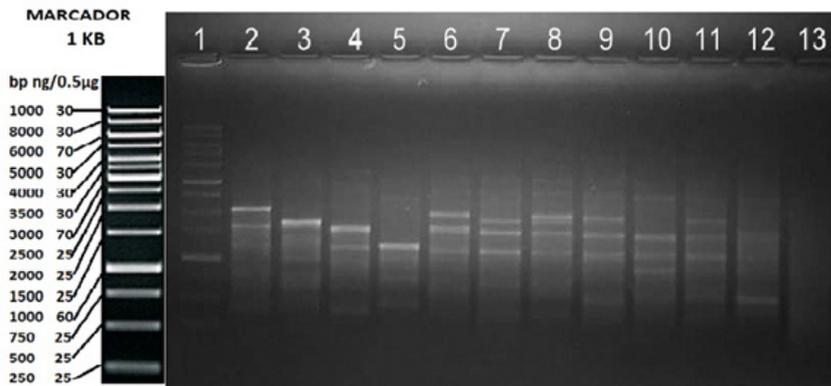


Figura 4.20 Verificación de la amplificación de Secuencias Repetitivas Palindrómicas Extragénicas BOX – PCR

Nota: Gel agarosa 1 %, corrido en buffer TBE 1X a 60 V durante 1 hora y 30 minutos, tratado con el intercalante *Gel Red* (Biotium) y fotodocumentado en el equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda 302 nm. En el primer carril se observa el marcador de tamaño molecular 1Kb (Promega); carriles de 2 a 11, aislados 299, 300, 301, 302, 304, 305, 306, 307, 308 y 310 de *E. coli* de muestras de agua del Lago Guamuez y carriles 12 y 13 control positivo y negativo, respectivamente. En el gel de agarosa se visualizan los diferentes perfiles generados mediante la técnica BOX – PCR y se puede apreciar la alta variabilidad genética que presentan los aislados de *E. coli*.

En el total de los colifagos somáticos aislados se observó la amplificación de los elementos BOX A1 en su genoma. Los perfiles más representativos fueron K, B y J con 29.9; 27.6; y 13.8 %, respectivamente (Figura 4.22). Los perfiles A, E, F, G, L, M y N se presentaron en un solo fago cada perfil. En total, se logró obtener 14 perfiles de BOX-PCR para 87 virus, que representan una heterogeneidad considerable; en cuanto al tamaño de los fragmentos, estos fluctúan entre 4600 y 200 pb. La gran mayoría de fragmentos comunes de los perfiles se comparten entre los tamaños de 1000 a 1500 pb y 200 a 500 pb.

De manera general, también se observa que los perfiles no tienen una relación con los puntos de muestreo; estos se reparten homogéneamente en el lago. Los resultados, en este sentido, difieren de lo evidenciado por Quiroz (2014), quien realizó un análisis de BOX-PCR sobre colifagos de lago Guamuez en tres puntos de muestreo, encontrando relaciones entre las agrupaciones de los perfiles BOX y los puntos de muestreo. El resultado actual en la variabilidad de los perfiles a nivel espacial puede ser reflejo de la intensificación de la contaminación sobre el lago a través de los años y, también, el aumento de las fuentes de contaminación; estas dos causas, actuando en conjunto, llevaron a la proliferación de los colifagos somáticos y, a amplificar su dispersión en el lago.

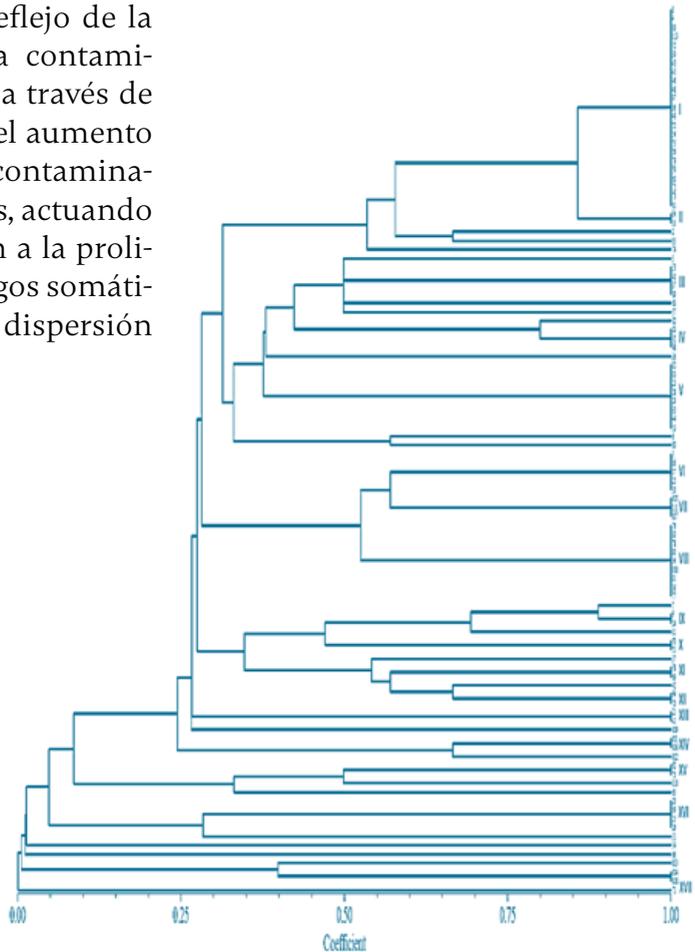


Figura 4.21 Dendrograma del perfil BOX-PCR de los aislados de *E. coli* de muestras de agua del Lago Guamuez

Nota: dendrograma construido usando el software NTSYS Spc 2.1, tomando los criterios *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA). En el dendrograma se puede observar la generación de 12 subclústeres con un estado clonal; la formación de estas agrupaciones indica la alta variabilidad genética que presentan los aislados de *E. coli*.

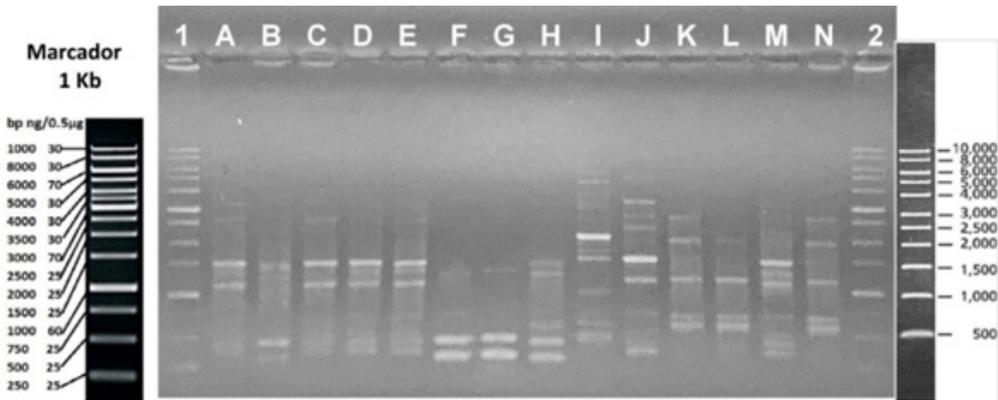


Figura 4.22 Verificación de la amplificación de Secuencias Repetitivas Palindrómicas Extra-génicas BOX – PCR en colifagos somáticos

Nota: Gel agarosa 1 %, corrido en buffer TBE 1X a 60 V durante 1 hora y 30 minutos, tratado con el intercalante *Gel Red* (Biotium) y fotodocumentado en el equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda 302 nm. En el primer carril se observa el marcador de tamaño molecular 1kb (Promega); carriles 1 y 2: Marcador de tamaño molecular 1 kb. Pozos A – N: Perfiles BOX – PCR en ADN de colifagos de muestras de agua del Lago Guamuez y carriles 12 y 13 control positivo y negativo, respectivamente. En el gel de agarosa se visualizan los diferentes perfiles generados mediante la técnica BOX – PCR y se puede apreciar la alta variabilidad genética que presentan los colifagos somáticos relacionado posiblemente con la variabilidad presente en *E. coli*.

