

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

**Identificación de bacterias aerotransportadas colectadas
en filtros de fibra de vidrio de dos sitios de la Zona
Metropolitana del Valle de Toluca**

QUE PRESENTA

Paola Araceli Morales García
(Matrícula 2153028269)

ASESORAS

Dra. María Teresa Núñez Cardona
Laboratorio de Ecología Microbiana,
Departamento del Hombre y su Ambiente
Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco

M en C. A. Nancy Carolina Torres Corona
Laboratorio de Fisiología y Comportamiento Animal,
Departamento del Hombre y su Ambiente
Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco

Ciudad de México, julio 3 de 2025

I. Agradecimientos

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, institución en la que tuve la oportunidad de formarme como Bióloga y en cuyas instalaciones realicé mi servicio social, lo que fortaleció significativamente mi formación académica y profesional.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado al proyecto SEP-CONACyT número 266751: "Estudio de microcontaminantes atmosféricos como factores del riesgo a la población". Responsable Técnico: Dr. Raúl Venancio Díaz Godoy (investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares); Responsable Técnica en la UAM: Dra. María Teresa Núñez Cardona; Participante: Dra. María Judith Castellanos Moguel (UAM-X); Becaria CONACYT número 28408.

A la Dra. María Teresa Núñez Cardona por su valiosa orientación, confianza y acompañamiento durante el desarrollo de esta investigación. Su guía académica, disposición constante y rigor científico fueron fundamentales para llevar a cabo este trabajo, y su ejemplo profesional ha sido una fuente de inspiración personal y académica; a la Dra. María Judith Castellanos Moguel, por su valiosa participación en el proyecto y apoyo académico.

A mi asesora, la Maestra en Ciencias A. Nancy Carolina Torres Corona, le agradezco profundamente su colaboración en la revisión de este escrito, en el cual enriqueció el contenido con su experiencia, compromiso y dedicación. Su disposición y su capacidad para fomentar un entorno de aprendizaje colaborativo fueron fundamentales para la realización de este trabajo.

Por su enseñanza y paciencia, a Erick Uriel Quezada Cabrera que, al ser ayudante de laboratorio, actuó también como un guía, donde me orientó en la parte experimental, además, de fomentar un ambiente de trabajo ético y profesional. A mi compañero Arturo Martínez, que tuvo la dedicación de supervisar mis procedimientos en la metodología, a Esmeralda Jaimes, por colaborar en nuestro cartel ganador. Y a todos mis colegas que me acompañaron en el transcurso del proyecto y estuvimos compartiendo en el laboratorio.

Con profunda emoción y respeto, agradezco a mi madre Araceli García González y a mi padre Martín Juan Morales Ledesma, aunque ya no están físicamente, sé que siguen conmigo, por su amor, enseñanzas y ejemplo continúan presentes en todo lo que soy. En la trayectoria de mi educación profesional es, en gran parte, fruto de nuestro esfuerzo, los valores; el cariño que sembraron en mí.

A mi hermana, Laura Adriana Morales García, gracias por tu presencia, tu afecto constante, apoyo incondicional y tu fortaleza inquebrantable. Por ser mi primera maestra en mi educación escolar y mi ejemplo.

A mis amigos y seres queridos, por su comprensión y ánimo en los momentos más desafiantes. Sus palabras, gestos y cercanía fueron un alivio y una fuente de motivación continua.

A mi familia materna y paterna, por el apoyo que he recibido a lo largo de mi formación. A cada uno, gracias por su confianza y cariño.

A todas las personas que, de una u otra forma, contribuyeron al desarrollo de este trabajo, les expreso mi sincero agradecimiento.

II. Dedicatoria

***Con todo mi amor y gratitud para:
Araceli García González, mi madre
Martín Juan Morales Ledesma, mi padre***

Mamá, *Tú* que, con tu hermoso carácter me acompañaste a lo largo de muchas etapas, siempre tan amorosa, dedicada, gentil y mucho más. Gracias por enseñarme con paciencia, por consentirme y brindarme muchos momentos a tu lado, quiero decirte que siempre sentí y pensé que fuiste y sigues siendo mucho para todos, nos llenaste de tu alegría tan contagiosa, que ha sido fundamental para mi vida.

A ti, Papá, que, con tu fortaleza, tu trabajo, el esmero y perseverancia, lleno de amor hacia tu familia, nos brindaste seguridad, de esa que, a pesar de la preocupación por nosotras, nos impulsabas a hacer lo imposible y convertirlo a lo posible, no fue fácil, pero siempre estabas ahí, dando ese silencioso empujón precavido y con un colchón invisible de confianza.

Mamá y Papá, su presencia me acompaña en cada decisión y en cada logro. Esta meta alcanzada es también suya, porque sus enseñanzas, su amor incondicional y su ejemplo siguen guiando mi camino.

A mi hermana Laura Adriana Morales García, porque es mi guía, mi confidente y la que ha dado frente a situaciones que no le correspondían, su sacrificios y esfuerzos, por cada momento complejo que se preocupó por resolver, yo comparto nuestro logro, por acompañarme en este aprendizaje desde pequeña y que hasta la fecha sigue mirándome y guiando, con cuidado, con amor.

A mi pareja Vladimir Peña Maldonado, por su presencia, su tolerancia, su ayuda incondicional y por motivarme día a día.

A mis amigas y amigos, por darme buenos momentos y ser mi motivación.

Y a mis compañeros de vida de cuatro patas, por darme amor sin condiciones, por alegrar mis días con su lealtad, darme consuelo y por enseñarme, de maneras sencillas pero profundas, el valor del cuidado y la presencia.

III. Resumen

Este estudio tuvo como objetivo identificar y caracterizar bacterias aerotransportadas en Zinacantepec y San Lorenzo, localidades de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), durante las temporadas de lluvias y secas. Se recolectaron muestras mediante filtros de fibra de vidrio, obteniendo un total de 91 cultivos bacterianos puros. A estos se les realizaron análisis morfológicos, fisiológicos, metabólicos, enzimáticos, hemolíticos y pruebas de susceptibilidad a antibióticos. Se observaron diferencias significativas entre sitios y temporadas: en Zinacantepec, durante la temporada de lluvias, predominaron bacilos Gram positivos esporulados; mientras que en San Lorenzo, especialmente en época de lluvias, se evidenció una mayor diversidad morfológica, incluyendo cocos y cocobacilos. La mayoría de las bacterias presentaron metabolismo anaerobio facultativo y capacidad de utilizar diversos azúcares simples como fuente de carbono. Asimismo, se detectó producción de enzimas extracelulares como amilasa, lipasa y gelatinasa, así como actividad hemolítica, especialmente en condiciones de alta humedad. Algunos cultivos mostraron resistencia a antibióticos de uso clínico como cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima, lo que representa un riesgo potencial para la salud pública. Estos resultados nos indican la importancia de monitorear la microbiota aérea y demuestran la utilidad de los filtros de fibra de vidrio en la colecta y conservación de microorganismos aerotransportados.

Palabras clave: Bacterias aerotransportadas, filtros de fibra de vidrio, Zinacantepec San Lorenzo, *Bacillus*.

Índice

| | |
|--|-----------|
| Agradecimientos | 2 |
| Dedicatoria | 3 |
| Resumen | 4 |
| 1.INTRODUCCIÓN | 6 |
| 2.MARCO TEÓRICO | 6 |
| 3. OBJETIVOS | 10 |
| 3.1 Objetivo general | 9 |
| 3.2 Objetivos específicos | 9 |
| 4. METODOLOGÍA | 9 |
| 4.1 Área de estudio | 9 |
| 4.2 Colecta de las muestras | 11 |
| 4.3 Procesamiento de las muestras | 11 |
| 4.4 Obtención de cultivos puros | 12 |
| 4.5 Caracterización fisiológica | 12 |
| 4.6 Producción de enzimas extracelulares | 12 |
| 4.7 Susceptibilidad de antibióticos | 12 |
| 5. RESULTADOS | 13 |
| 6. DISCUSIÓN | 19 |
| 7. CONCLUSIONES | 22 |
| 8. REFERENCIAS | 23 |
| 9. ANEXOS | |
| Anexo 1 | 27 |
| Anexo 2 | 28 |
| Anexo 3 | 30 |
| Anexo 4 | 35 |
| 10. VISTO BUENO DE ASESORAS DEL SERVICIO SOCIAL | 36 |

1. INTRODUCCIÓN

El aire es un medio de transporte para microorganismos que provienen de ambientes distantes y se pueden distribuir rápidamente en forma de bioaerosoles (De la Rosa et al., 2002), en las partículas suspendidas que tienen un tamaño de 1 a 100 μm , hay componentes biológicos que pueden causar algún tipo de alergia, toxicidad o infección e incluyen virus, bacterias o esporas (Sánchez-Monedero et al., 2007), estos microorganismos se distribuyen temporal, estacional y espacialmente.