4.3.9. Amplificación de genes de virulencia

Al realizar el análisis de genes de virulencia, se puede observar la presencia de, por lo menos, un gen de virulencia en los diferentes aislados, como los colifagos 1, 3, 4, 5 (ubicados en los pozos 2, 4, 5 y 6 de la figura 4.23, correspondientemente). En el caso del aislado 6 (pozo 7) se observa claramente la presencia de solo un gen de virulencia.

La amplificación de genes de virulencia tanto en *E. coli* como en los colifagos somáticos de este estudio (Figura 4.24), es un resultado importante y de amplia trascendencia, ya que se establece que estos pueden ser vectores para la transferencia horizontal de genes en microorganismos patógenos, los cuales pueden afectar el equilibrio de las poblaciones (Kassem et al., 2020; Toribio-Avedillo et al., 2021). Esta transferencia y la variabilidad genética de estos patógenos puede ocasionar serios problemas de salud vinculados a la generación de cepas patogénicas que exhiban multiplicidad de genes de virulencia, incluyendo la resis-

tencia a los antimicrobianos, los cuales tornan el manejo e inhibición a una mayor complejidad.

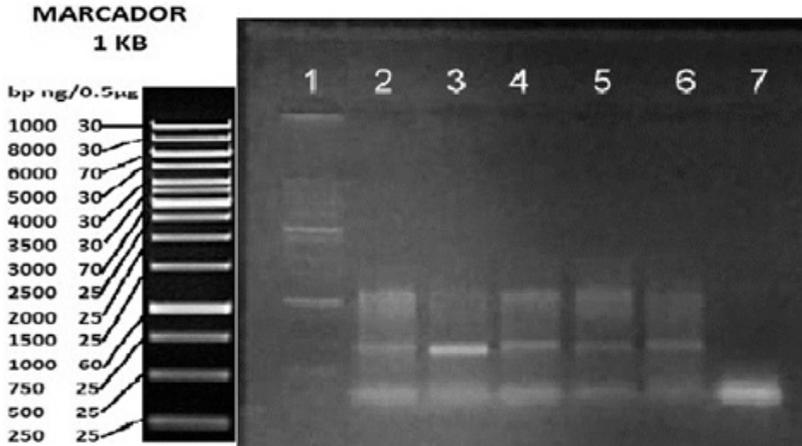


Figura 4.23 Verificación de la amplificación de los genes de virulencia *Ter-D*, *RfbO*, *FLI* y *LP* de *E. coli*

Nota: Gel agarosa 1 %, corrido en buffer TBE 1X a 60 V durante 1 hora y 30 minutos, tratado con el intercalante *Gel Red* (Biotium) y fotodocumentado en el equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench March Accuris E300 UV* a una longitud de onda 302 nm. En el primer carril se observa el marcador de tamaño molecular 1kb (Promega); carriles de 2 a 7, aislados 1, 2, 3, 4, 5 y 6 de *E. coli* de muestras de agua del Lago. En la figura se puede observar la amplificación de diferentes genes de virulencia en aislados de *E. coli*, lo que implica un aumento en el riesgo de contraer enfermedades causadas por este patógeno.

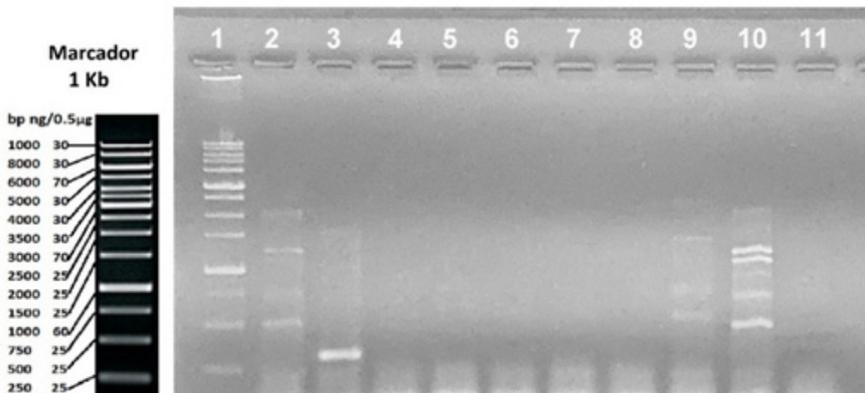


Figura 4.24 Verificación de la amplificación de los genes de virulencia *Ter-D*, *RfbO*, *FLI* y *LP* de *E. coli*

Nota: Electroforesis en gel de agarosa 1,5 %, 80 voltios por 75 minutos. corrido en buffer TBE 1X, tratado con el intercalante *Gel Red* (Biotium) y fotodocumentado en el

equipo *Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV* a una longitud de onda 302 nm. Pozos 1: Marcador de tamaño molecular 1 kb. Pozos 2 - 9: Amplicones de colifagos 1 - 8. Pozo 10 y 11: Control positivo y negativo, respectivamente. En la figura se puede observar la amplificación de diferentes genes de virulencia en colifagos somáticos, por lo que se infiere que estos genes pudieron adquirirse de la cepa hospedadora (*E. coli*).

Los mecanismos de virulencia que caracterizan a *E. coli* están genéticamente codificados por ADN cromosómico, plasmídico y fágico e incluyen toxinas termolábiles (LTI, LTIIa y LTIIb) y termoestables (STI y STII), verotoxinas tipos 1, 2 y 2e (VT1, VT2 y VT2e, respectivamente), factores necrotizantes citotóxicos (CNF1 y CNF2), mecanismos de unión (*eaeA*), mecanismos enteroagregativos (Eagg) y mecanismos enteroinvasivos (Einv). Con el advenimiento de la PCR, ha sido posible identificar estos genes en aislados bacterianos, ofreciendo la posibilidad de un diagnóstico rápido de los mecanismos que operan en infecciones por *E. coli* (Chapman et al., 2006).