Se ha observado que las bacterias son más abundantes en primavera y otoño debido a factores como la temperatura, humedad relativa del aire, exposición a la luz solar, etc. (Bovallius et al., 1978). La transmisión de las enfermedades dependen de la presencia de un agente infeccioso y de la llegada de cantidades suficientes de este, para infectar al huésped secundario (Tang 2009), distribuyéndose fácilmente, lo cual aumenta las posibilidades de provocar enfermedades (Roldán et al., 2003), aunado a que, tanto las bacterias Gram positivas y negativas, han desarrollado multirresistencia, debido al intercambio horizontal de genes (Partridge et al., 2018), al uso constante y sin control, adecuados, de los antibióticos (Correa-Basurto et al., 2007).

El objetivo de esta investigación fue identificar bacterias de aire provenientes de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, con ello se contribuirá al conocimiento de este grupo de organismos en México.

2. MARCO TEÓRICO

Actualmente, la contaminación del aire es un problema mundial donde sus efectos adversos siguen aumentando (Smets et al., 2014), en las últimas décadas en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), se han establecido industrias que junto con las actividades antropogénicas y el crecimiento de la población han contribuido al aceleramiento de la contaminación (Céspedes et al., 2009), todo ello, entre otros, han afectado, severamente, al estado de salud de los ecosistemas y de las poblaciones humanas, que están expuestas a corto y largo plazo, a contaminantes del aire, como por ejemplo, el dióxido de nitrógeno, ozono (Chen y Kan, 2008), el dióxido de azufre, bióxido de carbono, hidrocarburos y otras partículas en suspensión (Aragón-Piña, 2011).

Diversas investigaciones han mostrado que la presencia, distribución y actividad de bacterias en ambientes atmosféricos dependen de múltiples factores, entre ellos la temperatura, humedad relativa, radiación ultravioleta (UV), disponibilidad de materia orgánica y oxígeno (Qiu et al., 2022). Aunque la radiación UV puede actuar como

agente inactivador puntual de bacterias (“inactive”), esta no garantiza la ausencia total de microorganismos, pues algunas especies presentan resistencia adaptativa a estos factores y pueden entrar en estados de inactividad, deshidratación o incluso congelación temporal. Sin embargo, cuando las condiciones ambientales mejoran, dichas bacterias reactivan su metabolismo, se multiplican y se dispersan ampliamente en el aire (Qiu et al., 2022). Los bioaerosoles son contaminantes atmosféricos, ubicados en la tropósfera, capa en la que los seres vivos obtienen oxígeno (Ataz y de Mera, 2004), sin embargo, organismos vivos con tallas de entre 1 a 100 μm , presentes en el aire, pueden causar algún tipo de alergia, toxicidad o infección como los virus, bacterias o esporas (Sánchez-Monedero et al., 2007). El tamaño de la biota en la atmósfera varía, puede ser de nanómetros a micrómetros e incluye bacterias, esporas y polen, además de semillas; los insectos sin alas pueden encontrarse cerca del suelo o a grandes alturas (Rosas, 2004).

La cantidad de microorganismos dependerá de la altitud atmosférica en la que se encuentren (10-104 por m^3), incluyéndose el microclima de los humanos, considerando los dos metros inferiores a este, ya que después de los 5000 metros de altura son escasos. En la tropósfera, se encuentran microorganismos (Bovallius et al. 1978), así como también en la estratosfera; se han reportado bacterias y hongos a una altura de 41 km., los cuales, son de interés por su origen, si son del espacio y/o provenientes de la Tierra (Wainwright et al., 2004), también depende del número y tipo de movilidad, así como de las zonas pobladas, de las actividades de la región, tanto industrial o agrícola. La proporción de microorganismos es mayor en las zonas urbanizadas y después en el mar. La diversidad y abundancia de los microorganismos en la atmósfera varían con las estaciones, en especial, las bacterias, son más numerosas en primavera y en otoño debido al aumento de la temperatura, la humedad relativa del aire, la exposición a la luz solar, entre otros factores (Bovallius et al., 1978).

Para la recolección e identificación de bacterias aéreas, se han aplicado técnicas comúnmente usadas y validadas en la literatura científica, tales como impactadores de aire, filtros de membrana y métodos de sedimentación en placas de agar expuestas en el ambiente (De la Rosa et al., 2002). Estas técnicas permiten aislar bacterias para su posterior cultivo y caracterización, facilitando el estudio de su ciclo de vida, adaptaciones y potenciales aplicaciones biotecnológicas, además de su relevancia en salud pública. En México, estudios similares han utilizado estas metodologías para aislar géneros bacterianos asociados a ambientes urbanos, hospitalarios y naturales. Por ejemplo, Maldonado et al., (2014) lograron aislar nueve aerobacterias de los géneros *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Kocuria*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Rhanella*, *Pseudomonas* y *Kluyvera* mediante técnicas de impactación en ambientes hospitalarios. Asimismo, García-Mena et al.

(2016) emplearon impactación directa en agar Luria-Bertani y agar sangre, identificando géneros como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Erwinia*, *Gluconacetobacter*, *Proteus*, *Exiguobacterium* y *Staphylococcus* en muestras aéreas.

En la atmósfera, las bacterias y hongos se han adaptado a este ambiente, por ejemplo, las que habitan en el suelo, al estar en contacto con los contaminantes se hacen más resistentes a fármacos (Smets et al., 2014), en tanto que en el aire se encuentran bacterias patógenas que afectan a plantas, animales, incluyendo a los humanos, dentro de ellas están *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas* sp. (Méndez-Puentes et al., 2015).

Las enfermedades transmitidas a través del aire en los humanos son, principalmente alérgicas y respiratorias, teniendo en cuenta de que el hombre inhala aproximadamente 7,500 litros de aire al día (De la Rosa et al., 2002).

Las bacterias que son transportadas por el aire, aerosoles o lluvias, son oportunistas y ocasionan que las plantas enfermen o mueran (Vidaver y Lambrecht, 2004). Las etapas de la transmisión a través del aire dependen de la producción de un agente infeccioso y de la llegada de cantidades suficientes de organismos para causar una enfermedad en un hospedero secundario (Tang, 2009).

Los tipos de bacterias presentes en el aire dependen del origen, la intensidad y dirección del viento además de su capacidad de supervivencia a este (Underwood, 1992). Algunas bacterias se encuentran en forma de células vegetativas, pero con más frecuencia en el aire se aíslan las que son esporuladas, como *Bacillus* spp. y *Clostridium* spp. (Underwood, 1992); también los bacilos pleomórficos Gram positivos (*Corynebacterium*) y los cocos Gram positivos (Ej. *Micrococcus* y *Staphylococcus*); en cuanto a los bacilos Gram negativos (Ej. *Flavobacterium*, *Alcaligenes*) se encuentran en menor proporción y disminuyen con la altura (Gregory, 1973; Pelczar et al., 1993). Se han realizado investigaciones acerca de la respuesta a la resistencia a antibióticos por especies bacterianas (Gram positivas y Gram negativas) son denominados organismos ESKAPEE, dado así que su acrónimo corresponde a las especies *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* ssp. y *Escherichia coli*, son las bacterias patógenas que frecuentemente están en los hospitales (Partridge et al., 2018).

Dentro de los factores que influyen en el surgimiento de bacterias resistentes a los antibióticos, está su uso constante e inadecuado (Correa-Basurto et al., 2007). Esta resistencia se presenta dependiendo de su diversidad estructural y metabólica, ya que generalmente las bacterias Gram positivas resisten más que las Gram negativas, esto es debido a que su pared es más gruesa (De la Rosa et al., 2002),

además de que tienen la capacidad de poseer endosporas, que les permiten resistir al calor, a la radiación ionizante y ultravioleta sobre las condiciones del ambiente en el que se presentan.

Los miembros del género *Bacillus*, se encuentra en el suelo, aire y agua (Holt et al., 1994), y al tener la capacidad de diseminarse en el aire, pueden migrar a grandes distancias hasta encontrar un ambiente para su crecimiento (Layton et al. 2011), tienen movilidad por la presencia de flagelos que miden de 0,5-2,5 a 1,2-10µm, son saprófitas, Gram positivas, catalasa positiva, quimiorganótrofas, principalmente con un metabolismo fermentativo o realizan una respiración aerobia o pueden ser anaerobias estrictas (Holt et al., 1994). Algunas bacterias, presentan capacidades para producir antibióticos, de utilidad antifúngica, para proteger a plantas de enfermedades producidas por hongos (Castillo et al., 2004).

En México, se cuenta con un número limitado de estudios relacionados con las bacterias del aire. Uno de ellos se realizó en una industria textil en el Estado de Puebla, en donde se muestrearon cinco puntos del área de producción y se observó la presencia de tres poblaciones microbianas algunas especies identificadas pertenecen a los géneros son *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacter* y *Bacillus*; se observó que los trabajadores presentaron signos y síntomas clínicos como malestar estomacal, dolor de cabeza, gripe, congestión y flujo nasales (Roldán et al., 2003).

Otro de los estudios fue el realizado por García-Mena et al. (2016), quienes seleccionaron nueve puntos que incluyeron las Delegaciones Azcapotzalco y Gustavo A. Madero y los municipios de Nezahualcóyotl y Coacalco. Los resultados revelaron la presencia, en el aire, de bacterias hemolíticas α , β y γ ; dentro de las bacterias identificadas están miembros de *Bacillus* (*B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. simplex*, *B. safensis*, *B. sp.* y *B. thuringensis*), al igual que: *Enterococcus* spp., *Lysinibacillus fusiformis* y *Microbacterium esteraromaticum*.