Varios estudios han demostrado que la adquisición de genes de virulencia proporciona una vía evolutiva hacia la patogenicidad. Como grupo genéticamente diverso, la mayoría de las cepas de *E. coli* son comensales inofensivos de los mamíferos (Hartl y Dykhuizen, 1984; Chapman et al., 2006), pero, otras, son capaces de causar enfermedades intestinales o extraintestinales (Ørskov y Ørskov, 1992). La manifestación de la sintomatología clínica y la patología parecen estar estrechamente asociadas con la posesión de ciertas combinaciones de genes de virulencia en *E. coli* (Chapman et al., 2006). Por ejemplo, las cepas de *E. coli* diarreógenas son clasificadas según sus propiedades de virulencia, como enterotoxigénicas (ETEC), enteropatógenas (EPEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteroinvasivas (EIEC) y enteroagregativas (EaggEC) (Nataro y Kaper, 1998). En general, estos patotipos tienen en común varias combinaciones de genes de virulencia para la unión y elaboración de hemolisinas y enterotoxinas, pero existe una variación considerable de polimorfismos y secuencias en las identidades moleculares de los genes, que codifican estos factores de virulencia (Nagy y Fekete, 1999; Chapman et al., 2006).

4.3.10. Modelado Matemático de la dinámica *E. coli*-colifagos en fase lítica en el lago Guamuez

La dinámica entre *E. coli* y los colifagos somáticos en el ciclo lítico evidenciada y analizada en el lago Guamuez, se sintetizó en el siguiente diagrama de flujo, constituido por tres compartimentos equivalentes a las variables seleccionadas en el modelo; adicionalmente, se pudo identificar los factores que inciden sobre dichos compartimentos, efectuando en ellos una variación en el tiempo.

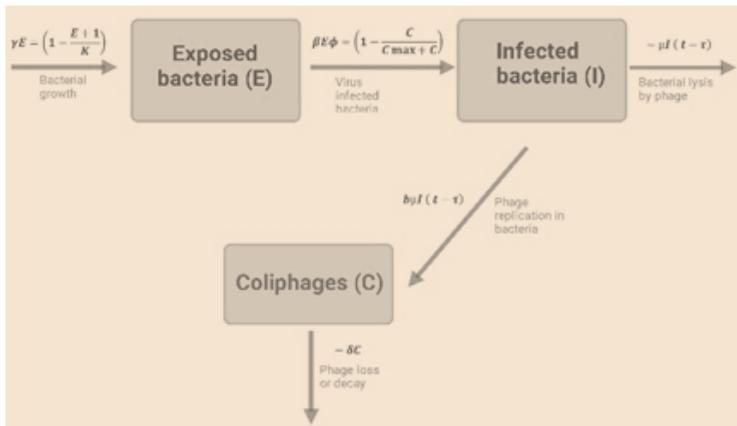


Figura 4.25 Representación esquemática de interacción de tres compartimentos

En la figura 4.25 se puede observar la dinámica de interacción entre *E. coli* y colifagos somáticos, resaltando que las variables que inciden en esta dinámica son: crecimiento bacteriano, proceso de infección del virus, lisis bacteriana por acción fágica, replicación del colifago dentro de la bacteria y decrecimiento de los colifagos.

Realizado el modelamiento, fueron generadas las gráficas correspondientes a las simulaciones, a fin de observar el posible comportamiento de las poblaciones (bacterianas y de colifagos somáticos) previo y posterior al tiempo de latencia (retardo); para ello se emplearon los valores de algunas tasas y parámetros obtenidos de las referencias. Por otro lado, se estimó, mediante modelos estadísticos, la tasa de crecimiento de *E. coli* infectada, lo cual permitió cuantificar la variación de dicha población. Las fórmulas mostradas a continuación fueron dilucidadas al analizar el proceso biológico:

$$\frac{dE}{dt} = \gamma E \left(1 - \frac{E+I}{K}\right) - \beta E \phi \left(\frac{C}{C_{max} + C}\right) \quad (1)$$

$$\frac{dI}{dt} = \beta E \phi \left(\frac{C}{C_{max} + C}\right) - \mu I (t - \tau) \quad (2)$$

$$\frac{dC}{dt} = b \mu I (t - \tau) - \delta C \quad (3)$$

Tabla 4.9

Tasas y parámetros empleados en la formulación del modelo matemático

Parámetro	Valor	Unidades	Fuente
Tiempo de lisis (τ)	1	horas	Jain, R., Knorr, A. L., Bernacki, J. & Srivastava, R. (2006)
Tasa de muerte por (μ)	0.0167 ± 0.0006	min ⁻¹	Jain, R., Knorr, A.L, Bernacki, J. and Srivastava, R. (2006)
Tasa de degradación de partículas de fagos libres (δ)	0	min ⁻¹	Jain, R., Knorr, A.L, Bernacki, J. and Srivastava, R. (2006)
Tamaño de ráfaga (b)	250	numero de virus por bacteria	Volkova, V. V., Lu, Z., Besser, T., y Gröhn, Y. T. (2014)
Tasa de adsorción (ϕ)	2 × 10 ⁷	(fago ⁻¹ • ml ⁻¹ • h ⁻¹)	Jain, R., Srivastava, R. (2009)

Se enfatiza en la importancia de resaltar que, el cambio en los parámetros físicos, químicos y ambientales presentes en el Lago Guamuez afecta en gran medida las tasas y parámetros específicos formulados en el modelo matemático, razón por la cual se modeló el sistema influenciado por los factores mencionados.

En la figura 4.26, la primera gráfica simula la dinámica, con un retardo de una hora con la tasa de crecimiento bacteriano estimada.

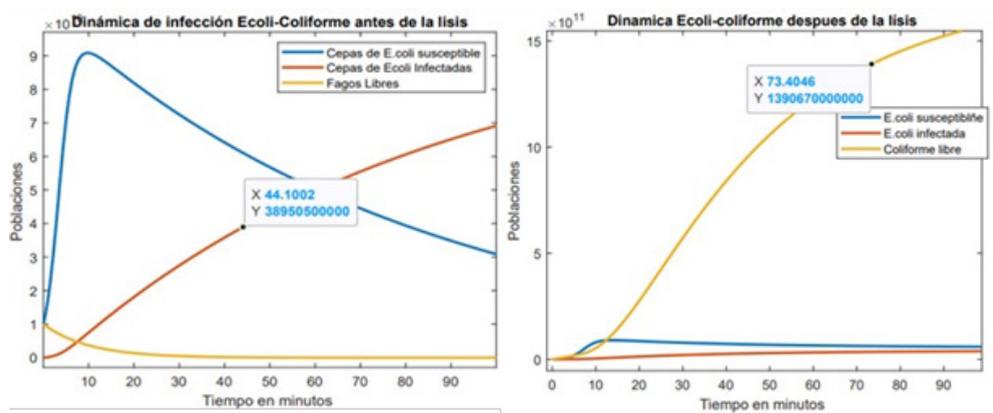


Figura 4.26 Dinámica de la infección de los colifagos somáticos sobre *E. coli* antes y después de la lisis

Nota: En la figura se puede visualizar que existe una correlación inversamente proporcional entre el crecimiento poblacional bacteriano respecto a la población de colifagos somáticos libres y como los parámetros fisicoquímicos influyen en la tasa de crecimiento.

La segunda gráfica (derecha) muestra la simulación de la dinámica con un retardo de una hora, cuya tasa de crecimiento bacteriano se vio afectada por la modificación de los parámetros fisicoquímicos; por lo tanto, en conjunto, se evidencia la correlación existente entre la tasa de crecimiento bacteriano y la temperatura, pH y pluviosidad, entre otros parámetros fisicoquímicos.

4.4. Conclusiones del capítulo

- Las características morfológicas (macro y microscópicas) como bioquímicas de los aislados bacterianos obtenidos, correspondieron a las descritas para *E.coli* en la literatura científica y en las normas de diagnóstico. No obstante, su variabilidad genética solamente fue observada cuando se usaron marcadores moleculares polimórficos y la secuenciación del gen conservado 16 S rRNA. Esto ratifica la importancia de analizar una muestra usando diversos tipos de marcadores.
- Se determinó, mediante la técnica BOX-PCR, que existen 17 estados clonales y 40 perfiles genéticos diferentes en los 100 aislados de *E. coli*. En el caso de los colifagos somáticos, se encontraron 14 perfiles genéticos, con lo que se establece que existe una amplia variabilidad genética entre las muestras; adicionalmente, algunos aislados se encontraron en varios puntos, evidenciando la amplia dispersión y la transferencia horizontal entre los diferentes puntos muestreados del Lago.

- El agua del Lago Guamuez no es de buena calidad, los valores de recuentos de colifagos somáticos sobrepasaron los límites establecidos por las regulaciones internacionales.
- La presencia de genes de virulencia en una gran proporción de los aislados tanto de *E. coli* como de colifagos somáticos es una alerta epidemiológica, puesto que estos pueden estar vinculados con la infección de poblaciones humanas que disponen del recurso hídrico para variadas actividades de su quehacer diario, ocasionando grandes afectaciones de salud pública.
- El modelado matemático formulado con base en resultados in vitro e in situ, permitió dilucidar los parámetros que mayormente influyen la dinámica poblacional de los colifagos somáticos como de *E. coli* en el Lago Guamuez. La dinámica con un retardo de una hora demostró la correlación existente entre la tasa de crecimiento bacteriano y la temperatura, pH y pluviosidad, entre otros parámetros fisicoquímicos analizados.
- Los datos generados en este estudio pueden ser usados a futuro en la puesta en marcha de un sistema de vigilancia epidemiológica, esto acorde con las necesidades del ecosistema estudiado y las características de un sistema eficiente que permita aunar esfuerzos entre los agentes gubernamentales, la académica, la población aledaña al Lago, como también los entes controladores de la salud pública en la región.

Referencias

- Acevedo-Charry, O., Mata, N. E. y Moncada-Álvarez, L. I. (2013). Registros nuevos o poco conocidos de aves migratorias en la laguna del Otún, Parque Nacional Natural Los Nevados, Risaralda, Colombia. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/36493/40217>
- Adiguzel, A., Ozkan, H., Baris, O., Inan, K., Gulluce, M., & Sahin, F. (2009). Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey. *Journal of Microbiological Methods*, 79(3), 321-328. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.09.026>
- Álvarez, L. F. (2015). Plan de Manejo Integral Humedal Ramsar Laguna de la Cocha. <https://es.scribd.com/document/299903264/PLAN-DE-MANEJO-INTEGRAL-HUMEDAL-RAMSAR-LAGUNA-DE-LA-COCHA>
- American Public Health Association (APHA). (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (19th ed.) APHA.
- Andrade, G. F. y Barros, D. B. (2019). Bioindicadores microbiológicos para indicar contaminación fecal. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, (34), e1099. <https://doi.org/10.25248/reas.e1099.2019>
- Árevalo, L. M. y Ruiz, S. L. (2007). *Plan de Acción en Biodiversidad 2006-2030 Nariño. Propuesta técnica*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt
- Anguisaca, C. G. y Castañeda, E. A. (2016). *Identificación molecular de consorcios bacterianos resistentes a metales pesados provenientes de aguas residuales de una industria hidrocarbúrfica en la provincia de Esmeraldas-Ecuador* [Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13241>
- Barrera-Escorcía, G., Fernández-Rendón, C. L., Wong-Chang, I. y Ramírez-Romero, P. (2013). La sensibilidad del grupo coliforme como indicador de la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México. *Hidrobiológica*, 23(1), 87-96.
- Bilung, L. M., Pui, C. F., Su'ut, L., & Apun, K. (2018). Evaluation of BOX-PCR and ERIC-PCR as Molecular Typing Tools for Pathogenic *Leptospira*. *Disease Markers*, vol 2018, Article ID 1351634. <https://doi.org/10.1155/2018/1351634>
- Burbano-Rosero, E. M., Caetano de Almeida, B., Otero, I. y Álvarez, S. (2017). *Manual de Biología Molecular. Procedimientos Básicos*. Editorial Universidad de Nariño.
- Chávez-Jacobo, V. M., Ramírez-Díaz, M. I., Silva-Sánchez, J. y Cervantes, C. (2017). Resistencia bacteriana a quinolonas: determinantes codificados en plásmidos. *REB, Revista de Educación Bioquímica*, 34(1), 4-9.
- Chapman, T. A., Wu, X. Y., Barchia, I., Bettelheim, K. A., Driesen, S., Trott, D., Wilson, M., & Chin, J. J. (2006). Comparison of virulence gene profiles of *Escherichia coli*

- strains isolated from healthy and diarrheic swine. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 4782-4795. <https://doi.org/10.1128/AEM.02885-05>
- CORPONARIÑO. (2003). Plan de manejo del corredor andino amazónico páramo de Bordoncillo-cerro de Patascoy, La Cocha, como ecorregión estratégica para los departamentos de Nariño y Putumayo. <http://documentacion.ideam.gov.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=13004>
- Dayanti, M. P., Farchrul, M. F., & Wijayanti, A. (2018). E. coli as bioindicator of the groundwater quality in Palmerah District, West Jakarta, Indonesia. *Earth and Environmental Science*. 10.1088/1755-1315/106/1/012081.
- Decreto 1575 de 2007. (2007, 9 de mayo). Presidencia de la República de Colombia. <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=30007>
- Duque-Trujillo, J. F., Hermelin, M., & Toro, G. E. (2016). The Guamués (La Cocha) Lake. In *Landscapes and Landforms of Colombia* (pp. 203-210). Springer, Cham.
- Farmer, J. J. (1995). Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., & Tenover, R. H. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (6th ed.). American Society for Microbiology, (pp. 438-449).
- Fragoso-Castilla, P. J., Rubiano, L. A. y Kerguelen, J. J. (2021). Análisis de variables físico-químicas en el proceso de remoción de coliformes en el sistema de lagunas de oxidación, Salguero, Valledupar (Colombia). *Información Tecnológica*, 32(1), 113-122. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642021000100113>
- Gambero, M. L., Blarasin, M., Bettera, S. y Giuliano-Albo, J. (2017). La diversidad genética de *Escherichia coli* se aísla de las aguas superficiales y subterráneas en un entorno rural. *Revista de Agua y Salud*, 15(5), 757-765. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.281>
- Garrity, G. M. (Ed.). (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria*. Springer.
- González-Legarda, E. A. (2017). *Impacto ambiental de la acuicultura intensiva en los componentes agua y sedimento en el Lago Guamués, Nariño* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/59203>
- Gutiérrez-Jiménez, J., Luna-Cazáres, L. M., Mendoza-Orozco, M. I., Díaz-Marina, J., Burguete-Gutiérrez, J. C., Feliciano-Guzmán, J. M. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), México. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 35(2), 95-102.
- Hartl, D.L., & Dykhuizen, D.E. (1984). The population genetics of *Escherichia coli*. *Annual Review of Genetics*, 18, 31-68. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.18.120184.000335>
- Herrera, M. M. (2017). Filogenia bacteriana mediante el análisis del rRNA 16S. <http://docplayer.es/1189536-Filogenia-bacteriana-mediante-el-analisis-del-rrna-16s.html>