En Tijuana analizaron la concentración de microbios en el aire en tres sitios, obteniendo bacterias potencialmente patógenas que incluyó a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* (Hurtado et al., 2014).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Identificar bacterias del aire colectadas a través de filtros de fibra de vidrio de dos sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca para estudiar su diversidad genética, genes de virulencia, susceptibilidad a los antibióticos y resistencia a los antibióticos.

3.2 Objetivos específicos

- Obtener cultivos puros de bacterias del aire colectadas con fibra de vidrio de dos sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, (San Lorenzo y Zinacantepec) en dos épocas del año.
- Caracterizar morfológica y fisiológicamente a los cultivos bacterianos de dos sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca.

Identificación genómica de las bacterias aisladas de dos sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca.

4. METODOLOGÍA

4.1 Área de estudio

La Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) se localiza en la parte central del Estado de México, entre los paralelos 18°59'07" y 19°34'47" de latitud norte y los meridianos 99°38'22" y 99°56'13" de longitud oeste con respecto al meridiano de Greenwich (Gobierno del Estado de México y Secretaría de Ecología, 2004).

En esta zona se presentan tres épocas climatológicas: a) época seca-fría (noviembre a febrero), con temperaturas de entre 9° y 11° C, que es la temperatura más baja en el año, afectada por los sistemas anticiclónicos que pueden generar inversiones térmicas, originando condiciones desfavorables para la dispersión de los contaminantes; b) La segunda época es la seca-cálida (marzo a mayo), en la que hay un ascenso ligero en la temperatura de 15° C; c) la tercer época es la de lluvias (junio a octubre), se caracteriza por precipitaciones de entre 160 y 210 mm; en esta época por ubicación geográfica, tienden a presentarse sistemas meteorológicos tropicales, lo que contribuye a la remoción de los contaminantes en la atmósfera (Gobierno del Estado de México y Secretaría de Ecología, 2004).

Para realizar el presente proyecto de investigación se obtuvieron muestras de aire de dos sitios en la zona Metropolitana del Valle de Toluca a) San Miguel Zinacantepec (ZC), en época de secas-frías (ZCS) y época de lluvias (ZCLL) (19°17'5.89"N, 99°44'7.04"O) y b) San Lorenzo Tepaltitlán (SL), época de secas-frías (SLS) y época de lluvias (SLLL), (19°19'0.85"N, 99°37'18. 38"O), ambos se encuentran en zonas urbanas (figura 1).

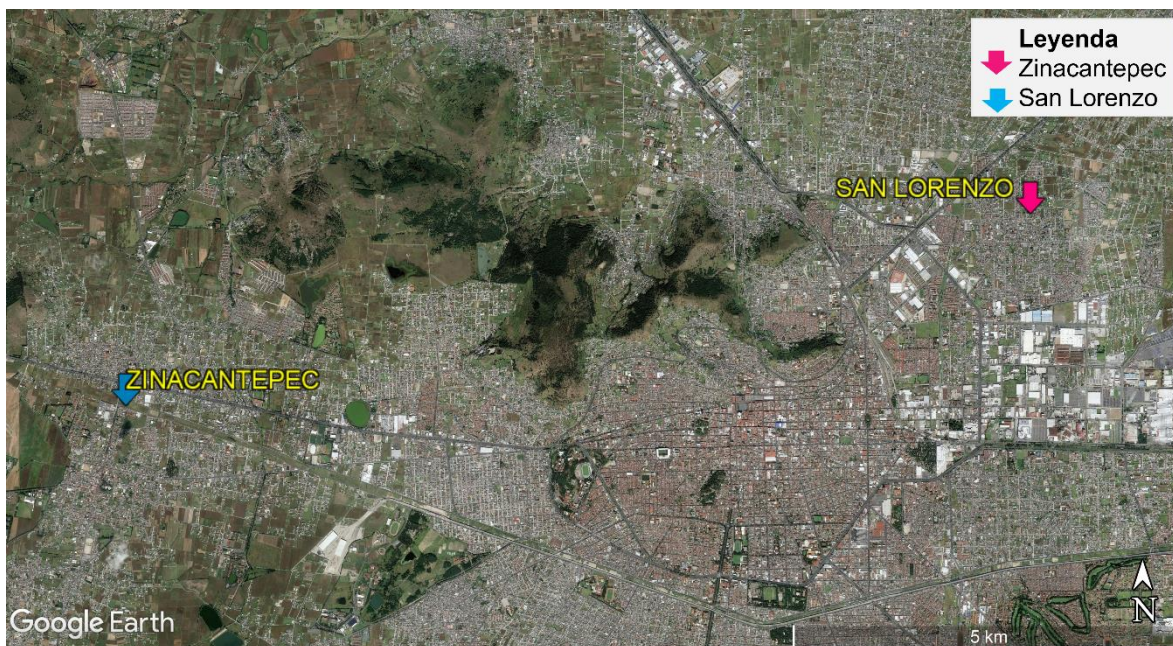


Figura 1. Ubicación de los sitios en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (Google Earth, 2018).

4.2 Colecta de las muestras

Las muestras de las partículas fueron colectadas con filtros de fibra de vidrio colocados en el equipo TC Tecora en la época de lluvias (16 de agosto de 2017) y secas (23 enero de 2018), en San Lorenzo y Zinacantepec. Los filtros fueron transportados al laboratorio de Ecología Microbiana (Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco) donde fueron conservados a 4°C. hasta su procesamiento.

4.3 Procesamiento de las muestras

De cada filtro se utilizó 1.0 cm² este se colocó en 9.0 ml de solución salina al 0.08% (NaCl) y se incubaron a 28°C durante 24 horas. Posteriormente se verificó el crecimiento bacteriano, se realizaron diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-3}), 0.1 mL de estas fueron utilizadas para inocular cajas Petri conteniendo agar nutritivo y se dispersaron mediante un asa de Digraldsky, previamente esterilizada; finalmente, los cultivos se incubaron durante 24 horas a 28°C. A partir de los cultivos bacterianos obtenidos, se seleccionaron colonias considerando su forma, color y tamaño, se sembraron en viales con agar nutritivo inclinado para conservarlas a 4°C (anexo 1).

4.4 Obtención de cultivos puros

Para obtener cultivos puros se aplicó la técnica de siembra y resiembra, por estría cruzada, en agar nutritivo. Para ello se separaron colonias diferentes que fueron resembradas en caja Petri divididas en ocho, la pureza de los cultivos se verificó por observaciones al microscopio óptica previa tinción de Gram de cultivos.

A partir de las observaciones microscópicas se determinó, además de la pureza de los cultivos su morfología y arreglo celulares. Los cultivos puros fueron resembrados en viales conteniendo agar nutritivo inclinado, después de 24 horas de incubación a 28°C, se conservaron a 4°C (anexo 2).

4.5 Caracterización fisiológica

Se realizaron pruebas bioquímicas para conocer las características catabólicas y metabólicas respiratorias.

Para determinar el catabolismo de los cultivos bacterianos, se utilizó base rojo de fenol y se agregaron 5.0 g. de los sustratos: glucosa, fructosa, maltosa, manitol, sorbitol, sacarosa, lactosa y dextrosa. Con los resultados obtenidos se observó la capacidad de los cultivos de utilizar al citrato (citrato de Simmons) como única fuente de carbono y energía y se calculó el Índice Medio de Utilización de Sustratos (I.M.U.) de acuerdo con lo expuesto por Carballo (1985), como se indica en el anexo 4.

Para el metabolismo respiratorio se prepararon medios semisólidos a base de rojo de fenol y agar bacteriológico, suplementados con glucosa y fructosa por duplicado. Tras la inoculación, a uno de los tubos de cada par se le añadió una mezcla de aceite mineral y parafina (1:1) para impedir la entrada de oxígeno, conforme a lo descrito en el Anexo 3. Finalmente, los cultivos se incubaron durante 24 horas a 28°C.

4.6 Producción de enzimas extracelulares

Se prepararon medios de cultivos específicos para la producción de enzimas extracelulares que incluyeron amilasa, gelatinasa, lipasa, ADNasa y de hemólisis y se calculó el Índice Medio de producción de Enzimas (I.M.E.) de acuerdo con lo expuesto por Carballo (1985) y en el anexo 4.

4.7 Susceptibilidad a antibióticos

Para determinar la respuesta de los cultivos bacterianos estos se cultivaron en caldo nutritivo durante dos horas, pasado este tiempo se inocularon cajas Petri conteniendo agar Müller-Hinton, el inóculo se estrió en la superficie del agar y se colocaron sensidiscos de la marca Accutrak, para Gram positivos que incluyó a los antibióticos: Amoxicilina (10 µg), Amoxicilina-ácido clavulánico (10/20 µg), Eritromicina (15 µg), Cotrimoxazol (25 µg), Cefalexina (30 µg), Cefazolin (30 µg), Cefuroxima (30 µg), Cloranfenicol (30 µg), Ciprofloxacina (5 µg), Ofloxacina (5 µg),

Piperacilina (100 µg), Azitromicina (15 µg) y Tetraciclina (30 µg) y para Gram negativos: Cefuroxima (30 µg), Norfloxacin (10 µg), Aztreonam (30 µg), Cefotaxima (30 µg), Ceftriaxona (30 µg), Ácido Nalidíxico (30 µg), Nitrofurantoina (300 µg), Gentamicina (10 µg), Amikacina (30 µg), Ciprofloxacino (5 µg), Ofloxacina (5 µg), Ceftazidima (30 µg), Cefixima (5 µg) y Cefdinir (5 µg). Los cultivos con los sensibilizadores se incubaron durante 18 horas a 28°C., posteriormente se midieron los halos de inhibición considerando que estos fueron resistentes cuando el halo presentó de 0-14 mm., sensibilidad intermedia de 15-19 mm. y sensibles de 20-30 mm. (Correa-Basurto et al., 2007).

5. RESULTADOS

Se obtuvieron 91 cultivos bacterianos puros aislados (nueve de Zinacantepec, temporada de lluvias (ZCLL), 27 de Zinacantepec, temporada de secas (ZCS) y 55 de San Lorenzo (SLLL). La morfología de los cultivos bacterianos con mayor presencia en Zinacantepec fue la bacilar, en ZCLL, el 100% fueron bacilos Gram positivos esporulados, mientras que, en la temporada de secas, tuvo diversidad bacteriana observándose bacilos Gram positivos esporulados y bacilos Gram positivos filamentosos y bacilos Gram negativos filamentosos con mayor registro, y con una menor proporción a los cocobacilos Gram negativos. En San Lorenzo, en la temporada de lluvia, la forma más abundante fueron los cocobacilos Gram positivos y los cocobacilos Gram negativos, seguido de los cocos Gram positivos y en menor presencia por los cocos Gram negativos. Esta variabilidad morfológica sugiere diferencias en la composición microbiana asociadas a las condiciones ambientales de cada sitio y temporada (figura 2).

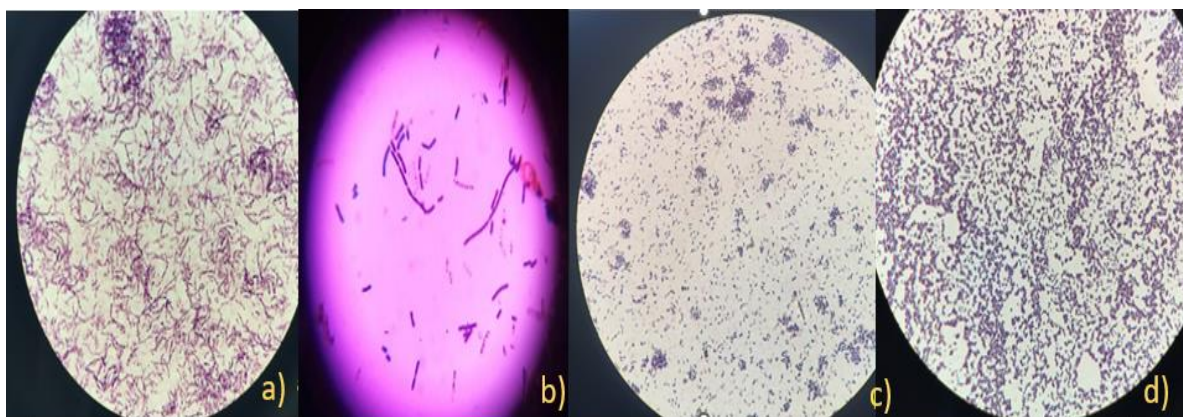


Figura 2. Morfología de los cultivos bacterianos aislados de ZCLL, a) Bacilos esporulados; ZCS, b) Bacilos filamentosos Gram, SLL, d) Cocobacilos y e) Cocos.

El color de las colonias de los cultivos aislados puros se presenta en la figura 3, los colores fueron crema, transparente y amarillo; en los dos sitios se observó la presencia del color crema. En SLLL, tuvo tres colores distintos en sus colonias, en mayor número de cultivos fue crema, seguido de transparentes y amarillos. En las dos temporadas de Zinacantepec todas las colonias fueron de color crema.

Estas diferencias en morfología y pigmentación reflejan posibles variaciones en la diversidad microbiana y adaptación de las bacterias a las condiciones particulares de cada sitio y época del año.

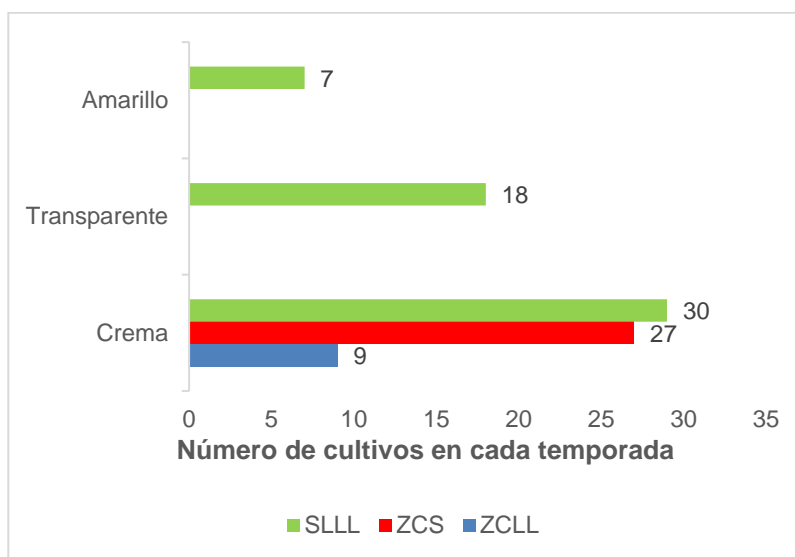


Figura 3. Color de las colonias de los cultivos bacterianos de Zinacantepec y San Lorenzo.

Con los resultados de las pruebas catabólicas (utilización de fuentes de carbono y se calculó el I.M.U.) para cada sitio y temporadas (lluvias y secas). El promedio de sustratos que más utilizaron los cultivos de los dos sitios fueron glucosa (54%), fructuosa (52%), dextrosa (51%), y maltosa (37). Además, el citrato de Simmons fue aprovechado por el 27% de los cultivos en SLLL y el 26% en ZCLL. En general, los cultivos bacterianos de Zinacantepec (ZCLL y ZCS) presentaron una mayor capacidad catabólica en comparación con los de San Lorenzo (SLLL), como se refleja en los valores de I.M.U.

En ZCLL (figura 4) Se observó que el 100% catabolizó glucosa, 89% fructuosa, dextrosa y maltosa. El I.M.U. fue de 49%, reflejando una buena capacidad de adaptación a los sustratos disponibles.

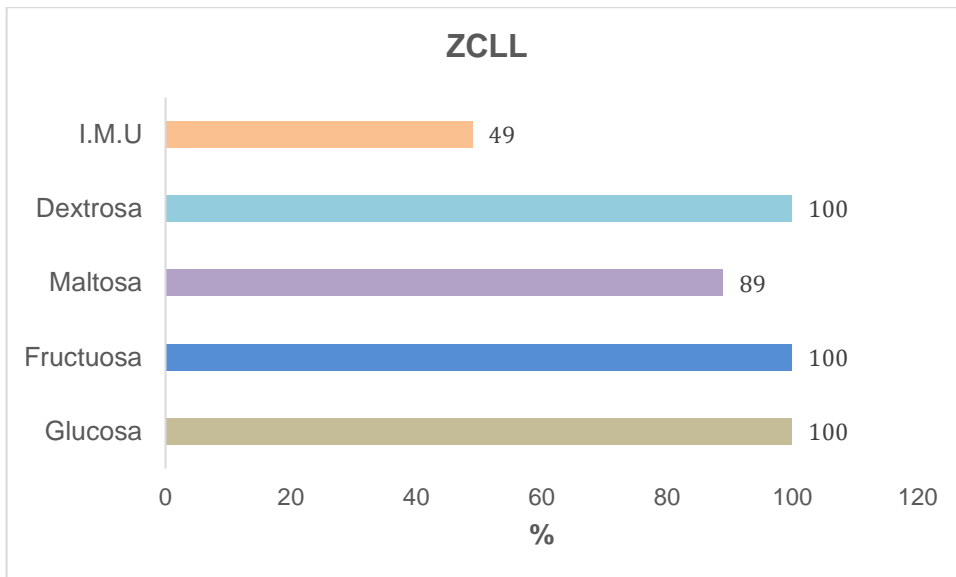


Figura 4. Catabolismo de los cultivos bacterianos puros provenientes de ZCLL y el I.M.U.

En ZCS, correspondiente a la temporada de secas (figura 5), todos los sustratos fueron utilizados, aunque en menor proporción. La dextrosa fue la más utilizada (48%), seguida de fructuosa (41%), lactosa (33%), glucosa y sacarosa (22%), y finalmente sorbitol, maltosa y manitol (19%). El I.M.U. fue de 28%, indicando una actividad catabólica baja.