- Imues-Figueroa, M. A., González-Legarda, E. A., Duque-Nivia, G., Burbano-Gallardo, E. y Guerrero-Romero, C. L. (2018). Efecto de la producción acuícola sobre las variables de calidad del agua del Lago Guamués. *Revista Investigación Pecuaria*, 5(1), 33-43. <https://doi.org/10.22267/revip.1851.4>
- Instituto Alexander Von Humboldt, World Wildlife Fund Colombia (WWF), Asociación para el Desarrollo Campesino (ADC). (2004). Proyecto de Incentivos para la Laguna de la Cocha como sitio RAMSAR. <https://www.rds.org.co/es/recursos/proyecto-de-incentivos-para-la-laguna-de-la-cocha-como-sitio-ramsar>
- Jena, J., Debata, N. K., Sahoo, R. K., Gaur, M., & Subudhi, E. (2017). Genetic diversity study of various β -lactamase-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates from a tertiary care hospital using ERIC-PCR. *The Indian Journal of Medical Research*, 146(Suppl 1), 23. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_575_16
- Kassem, I. I., Nasser, N. A., & Salibi, J. (2020). Prevalence and loads of fecal pollution indicators and the antibiotic resistance phenotypes of *Escherichia coli* in raw minced beef in Lebanon. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(11), 1543. <https://doi.org/10.3390/foods9111543>
- Larrea-Murrell, J. A., Rojas-Badía, M. M., Romeu-Álvarez, B., Rojas-Hernández, M. y Heydrich-Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-34.
- Lockett, T. J. (1990). A bacteriophage λ DNA purification procedure suitable for the analysis of DNA from either large or multiple small lysates. *Analytical Biochemistry*, 185(2), 230-234. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(90\)90284-G](https://doi.org/10.1016/0003-2697(90)90284-G)
- López-Macías, J. N. y Salas-Benavides, J. (2013). Caracterización comparativa de la condición limnológica del lago Guamués en relación con la producción de trucha arcoiris (*oncorhynchus mykiss*) en jaulas flotantes. *Entornos*, 26(2), 181-194. <https://doi.org/10.25054/01247905.483>
- López, L. y Palacios, S. M. (2015). Estado trófico de un lago tropical de alta montaña: Caso Laguna de la Cocha. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 25(2), 3. <https://doi.org/10.18359/rcin.1430>
- López-Ramírez, K. L., Díaz-Maldonado, K. C., Vergara, M. A., Santamaría-Veliz, O., Serquén-López, L. M., Bustamante, O., León-Jiménez, F. E. y Aguilar-Gamboa, F. M. (2018). Patrón de clonalidad mediante ERIC-PCR y REP-PCR de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido, aisladas de pacientes con infección urinaria intrahospitalaria. Hospital Regional Lambayeque, Perú. *Horizonte Médico*, 18(2), 11-18. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n2.03>
- Mali, S., Kumar, S., & Bhatt, B. (2015). Water pollution and agriculture. *National Academy of Agricultural Sciences*, 4, 39-47.

- Michelim, L., Muller, G., Zacaria, J., Longaray, A. P., Pinto, S. O., & Echeverrigaray, S. (2008). Comparison of PCR-based molecular markers for the characterization of *Proteus mirabilis* clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 12(5), 423-429. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702008000500014>
- Ministerio del Medio Ambiente. (2002). *Política Nacional para humedales interiores de Colombia*. Estrategias para su conservación y uso sostenible. Ministerio del Medio Ambiente.
- Ministerio del Medio Ambiente. (2000). Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar. Laguna de La Cocha. Colombia, abril de 2000. <https://rsis.ramsar.org/RISapp/files/RISrep/CO1047RIS.pdf>
- Mishra, R. K., Pandey, B. K., Pathak, N., & Zeeshan, M. (2015). BOX-PCR- and ERIC-PCR-based genotyping and phylogenetic correlation among *Fusarium oxysporum* isolates associated with wilt disease in *Psidium guajava* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(1), 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.09.012>
- Moncayo, R. J. y López, M. L. (2021). Optimización del monitoreo de la transparencia del agua, por medio de MOD09GA: un caso de estudio en el lago Guamués, San Juan de Pasto, Colombia. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 31(1), 93-108. <https://doi.org/10.18359/rcin.4930>
- Moreno, E. A. (2020). *Principales enfermedades causadas por el consumo directo de aguas residuales* [Tesis de Pregrado, Universidad Científica del Sur]. <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/1553> <https://hdl.handle.net/20.500.12805/1553>
- Nagy, B., & Fekete, P.Z. (1999). Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Veterinary Research*, 30(2-3), 259-284.
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142-201. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>
- Ngong, A. I., Ajeegah, G. A., Kapso, T. M., Nguapidjio, G., Sotchang, I. N., Fououssong, I., Nnah, J. P., Kechia, A. I., & Enoka, P. (2019). Physicochemical quality of water and influence on the dynamics of bacteria circulating in water points for domestic use in Yaoundé (Cameroon). *International Journal of Natural Resource Ecology and Management*, 4(5), 112-119. <https://doi.org/10.11648/j.ijnrem.20190405.12>
- Nübel, U., Engelen, B., Felske, A., Snaidr, J., Wieshuber, A., & Amann, R. I. (1996). Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *Journal of Bacteriology*, 178(19), 5636-5643. <https://doi.org/10.1128/jb.178.19.5636-5643.1996>
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *Guías para el saneamiento y la salud*. Organización Mundial de la Salud.
- Ørskov, F. & Ørskov, I. (1992). *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Canadian Journal of Microbiology*, 38(7), 699-704. <https://doi.org/10.1139/m92-115>