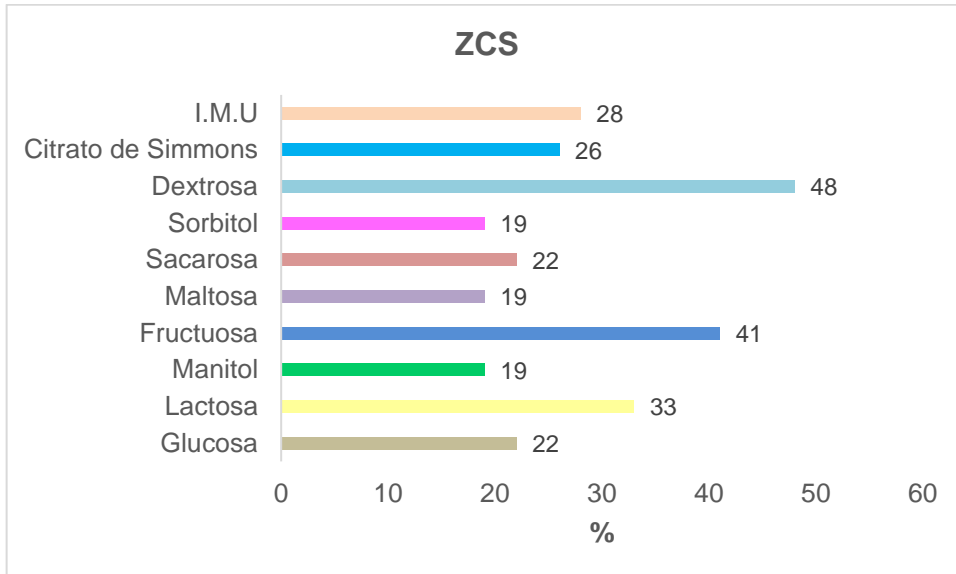


Figura 5. Cultivos bacterianos puros que utilizan fuentes de carbono y energía a los sustratos ensayados y su I.M.U. de Zinacantepec temporada de secas.

En SLLL, el 40% catabolizó glucosa, 27% fructuosa, 15% dextrosa, 4% lactosa y sacarosa, y apenas 2% para manitol y maltosa., el I.M.U. fue de solo 12%, el más bajo entre los sitios estudiados (figura 6).

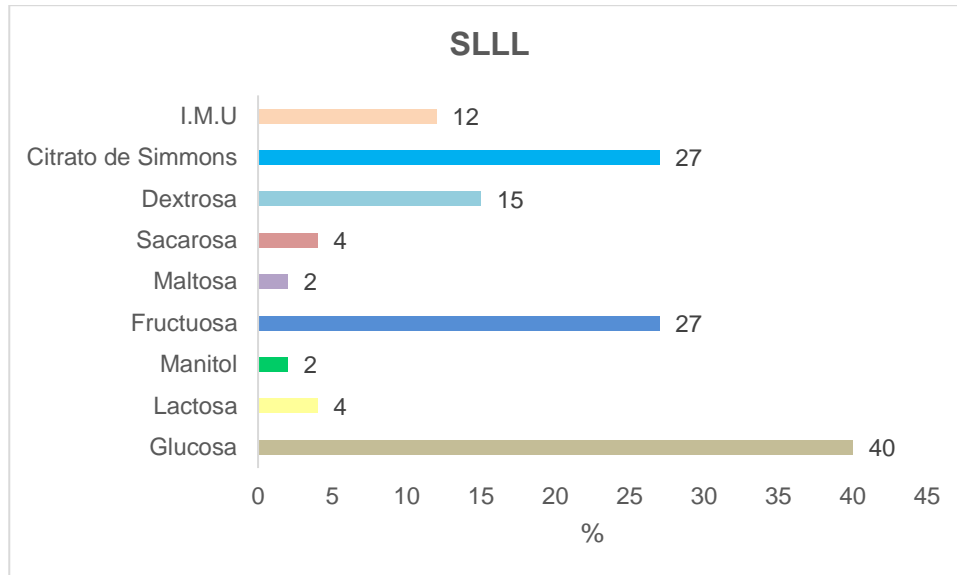


Figura 6. Cultivos bacterianos puros que utilizaron a los sustratos ensayados como fuentes de carbono y energía y su I.M.U. de cada temporada.

La figura 7, muestra los resultados del metabolismo respiratorio de los cultivos bacterianos puros, específicamente su comportamiento como anaerobios facultativos al utilizar glucosa y fructuosa como fuentes de carbono.

En el sitio ZCLL, se observó que el 100% de los aislamientos bacterianos fueron anaerobios facultativos tanto en presencia de glucosa como de fructuosa, lo que indica una alta adaptabilidad metabólica de los cultivos crecer en condiciones con o sin oxígeno.

En el sitio ZCS, el 41% de los cultivos bacterianos fueron anaerobios facultativos cuando se les suministró fructuosa, mientras que solo el 22% lo fueron con glucosa, mostrando una menor versatilidad para crecer en condiciones anaerobias en los sustratos ensayados en ZCLL.

Por su parte, en SLLL, se observó que el 40% de los aislamientos mostraron metabolismo anaerobio facultativo con glucosa, y el 27% con fructuosa. Aunque estos porcentajes son superiores a los de ZCS, se mantienen significativamente por debajo de los observados en ZCLL.

Estos resultados reflejan diferencias importantes en la capacidad respiratoria de los cultivos bacterianos según el sitio de origen, siendo ZCLL el que presenta la mayor proporción de microorganismos con un metabolismo respiratorio más flexible.

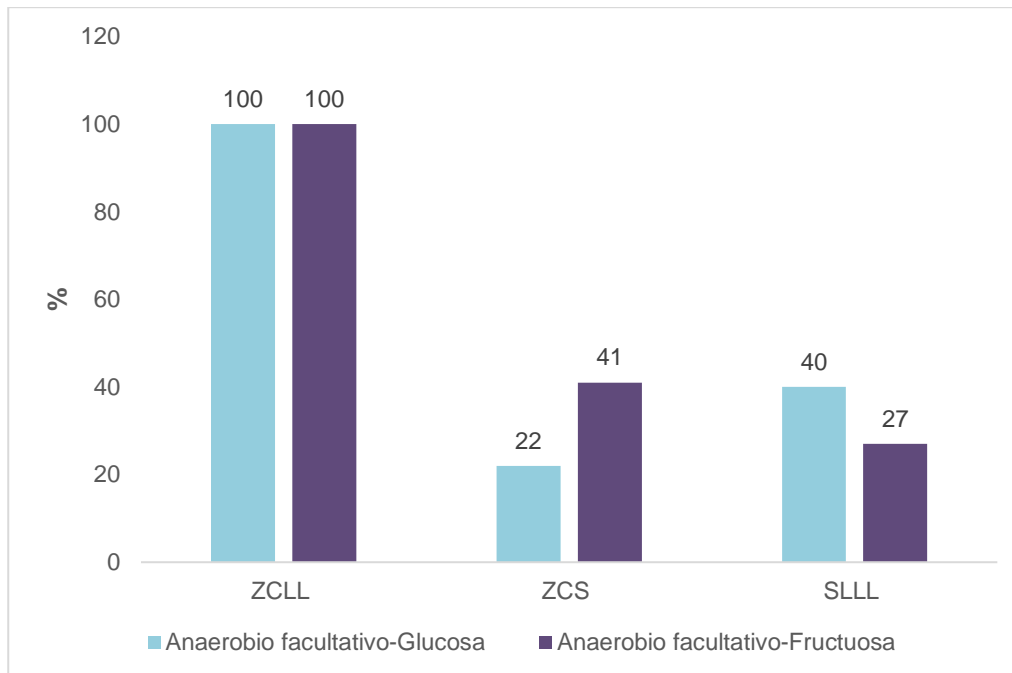


Figura 7. Metabolismo respiratorio de los cultivos bacterianos puros tanto en glucosa como en fructuosa.

Con respecto a la producción de enzimas extracelulares (figura 8), en el sitio SLLL, se observó el mayor número de cultivos bacterianos que producen enzimas extracelulares: 100% de los aislamientos fueron positivos para amilasa, lipasa y gelatinasa. Sólo el 11% de los cultivos produjo un 11% de cultivos con hemólisis. El I.M.E. registrado fue de 62%, el más alto entre los sitios analizados.

En ZCLL, el 97% de los aislamientos produjeron amilasa, 63% lipasa, y 49% gelatinasa. Además, se registró actividad hemolítica en un 13% de los cultivos y 16% mostraron producción de ADNasa. El I.M.E. fue de 43%.

Por otro lado, en ZCS la actividad enzimática fue más limitada: amilasa (13%), lipasa (18%), gelatinasa (8%), y hemólisis (7%). Este sitio presentó los valores más bajos en la mayoría de las enzimas analizadas, obteniendo un I.M.E. de 25%.

Estos resultados indican que SLLL y ZCLL albergan cultivos bacterianos con mayor potencial para la producción de enzimas extracelulares, lo cual podría reflejar diferencias en las condiciones ambientales, la diversidad microbiana o la presión de selección en cada sitio. La baja actividad enzimática observada en ZCS sugiere una comunidad bacteriana con menor capacidad degradativa.

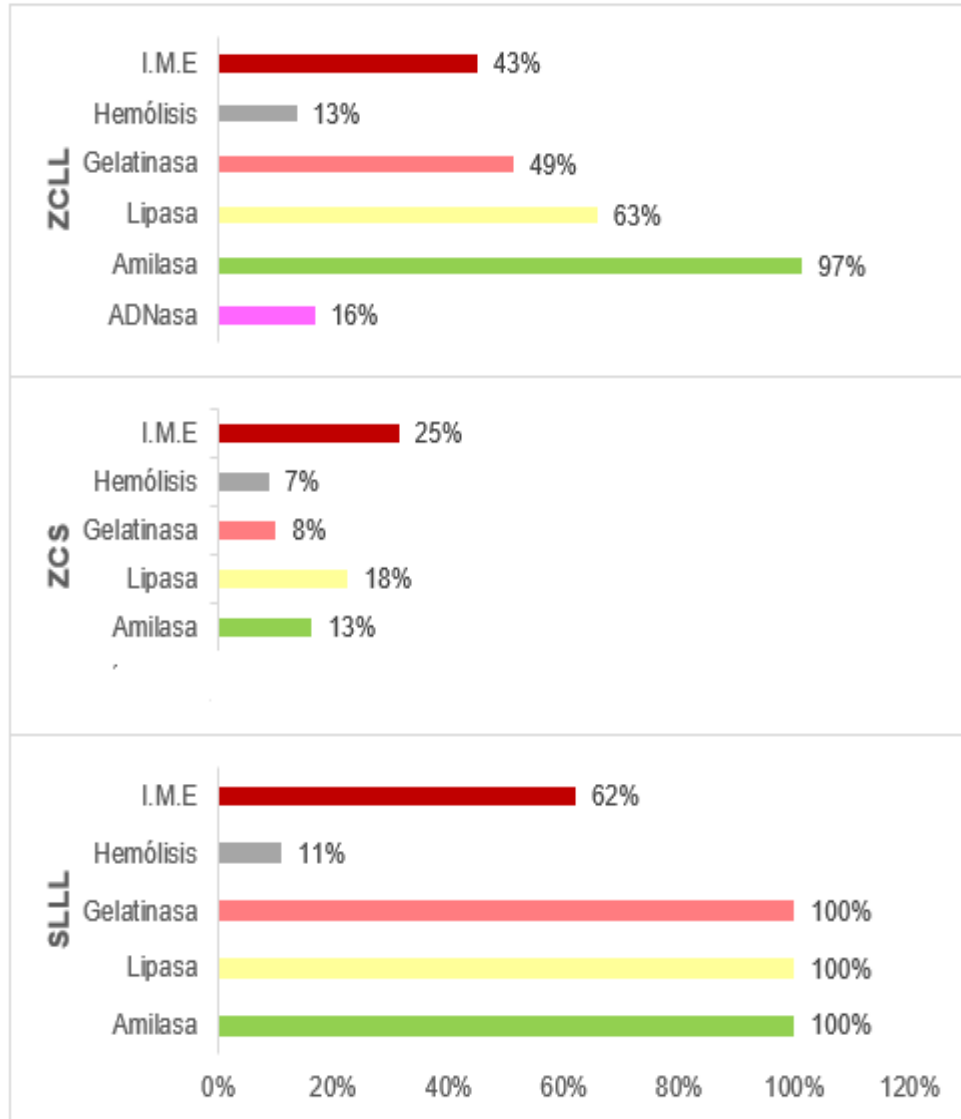


Figura 8. Cultivos bacterianos puros productores de enzimas extracelulares, hemólisis y e I.M.E. de Zinacantepec y San Lorenzo.

La tabla 1, muestra la respuesta de los cultivos bacterianos aislados en el sitio ZCS frente a 14 antibióticos de amplio espectro utilizados comúnmente contra bacterias Gram negativas. Se observó que la mayoría de los aislamientos presentaron resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, específicamente a cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima y cefixima. Asimismo, se identificó una respuesta intermedia ante cefuroxima, aztreonam y cefdinir, lo que sugiere una sensibilidad parcial o limitada frente a estos compuestos.

Los cultivos fueron sensibles a otros antibióticos que actúan por diferentes mecanismos, entre ellos la nitrofurantoína, norfloxacin, gentamicina, amikacina, ciprofloxacina, ofloxacina, cefuroxima (en algunos casos) y ácido nalidíxico. Estos resultados indican un perfil preocupante de resistencia múltiple frente a los

antibióticos β -lactámicos, especialmente cefalosporinas, lo cual podría estar asociado con la presencia de mecanismos de resistencia como la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Sin embargo, la sensibilidad conservada hacia los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas sugiere que aún existen alternativas terapéuticas viables para el tratamiento de infecciones causadas por estos cultivos bacterianos.

Tabla 1. Respuesta de los cultivos bacterianos de ZCS a los antibióticos Gram negativos ensayados.

| Cultivos | CR/XM | NF/NOR | AT | CX/CTX | FR/CRO | NA | FU/NI | GM | AK | CI | OF | CZ/CAZ | FX/FIX | CN/CD |
|----------|-------|--------|----|--------|--------|----|-------|----|----|----|----|--------|--------|-------|
| 2ZC1 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2ZC2 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2ZC6 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2ZC7 | | | | | | | | | | | | | | |
| 2ZC4-1 | | | | | | | | | | | | | | |

Resistente  Intermedio  Sensible 

Cefuroxima (CR/XM), Norfloxacin (NF/NOR), Aztreonam (AT), Cefotaxima (CX/CTX), Ceftriaxona (FR/CRO), Ácido Nalidíxico (NA), Nitrofurantoina (FU/NI), Gentamicina (GM), Amikacina (AK), Ciprofloxacino (CI), Ofloxacina (OF), Ceftazidima (CZ/CAZ), Cefixima (FX/FIX) y Cefdinir (CN/CD).

La identificación genómica de las bacterias aisladas de los dos sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, del presente estudio, no se realizó debido a que, como resultado de la pandemia por COVID 19, se dañó el refrigerador en donde se conservaban los cultivos y se contaminaron por lo que hubo pérdida total de estos.

6. DISCUSIÓN

El presente estudio se llevó a cabo en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), enfocándose en dos localidades que presentan características ambientales y socioeconómicas contrastantes: Zinacantepec, una zona urbana, y San Lorenzo, considerada semiurbana. Se seleccionaron estas localidades para evaluar cómo las condiciones urbanas y semiurbanas afectan la composición, diversidad y funcionalidad de las comunidades bacterianas aéreas. La investigación incluyó muestreos en dos temporadas climáticas diferenciadas: la temporada seca, representada por el mes de enero, y la temporada de lluvias, correspondiente al mes de agosto. Las condiciones climáticas en enero presentaron temperaturas bajas, entre 9 y 11 °C, lo que restringe la dispersión de microorganismos debido a su requerimiento de hidratación para mantenerse activos y viables. En contraste, en agosto la temperatura promedio fue de aproximadamente 15 °C, lo que genera un ambiente más propicio para la supervivencia y propagación de bacterias aéreas (Rotger y Iriarte, 2022; Tang, 2009).

Zinacantepec y San Lorenzo representan territorios con dinámicas poblacionales, industriales y ambientales cambiantes, que, combinadas con las variaciones

meteorológicas estacionales, afectan de manera significativa la diversidad y composición de las comunidades bacterianas aéreas. Esta interacción compleja sugiere que el estudio detallado de bioaerosoles en ambas localidades y en diferentes temporadas puede proporcionar datos relevantes para entender el comportamiento ecológico y funcional de las bacterias presentes.

En este estudio, se aislaron y caracterizaron 91 cultivos bacterianos puros, cuyo análisis reveló diferencias significativas en la composición morfológica y diversidad bacteriana entre las localidades y temporadas estudiadas. Durante la temporada de lluvias en Zinacantepec (ZCLL), predominaron Los bacilos Gram positivos esporulados, probablemente del género *Bacillus*, conocido por su capacidad de formar esporas altamente resistentes que permiten la supervivencia y dispersión en condiciones ambientales variables (Cruz-Pauseno, 2019).

Por otro lado, en la temporada en los aislados de ZCS, se observó una mayor diversidad morfológica, incluyendo bacilos Gram positivos y negativos filamentosos, que tienden a generar esporas para sobrevivir ante la escasez de nutrientes y condiciones adversas, activándose nuevamente cuando el ambiente mejora (Fang et al., 2007). Además, se detectó la presencia de cocobacilos Gram negativos en menor proporción, bacterias que habitan ambientes acuáticos, suelos, vegetación y el tracto intestinal de humanos y animales (Fariñas y Martínez-Martínez, 2013). La coexistencia de estas bacterias en el aire refleja la complejidad de los nichos microbianos y su adaptación a los cambios estacionales. La predominancia de bacilos Gram positivos esporulados durante la temporada de lluvias, junto con la mayor diversidad encontrada en la temporada seca, evidencian cómo factores ambientales, especialmente temperatura y humedad, influyen en la estructura y dinámica de las comunidades bacterianas aéreas.

En cuanto a las características fenotípicas, se examinó la pigmentación de las colonias bacterianas. El color crema predominó en la mayoría de los cultivos, lo que está relacionado con la cantidad de ARN y ADN presente en la célula según la fase. En San Lorenzo durante la temporada de lluvias (SLLL), se observó que los aislados presentan colonias transparentes, amarillas y crema. Las colonias amarillas podrían corresponder a *Micrococcus luteus*, que produce pigmentos carotenoides que brindan protección frente al estrés oxidativo y radiación ultravioleta, ofreciendo ventajas adaptativas en ambientes expuestos a la luz solar (Propst y Lubin, 1979; Saubenova et al., 2024). La ausencia de estas colonias pigmentadas en Zinacantepec podría relacionarse con diferencias en el ambiente local o en las condiciones experimentales de cultivo, como la composición del medio de cultivo y temperatura de incubación (Cercenado y Cantón, 2009; Caycedo et al., 2021). Estas observaciones resaltan la heterogeneidad microbiana y los múltiples factores que inciden en las características fenotípicas observadas.