- Pereira, T. A., Pessôa, R., Felix, A. C., & Sanabani, S. S. (2016). Diversity of bacterial communities on four frequently used surfaces in a large Brazilian Teaching Hospital. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(2), 152. <https://doi.org/10.3390/ijerph13020152>
- Porres, N. y Ruiz, E. (2018). *Microbiología clínica*. Editorial Paraninfo.
- Price, K. D., Black, B. T., Hargrave, J. A., & Morris, J. R. (2015). Marine cage culture and the environment: effects on water quality and primary production. *Aquaculture Environment Interactions*, 6, 151-174. 10.3354/aei00122
- Quintero, M. (2006). *Mecanismo de financiación para promover Agricultura de Conservación con pequeños productores de la cuenca de la laguna de Fúquene*. Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Quiroz, M. A. (2014). *Variabilidad genética de colifagos somáticos aislados a partir de muestras de agua del Lago Guamués* (Nariño-Colombia) [Tesis de Maestría, Universidad de Nariño]. <https://scholar.google.com/citations?user=mhIYYAoAAAAJ&hl=es>
- Redacción Turismo. Colombia.com. (2013). Laguna de la Cocha o Lago Guamués. <https://www.colombia.com/turismo/sitios-turisticos/pasto/atractivos-turisticos/sdi325/53703/laguna-de-la-cocha-o-lago-Guamués>
- Sambrook, J. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Syrmis, M. W., O'Carroll, M. R., Sloots, T. P., Coulter, C., Wainwright, C. E., Bell, S. C., & Nissen, M. D. (2004). Rapid genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolates harboured by adult and paediatric patients with cystic fibrosis using repetitive-element-based PCR assays. *Journal of Medical Microbiology*, 53(11), 1089-1096. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.45611-0>
- Toribio-Avedillo, D., Blanch, A. R., Muniesa, M., & Rodríguez-Rubio, L. (2021). Bacteriophages as fecal pollution indicators. *Viruses*, 13(6), 1089. <https://doi.org/10.3390/v13061089>
- Torres, N. H. (2017). Estimación de los desperdicios generados por la producción de trucha arcoíris en el lago de Tota, Colombia. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 247-255. https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:631
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2), 697-703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>

ACERCA DE LOS AUTORES



Edith Mariela Burbano Rosero

Email: marielaburbano@udenar.edu.co

Docente tiempo completo de la Universidad de Nariño. Bióloga con énfasis en Microbiología Industrial de la Universidad de Nariño, Magister en Microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana, Doctora en Ciencias por el *Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Brasil*. Experiencia investigativa en el área de biología molecular de microorganismos. Integrante de los grupos de investigación en Biotecnología Microbiana y Biología Matemática y Matemática Aplicada (GIBIMMA). Miembro de la *American Society for Microbiology (ASM)* y de la *Pan American Marine Biotechnology Association (PAMBA)*. Par evaluador del Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (Minciencias) y Review Editor of *Frontiers*.

Jenny Dimelza Gómez Arrieta MSc. PhD.

Email: rizaldza@gmail.com

Posdoctorante Universidad de Nariño-CEIBA, Grupo de Biotecnología microbiana. Microbióloga de la Universidad de Pamplona, Magíster en Bioquímica de la Universidad de Pamplona, Doctora en Ciencias con énfasis Bioquímica Aplicada de la *Universidade Federal de Viçosa, Brasil*.

Deisy Lorena Guerrero Ceballos MSc.

Email: daisymartinez-18@hotmail.com

Docente hora cátedra de la Universidad de Nariño. Bióloga de la Universidad de Nariño, Magister en Ciencias Biológicas de la Universidad de Nariño. Experiencia investigativa en el área de Microbiología y biología molecular de microorganismos. Integrante de los grupos de investigación en Biotecnología Microbiana y Biología Matemática y Matemática Aplicada (GIBIMMA). Curadora de la Colección de Microorganismos de la Universidad de Nariño.

Arsenio Hidalgo Troya

Email: arsenio.hidalgo@gmail.com

Docente titular de la Universidad de Nariño. Licenciado en Matemáticas y Física de la Universidad de Nariño, Economista de la Universidad de Nariño. Magister en Ciencias Estadística Universidad Nacional de Colombia, Especialista en Epidemiología del Centro de Estudios en Salud-CES de Medellín. Especialista en Proyectos de Desarrollo de la Escuela de Administración Pública ESAP Bogotá. Investigador Senior en Minciencias. Par evaluador del Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (Minciencias). Investigador del grupo de investigación en Salud Pública. Autor de varios libros y artículos en revistas indexadas nacionales e internacionales.

Eddy Patricia López Molano PhD.

Email: patilop@udenar.edu.co

Bióloga de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá y Ph. D. en Genética y Biología Molecular de la Universidad Estadual de Campinas-Brasil. Ha impartido las cátedras como docente de Biología celular, Biología general, Microbiología Ambiental e Investigación en la Universidad de Nariño. Ha publicado artículos y libros sobre ciencia, entre ellos el libro *Ceratocystis Wilt Pathogens: History and Biology Highlighting C. cacaofunesta, the Causal Agent of Wilt Disease of Cacao* USDA ed. Springer. 2016. Actualmente trabaja como investigadora del grupo de investigación GIBIMMA de la universidad de Nariño, participando en proyectos de investigación.

Mario Andrés Pantoja España

Email: mariopantoja1996@gmail.com

Biólogo de la Universidad de Nariño, Magister en Salud Pública de la Universidad de Nariño. Experiencia investigativa en el área de microbiología y biología molecular de microorganismos. Integrante del Grupo de Investigación en Biotecnología Microbiana y Biología Matemática y Matemática Aplicada (GIBIMMA).

Juan Camilo Paz García

Email: camilopaz004@gmail.com

Biólogo egresado de la Universidad de Nariño y miembro del Grupo de Investigación en Biotecnología Microbiana. Realizó su trabajo de grado, modalidad pasantía, bajo la supervisión de la docente Deisy Lorena Guerrero y la docente Edith Mariela Burbano Rosero. Experiencia investigativa en el área de Microbiología, Biología molecular, Genética, Variabilidad y Bioinformática. Actualmente se desempeña como Auxiliar de Laboratorio de Biología General en la Universidad de Nariño e investigador para el Grupo de Investigación en Biotecnología Microbiana

María Alejandra Mármol Martínez

Email: mariaalejandramarmolmartinez@gmail.com

Licenciada en Matemáticas de la Universidad de Nariño y miembro del Grupo de Investigación en Biología Matemática y Matemática Aplicada-GIBIMMA. Experiencia investigativa en el área de modelación matemática aplicada a fenómenos biológicos. Bajo la aprobación y financiación de la vicerrectoría de investigaciones de la Universidad de Nariño VIIS realizó un proyecto de investigación estudiantil, llevó a cabo su trabajo de grado, en la modalidad: publicación de artículo bajo la asesoría del docente Eduardo Ibarguen Mondragón y la docente Edith Mariela Burbano, mismo que fue reconocido con la mención Laureada.

Eduardo Ibarguen Mondragón MSc. PhD.

Email: edbargun@udenar.edu.co

Matemático y Magister en Ciencias Matemáticas de la Universidad del Valle (Colombia), Dr. en Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Profesor Titular del Departamento de Matemáticas y Estadística de la Universidad de Nariño, Investigador Senior de Miniciencias, líder del Grupo de Investigación en Biología Matemática y Matemática Aplicada-GIBIMMA, autor de artículos en revistas indexadas nacionales e internacionales en diferentes ramas de la Biomatemática, Matemática Pura y/o Aplicada, ciencias ambientales, así mismo es autor de capítulos de libro y libros.