Desde una perspectiva funcional, el análisis metabólico mostró que las bacterias aisladas poseen una alta capacidad para utilizar diversas fuentes de carbono, con una marcada preferencia por azúcares simples y disacáridos fermentables como glucosa, fructosa, maltosa y dextrosa. La mayoría de los cultivos presentaron un

metabolismo anaerobio facultativo, lo que indica su capacidad metabólica para crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (Jin et al., 2025).

En particular, los bacilos Gram positivos aislados en Zinacantepec, probablemente *Bacillus*, mostraron metabolismo facultativo capaz de fermentar carbohidratos en condiciones anaeróbicas, produciendo metabolitos como acetato, acetoin y lactato mediante vías fermentativas o respiración anaerobia con nitrato (Nakano y Zuber, 1998). Esto explica su persistencia en ambientes atmosféricos con condiciones variables y respalda la idea de que las bacterias aéreas mantienen a los ciclos biogeoquímicos locales.

El Índice Medio de Utilización (I.M.U.) de sustratos mostró diferencias entre localidades y temporadas, siendo mayor en Zinacantepec (28-49%) que en San Lorenzo (12%). Esto sugiere una mayor capacidad metabólica y versatilidad en las bacterias urbanas, posiblemente atribuible a mayor diversidad genética o adaptaciones a entornos con mayor carga orgánica o fluctuaciones ambientales (Bowers et al., 2011). Se observó que el citrato fue utilizado por un bajo porcentaje de bacterias (~26-27%), lo que indica que solo un subconjunto posee la capacidad enzimática y sistemas específicos de transporte para metabolizar compuestos menos comunes que requieren rutas metabólicas completas como el del ciclo del ácido tricarbóxico (Postma et al., 1993; Antranikian y Giffhorn, 1987; Yoon et al., 2012). Esta especificidad metabólica resalta la heterogeneidad funcional del microbioma aéreo, el cual responde dinámicamente a condiciones fisicoquímicas locales.

En relación con la producción de enzimas extracelulares, las bacterias aisladas mostraron una alta capacidad degradativa, con producción significativa de amilasa, lipasa y gelatinasa, especialmente en las muestras recolectadas durante la temporada de lluvias (ZCLL y SLLL). Este hallazgo indica que estas bacterias desempeñan un papel relevante en la mineralización y reciclaje de materia orgánica particulada en el ambiente aéreo, contribuyendo a los ciclos biogeoquímicos locales (Fahlgren et al., 2010; Frankel y Bazylnski, 2003). El mayor número de cultivos con capacidad de producir enzimas observado en San Lorenzo durante la temporada de lluvias podría estar relacionado con una mayor expresión de factores de virulencia bajo condiciones ambientales húmedas, fenómeno que ha sido documentado en estudios sobre bacterias presentes en aerosoles urbanos (Hernández, 2024).

Un hallazgo clínico relevante fue la detección de resistencia múltiple a antibióticos β -lactámicos (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima y cefixima) en bacterias aisladas en Zinacantepec durante la temporada seca. Estos antibióticos son ampliamente utilizados en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram negativas. La presencia de cepas resistentes refleja un patrón global de incremento en multiresistencia, atribuible al uso inadecuado y excesivo de antimicrobianos en entornos hospitalarios (Prestinaci et al., 2015).

Desde un enfoque ecológico, la atmósfera urbana ha sido reconocida como un reservorio y vehículo para la dispersión de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) y elementos genéticos móviles (MGEs) que facilitan la transferencia horizontal entre microorganismos ambientales y patógenos oportunistas (Xie et al.,

2022; Li et al., 2018). Adicionalmente, estudios han demostrado que eventos meteorológicos como las lluvias modifican la diversidad y abundancia de ARGs en partículas PM_{2.5}, indicando que el transporte atmosférico representa un mecanismo subestimado para la propagación de resistencia antimicrobiana en ambientes urbanos e industriales (Ouyang et al., 2020).

7. CONCLUSIONES

La morfología y la producción de patogenicidad de los cultivos bacterianos obtenidos de las dos temporadas, resultaron diferentes y ambas tuvieron la capacidad de crecer en condiciones anaerobias, lo cual refiere que hay una diversidad bacteriana, siendo un factor el cual seguir analizando ya que la probabilidad va en aumento que estas ocasionen enfermedades respiratorias y que sean resistentes a los tratamientos médicos, también se vio la factibilidad del uso de filtros de fibra de vidrio para conservar el género *bacillus* a 4°C.

Los resultados obtenidos revelan que estos microorganismos poseen una notable versatilidad metabólica, reflejada en su capacidad para utilizar diversos azúcares simples y complejos, así como un predominio de metabolismo anaerobio facultativo, lo que indica su adaptación a ambientes atmosféricos con disponibilidad variable de oxígeno.

Asimismo, se identificó una alta frecuencia de producción de enzimas extracelulares como amilasa, lipasa y gelatinasa, lo cual sugiere un rol potencial en la degradación de materia orgánica presente en el ambiente aéreo y, posiblemente, en procesos de reciclaje biogeoquímico, sin dejar de un lado que estas enzimas son consideradas como factores de patogenicidad.

La actividad hemolítica detectada, especialmente en la temporada de lluvias, refuerza la hipótesis de que ciertas condiciones ambientales como la alta humedad favorecen la expresión de factores de virulencia en cepas ambientales.

Por otra parte, el análisis de susceptibilidad antimicrobiana reveló la presencia de bacterias resistentes a antibióticos de amplio uso clínico, principalmente cefalosporinas de tercera generación, lo que plantea una preocupación relevante en términos de salud pública. Estos hallazgos refuerzan la importancia de considerar el aire como un reservorio potencial de bacterias patógenas y resistentes, que pueden contribuir a la diseminación ambiental de genes de resistencia.

La contingencia sanitaria por COVID-19, se presentó como una limitante significativa, ya que impidió la validación taxonómica precisa de las cepas mediante herramientas moleculares, restringiendo así la posibilidad de correlacionar las características morfológicas, metabólicas y de resistencia con datos genéticos específicos. Resulta prioritario complementar la caracterización fenotípica con técnicas de identificación molecular (como secuenciación del gen 16S rRNA) que permitan establecer con mayor certeza la clasificación y el potencial patógeno o biotecnológico de las bacterias aerotransportadas.

8. REFERENCIAS

- Antranikian G y Giffhorn F. 1987. Citrate metabolism in anaerobic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 3:(2):175-198.
- Fahlgren C, Hagström A, Nilsson D y Zweifel UL. 2010. Annual variations in the diversity, viability, and origin of airborne bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 76(9): 3015-3025.
- Aragón-Piña A. 2011. ¿Cómo son las partículas atmosféricas antropogénicas y cuál es su relación con los diversos tipos de fuentes contaminantes? Palibrio. México, 159 p.
- Ataz EM y de Mera Morales YD. 2004. Contaminación atmosférica. Capítulo uno. Universidad de Castilla La Mancha. Colección Ciencia y Técnica. 45:9-38
- Bovallius A, Bucht B, Roffey R, Anäs P. 1978. Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora at four locations in Sweden. *Applied and Environmental Microbiology*. 35(5):847-852.
- Bowers RM, Clements N, Emerson JB, Wiedinmyer C, Hannigan MP y Fierer N. 2013. Seasonal variability in bacterial and fungal diversity of the near-surface atmosphere. *Environmental Science & Technology*. 47(21):12097-12106.
- Carballo CR. 1985. Caracterización de bacterias heterótrofas en los aportes de la Laguna de Términos a la Sonda de Campeche. Tesis de Licenciatura en Químico Fármaco Biólogo. México, Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. 148 p.
- Castillo C, Briceño S, Scorza J. 2004. Evaluación de la termorresistencia en metabolitos antifúngicos producidos por esporulados del género *Bacillus*. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 24 (1-2): 65-67.
- Castrejón-Godínez ML, Ortiz-Hernández ML, Rodríguez J, Rodríguez Solís AJ, Sánchez-Salinas E. 2014. La aerobiología y su contribución a la calidad del aire. En: Castrejón-Godínez ML, Ortiz-Hernández ML, Sánchez-Salinas E, compiladores. Contaminación urbana del aire: Aspectos fisicoquímicos, microbiológicos y sociales. Toluca (México. Universidad Autónoma del Estado de Morelos). 105-133 p.
- Caycedo L, Liliana R, Lucía CC, Suárez, DMT. 2021. Las bacterias, su nutrición crecimiento: una mirada desde la química. *Nueva*. 19 (36): 49-9
- Cercenado ME, y Cantón MR. 2009. Procedimientos en microbiología clínica: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2ª ed.). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Recuperado de <https://www.seimc.org/documentos-cientificos/procedimientos-microbiologia/>
- Céspedes F., Silvia E. y Moreno S., Enrique. 2009. La urbanización y el crecimiento demográfico con relación al recurso agua: caso municipio de Chimalhuacán, Estado de México. *Quivera. Revista de Estudios Territoriales*.11(2):127-141.
- Chen B, Kan H. 2008. Air pollution and population health: a global challenge. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 13(2):94-101.