Miller Cerón Gómez MSc. PhD.

Email: millercg@udenar.edu.co

Estudió licenciatura en Matemática en la Universidad de Nariño en Colombia y es Magister en Ciencias Matemáticas de la Universidad Nacional de Colombia. Obtuvo un PhD en Matemática Aplicada en la Universidad estatal de Campinas (Unicamp) en Brasil. Ha publicado artículos y libros sobre ciencia, entre ellos el libro “Ecological Modelling Applied to Entomology” Ed. Springer. 2014. Actualmente trabaja como docente asociado del departamento de Matemáticas y Estadística de la Universidad de Nariño y es miembro del grupo de investigación en Biología Matemática y Matemática Aplicada (GIBIMMA).

Raúl Mauricio Insuasty Ing.

Email: raulinsu@hotmail.com

Ingeniero en Producción Acuícola Universidad de Nariño, estudiante Maestría Ciencias Biológicas Universidad de Nariño, Laboratorio de Procesos Microbianos, Dra. Edith Mariela Burbano. Colaborador en proyecto de investigación “Diversidad genética de *Escherichia coli* aislada de muestras de agua del Lago Guamuez-Nariño, Colombia”. Profesional Oficina de Planeación de la Corporación Autónoma Regional de Nariño CORPONARIÑO.

Pablo Heyman Fernández Izquierdo PhD.

Email: pfernandez@udenar.edu.co

Docente de tiempo completo de la Universidad de Nariño. Licenciado en Biología de la Universidad de Nariño. Especialista en Docencia Universitaria de la Universidad de Nariño. Especialista en Microbiología de la Universidad Católica de Manizales. Doctor en Ciencias Biológicas área Microbiología de la Universidad de la Habana. Director del Grupo de Biotecnología Microbiana de la Universidad de Nariño.

LISTA DE TABLAS



Tabla 1.1	25
<i>Ejemplo de algunos agentes enteropatógenos transmitidos por el agua</i>	
Tabla 1.2	26
<i>Características de los organismos patógenos transmitidos por agua contaminada</i>	
Tabla 1.3	42
<i>Características de un microorganismo bioindicador de contaminación fecal</i>	
Tabla 2.1	51
<i>Características que debe cumplir un microorganismo indicador de contaminación fecal</i>	
Tabla 2.2	78
<i>Adhesinas y toxinas presentes en los diferentes patotipos de Escherichia coli intestinal y extraintestinal</i>	
Tabla 2.3	79
<i>Factores de virulencia, prevalencia y potencial de transmisión de Escherichia coli extraintestinal aislada de diferentes fuentes: reportes recientes</i>	
Tabla 3.1	136
<i>Resumen del efecto de los profagos sobre la virulencia bacteriana. Se enumera las bacterias, el profago, el gen del fago correspondiente y el efecto observado sobre la virulencia bacteriana</i>	
Tabla 4.1	173
<i>Coordenadas correspondientes a los puntos de muestreo establecidos en el proyecto</i>	
Tabla 4.2	187
<i>Media de los parámetros fisicoquímicos determinados en las recolecciones de muestras de agua</i>	

Tabla 4.3	189
<i>Análisis estadístico - Matriz de componentes</i>	
Tabla 4.4	191
<i>Recuento de enterobacterias, E. coli y colifagos somáticos por cada punto en seis muestreos</i>	
Tabla 4.5	195
<i>Correlaciones lineales significativas (p valor <0,05) de concentración de E. coli con parámetros fisicoquímicos</i>	
Tabla 4.6	195
<i>Correlaciones lineales significativas (p valor <0,05) de concentración de Enterobacterias con parámetros fisicoquímicos</i>	
Tabla 4.7	195
<i>Correlaciones lineales significativas (p valor <0,05) de concentración de colifagos con parámetros fisicoquímicos</i>	
Tabla 4.8	196
<i>Correlaciones entre concentraciones de E. coli, enterobacterias y colifagos somáticos:</i>	
Tabla 4.9	208
<i>Tasas y parámetros empleados en la formulación del modelo matemático</i>	

LISTA DE FIGURAS



- Figura 1.1** *Ciclo de enfermedades transmitidas por agua contaminada, teniendo como modelo la bacteria entérica E. coli, presente en el Lago Guamuez* 16
- Figura 1.2** *Cobertura del servicio de acueducto. Análisis consolidado sobre cobertura y calidad del agua en las zonas rurales y urbanas del país* 30
- Figura 1.3** *Cobertura de agua y saneamiento en zonas urbanas y rurales* 31
- Figura 1.4** *Análisis consolidado sobre cobertura y calidad del agua en las zonas rurales*..... 32
- Figura 1.5** *Información de las comunidades, sistemas y calidad de agua que consume la población rural vs. la urbana. Cobertura información SIASAR diciembre de 2020 (19 %), Comunidades sin información (81 %)*..... 34
- Figura 1.6** *Índice de Riesgo de Calidad del Agua (IRCA) – zona rural*.35
- Figura 1.7** *Comparación del índice de riesgo de la calidad del agua IRCA entre Colombia y el Departamento de Nariño entre los años 2005 y 2018*..... 40
- Figura 2.1** *Factores fisicoquímicos que afectan el desarrollo de E. coli* 55
- Figura 2.2** *Patotipos de Escherichia coli*..... 64
- Figura 2.3** *Factores de virulencia de uno de los patotipos de Escherichia coli más importantes a nivel epidemiológico- E. coli (UPEC)*.....75

Figura 2.4 Mecanismo de infección y adherencia de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) al enterocito.....	89
Figura 2.5 (A-B) Proceso de infección de <i>Escherichia coli</i> Shiga-toxigénica (STEC) e ingreso de la Stx al interior de la célula. A) Corresponde a la MPC y la Transcitosis. B) Endocitosis.....	92
Figura 2.6 Proceso de infección de <i>Escherichia coli</i> enterotoxi-génica (ETEC).....	93
Figura 2.7 Proceso de infección de <i>Escherichia coli</i> Enteroagre-gativa (EAEC).....	95
Figura 2.8 Proceso de infección de <i>Escherichia coli</i> Enteroinva-siva (EIEC).....	96
Figura 3.1 Estructura general de un bacteriófago.....	121
Figura 3.2 Esquemas generales de algunas de las familias de bacteriófagos que se encuentran en muestras de agua.....	127
Figura 3.3 Microscopía electrónica de transmisión (MET) de colifagos somáticos infectando <i>Escherichia coli</i> . Tinción negativa con fosfotugstanato de potasio.....	127
Figura 3.4 Microscopía electrónica de transmisión (MET) de colifagos somáticos de la Familia Siphoviridae (A-D) tipo T1. Tin-ción negativa con fosfotugstanato de potasio.....	128
Figura 3.5 Microscopía electrónica de transmisión (MET) de colifagos somáticos de las Familias Podoviridae y Myoviridae. Tinción negativa con fosfotugstanato de potasio.....	128
Figura 3.6 Bacteriófagos F-específicos observados por micros-copía electrónica de transmisión -Tinción negativa. A. Leviviri-dae, B. Inoviridae.....	129
Figura 3.7 Comparación de la infección de los colifagos somáti-	

cos y los *F* específicos.....130

Figura 3.8 Ciclo lítico / lisogénico de un bacteriófago.....131

Figura 3.9 Unidades Formadoras de Placas (UFP) de colifagos somáticos aislados de muestras de agua de mar de la Baixada Santista-Brasil. **A.** Enumeración de colifagos em agar TSA (trip-ticosa de soya) modificado usando la técnica de APHA, 1998. **B.** Titulación de los fagos para extracción de DNA. **C.** Procedi-miento de propagación de los colifagos para observación por MET.....132

Figura 3.10 Afectación de los profagos en diferentes niveles..142

Figura 3.11 Ciclo de diseminación de genes de resistencia a antibióticos, desde el medio ambiente hasta el consumo hu-mano. **(A)** Efluentes hospitalarios; **(B)** Alcantarillado urbano; **(C)** Efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales; **(D)** Cuerpos de agua como lagos y océanos; **(E)** Acuicultura; **(F)** Animales destinados a la producción de alimentos; **(G)** Matadero; **(H)** Aplicación de estiércol.....146

Figura 3.12 Los bacteriófagos y la crisis de la resistencia a los antimicrobianos.....148

Figura 4.1 Puntos seleccionados para la recolección de agua del Lago Guamuez.....172

Figura 4.2 Procesamiento de muestras de agua para el aisla-miento de *E. coli*.....175

Figura 4.3 Aislamiento e identificación de *E. coli*. **A).** Crecimien-to de colonias en agar Chromocult. **B).** Crecimiento de *E. coli* en medio EMB, se observa la coloración verde metálica carac-terística. **C).** Siembra de *E. coli* por agotamiento en medio LB. **D).** Pruebas bioquímicas confirmatorias TSI (A/A) con gas, LIA (K/K), CS (-), Indol (+), VP (-), SIM (+), oxidasa (-). **E).** Observa-

<i>ción microscópica de E. coli.....</i>	<i>175</i>
Figura 4.4 <i>Preparación de cultivo de E. coli ATCC 13706 en medio TSB y preparación de material para muestreo.....</i>	<i>176</i>
Figura 4.5 <i>Segunda parte del protocolo de obtención de colifagos somáticos.....</i>	<i>177</i>
Figura 4.6 <i>Flujo de trabajo para la extracción, cuantificación y análisis de calidad del ADN extraído a partir de los aislados de E. coli. Se incluye además la amplificación de la subunidad 16S ARNr.....</i>	<i>178</i>
Figura 4.7 <i>Flujo de trabajo de la extracción de ADN de los colifagos somáticos.....</i>	<i>180</i>
Figura 4.8 <i>Flujo de trabajo del Análisis de variabilidad genética por BOX – PCR para E. coli y colifagos somáticos.....</i>	<i>182</i>
Figura 4.9 <i>Flujo de trabajo genes asociados a Islas de Patogenicidad para E. coli y colifagos somáticos.....</i>	<i>183</i>
Figura 4.10 <i>Jaulas para acuicultura de trucha instaladas en diferentes espacios en el Lago Guamuez.....</i>	<i>184</i>
Figura 4.11 <i>Variables con mayor aporte a la varianza total, en las dos primeras componentes, de los parámetros fisicoquímicos estudiados</i>	<i>190</i>
Figura 4.12 <i>Media del recuento de Escherichia coli (UFC/100mL) discriminada por muestreo y por cada punto de recolección de muestras de agua.....</i>	<i>193</i>
Figura 4.13 <i>Media del recuento de enterobacterias (UFC/100mL) discriminada por muestreo y por cada punto de recolección de muestras de agua.....</i>	<i>193</i>
Figura 4.14 <i>Media del recuento de colifagos somáticos (UFP/100mL) discriminada por muestreo y por cada punto de</i>	

recolección de muestras de agua.....	194
Figura 4.15 Características macroscópicas de los aislados de <i>E. coli</i> . A. Aislado 26. B. Aislado 28. C. Aislado 31. D. Aislado 32. La imagen indica características uniformes entre los diferentes aislados.....	197
Figura 4.16 Coloración de gram de los aislados de <i>E. coli</i>	197
Figura 4.17 Verificación de extracción de ADN cromosomal..	198
Figura 4.18 Verificación de extracción de ADN de los colifagos somáticos.....	198
Figura 4.19 Verificación de la amplificación de gen 16S RNA de <i>E. coli</i>	199
Figura 4.20 Verificación de la amplificación de Secuencias Repetitivas Palindrómicas Extragénicas BOX – PCR.....	202
Figura 4.21 Dendrograma del perfil BOX-PCR de los aislados de <i>E. coli</i> de muestras de agua del Lago Guamuez.....	203
Figura 4.22 Verificación de la amplificación de Secuencias Repetitivas Palindrómicas Extragénicas BOX – PCR en colifagos somáticos.....	204
Figura 4.23 Verificación de la amplificación de los genes de virulencia <i>Ter-D</i> , <i>Rfb0</i> , <i>FLI</i> y <i>LP</i> de <i>E. coli</i>	205
Figura 4.24 Verificación de la amplificación de los genes de virulencia <i>Ter-D</i> , <i>Rfb0</i> , <i>FLI</i> y <i>LP</i> de <i>E. coli</i>	205
Figura 4.25 Representación esquemática de interacción de tres compartimentos.....	207
Figura 4.26 Dinámica de la infección de los colifagos somáticos sobre <i>E. coli</i> antes y después de la lisis.....	209



Editorial

Universidad de **Nariño**

Fecha de publicación: Septiembre 2023
San Juan de Pasto-Nariño-Colombia

Este libro es una publicación digital preparada para la comunidad universitaria y público en general que se interese por conocer acerca de los cuerpos hídricos, su uso y el monitoreo de su calidad.

En el primer capítulo se recopila información de la problemática de acceso al agua potable, abordando la contaminación del recurso hídrico por microorganismos patógenos. Se vincula la detección y aislamiento de bioindicadores biológicos como E.coli y colifagos somáticos como una estimación de la contaminación fecal.

En el segundo capítulo se describe la biología y ecología de E. coli, como una de las bacterias entéricas más conocidas como bioindicador de contaminación fecal, sus características morfológicas, bioquímicas, moleculares y la presencia de genes asociados a su virulencia. En el tercer capítulo se relacionan la biología, patogenicidad y ecología de los colifagos somáticos.

Finalmente, en el cuarto capítulo se presentan algunos datos resultantes del proyecto investigación financiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias), en el marco de la convocatoria 818. Y complementariamente se relacionan algunas generalidades de importancia para el ambiente estudiado, como también, un modelado matemático que explica las interacciones de los parámetros fisicoquímicos en la dinámica poblacional de los bioindicadores que puntualizan este estudio.

Estos datos permitirán dar al lector la primicia de la estimación de la calidad de agua del Lago; asimismo, concientizarse sobre la importancia de conservar este ecosistema de valor incalculable para la humanidad, por su riqueza ecológica, estabilidad de ecosistemas y fuente de biodiversidad y sustento.



**Editorial
Universidad de Nariño**