- Correa-Basurto A, Núñez-Cardona MT, y Peña-Betancourt SD. 2007. Bacterias heterótrofas aisladas del lago de los Reyes Aztecas (Tlahuac) y su resistencia a diferentes antibióticos. *Latinoamericana de Recursos Naturales*. 3(1):84-89.
- Cruz PG. 2019. Distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca. Tesis doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. México. 1-179 p.
- De la Rosa MC, Mosso MA, Ullán C. 2002. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*. 5: 375-402.
- Fang Z, Ouyang Z, Zheng H, Wang X, Hu L. 2007. Culturable airborne bacteria in outdoor environments in Beijing, China. *Microbial Ecology*. 54(3): 487-496
- Fariñas MC, y Martínez-Martínez L. 2013. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos Gram negativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 31(6): 402-409.
- Frankel RB y Bazylinski DA. 2003. Biologically induced mineralization by bacteria. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. 54(1): 95-114.
- García-Mena J, Murugesan S, Pérez-Muñoz AA, García-Espitia M, Maya O, Jacinto-Montiel M, Monsalvo-Ponce G, Piña-Escobedo A, Domínguez-Malfavón L, Gómez-Ramírez M, Cervantes-González E, Núñez-Cardona MT. 2016. Airborne Bacterial Diversity from the Low Atmosphere of Greater Mexico City. *Environmental Microbiology*. 72(1):70–84.
- Gregory PH. 1973. *The microbiology of the atmosphere*. John Wiley and Sons. 2nd Ed. Universidad California. 377p.
- Google Earth. 2018. (Mapa de los sitios de estudio de Zona Metropolitana del Valle de Toluca en Google Earth). Recuperado el 08 de diciembre, 2018, elaborado en [:https://earth.google.com/web/](https://earth.google.com/web/) de: <https://www.google.com/maps/@19.29287,-99.65954,23457m/data=!3m1!1e3>
- Hamdan PA. 2004. Biomonitoreo: seguimiento de poblaciones microbianas en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos Tesis. México: Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. 81 p.
- Hernández Cruz, A. 2024. Evaluación del riesgo para la salud ante la exposición de bacterias patógenas en lixiviados y aire en el relleno sanitario Tecámac. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. 1-88 p.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT y Williams ST. 1994. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9th Ed. Springer. Baltimore, U.S.A. 39-45 p.
- Hurtado L, Rodríguez G, López J, Castillo JE, Molina L, Zavala M, Quintana PJ. 2014. Characterization of atmospheric bioaerosols at 9 sites in Tijuana, Mexico. *Atmospheric Environment*. 96 (1):430-436.
- Jin R, Hu W, Duan P, Sheng M, Liu D, Huang Z y Fu P. 2025. Exometabolomic exploration of culturable airborne microorganisms from an urban atmosphere. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 25(3): 1805-1829.

- Layton C, Maldonado E, Monroy L, Corrales L, Sánchez L. 2011. *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. Nova.* 9(16):177-189.
- Li J, Cao J, Zhu YG, Chen QL, Shen F, Wu Y y Yao M. 2018. Global survey of antibiotic resistance genes in air. *Environmental Science & Technology,* 52(19):10975-10984.
- Maldonado M, Peña JJ, De Los Santos S, Castellanos A, Camarena D, Arévalo B, y Guzmán D. 2014. Bioaerosoles y evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios ubicados en León, Guanajuato, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* 30(4): 138-143.
- Méndez-Puentes CA, Camacho-Suárez JG, Echeverry-Hernández S. 2015. Identificación de bacterias y hongos en el aire de Neiva, Colombia. *Revista de Salud Pública.* 17 (1): 728-737.
- Gobierno del Estado de México y Secretaría de Ecología. 2004. Inventario de emisiones a la atmósfera de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca. México: Gobierno del Estado de México y Secretaría de Ecología. 48 p.
- Nakano MM, Zuber P. 1998. Anaerobic growth of a "strict aerobe" (*Bacillus subtilis*). *Annual Review of Microbiology.* 52:165-90. doi: 10.1146/annurev.micro.52.1.165. PMID: 9891797.
- Ouyang W, Gao B, Cheng H, Zhang L, Wang Y, Lin C y Chen J. 2020. Airborne bacterial communities and antibiotic resistance gene dynamics in PM_{2.5} during rainfall. *Environment International.* 134, 105318.
- Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. 2018. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews.* 31 (4):790-819.
- Pelczar MJ, Chan EC, Krieg NR. 1993. *Microbiology: concepts and applications.* Mc Graw-Hill. New York. 320p.
- Postma PW, Lengeler JW y Jacobson G. 1993. Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria. *Microbiological Reviews.* 57(3): 543-594.
- Prestinaci F, Pezzotti P, y Pantosti A. 2015. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health.* 109(7): 309–318.
- Propst C y Lubin L. 1979. Light-mediated changes in pigmentation of *Pseudomonas aeruginosa* cultures. *Microbiology.* 113(2): 261-266.
- Qiu Y, Zhou Y, Chang Y, Liang X, Zhang H, Lin X, Qing K, Zhou X, Luo Z. 2022. The Effects of Ventilation, Humidity, and Temperature on Bacterial Growth and Bacterial Genera Distribution. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 19(22):15345.
- Roldán EC, Tapia JAR y Batista KL. 2003. Determinación de la calidad microbiológica del aire en una industria textil. *Latinoamericana de Salud en el Trabajo.* 3(1): 21-24.
- Rosas I. 2004. *Microbiología ambiental.* Instituto Nacional de Ecología. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. p 1-42.

- Rotger SC, Iriarte JMO. 2022. La relevancia de la higiene del aire: una urgencia tras la pandemia de la COVID-19. *Revista de Salud Ambiental*. 22(1): 81-90.
- Sánchez-Monedero MÁ, Aguilar MI, Fenoll R y Roig A. 2007. Generación de bioaerosoles en estaciones depuradoras de aguas residuales. *Ingeniería. Mérida, Yucatán*. 11(1):37-42.
- Saubenova M, Rapoport A, Venkatachalam M, Dufossé L, Yermekbay Z, y Oleinikova Y. 2024. Production of Carotenoids by Microorganisms. *Fermentation*. 10(10): 502.
- Simón CI. 2012. Caracterización de bacterias heterótrofas de bioaerosoles colectados en tres puntos del Distrito Federal. (Informe de Servicio Social). México: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. 45 p.
- Smets W, Moretti S, Lebeer S. 2014. Study of airborne bacteria and their relation to air pollutants. *Transactions on Ecology and The Environment*. 191(1):1449-1458.
- Tang J. W. 2009. The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. *Journal of the Royal Society Interface*. 6(1):737-746.
- Underwood E. 1992. Ecology of Microorganisms as it Affects the Pharmaceutical Industry. *Pharmaceutical Microbiology*. 7th Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 249-262 p.
- Vidaver AK y Lambrecht PA. Las Bacterias como Patógenos Vegetales. The Plant Health Instructor (Internet). 2004 (citado 2018 octubre 23); 20(1):5. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/prokaryote/intro/Pages/BacteriaEspanol.aspx>
- Wainwright M, Wickramasinghe NC, Narlikar JV, Rajaratnam P, Perkins J. 2004. Confirmation of the presence of viable but non-cultureable bacteria in the stratosphere. *International Journal of Astrobiology*. 3(1): 13-15.
- Xie J, Jin L, Wu D, Pruden A, Li X. 2022. Inhalable Antibiotic Resistome from Wastewater Treatment Plants to Urban Areas: Bacterial Hosts, Dissemination Risks, and Source Contributions. *Environmental Science y Technology*. 56(11):7040-7051.
- Yoon SH, Han MJ, Jeong H, Lee CH, Xia XX, Lee DH y Kim JF. 2012. Comparative multi-omics systems analysis of *Escherichia coli* strains B and K-12. *Genome Biology*. 13:1-13.

9. ANEXOS

Anexo 1

Preparación de Soluciones medios de cultivo

1. Preparación de Solución Salina

Uso

Se utiliza para reponer el volumen del líquido sin alterar la osmolaridad del medio.

Materiales:

- 1000 ml de agua destilada
- 8.0 g de NaCl

Procedimiento:

1. Disolver 8.0 g de NaCl en 1000 ml de agua destilada.
2. Distribuir 9.0 ml de la solución en tubos de ensayo de 15.0 ml de capacidad.
3. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb/pulg²) durante 20 minutos.

2. Preparación de Caldo Nutritivo

Uso

Se utiliza para el aislamiento y recuento de microorganismos. Su contenido de carbono y nitrógeno aporta nutrientes esenciales para el desarrollo bacteriano.

Materiales:

- 1000 ml de agua destilada
- 8.0 g de caldo nutritivo
-

Procedimiento:

1. Suspender 8.0 g de caldo nutritivo en 1000 ml de agua destilada.
 2. Distribuir en recipientes adecuados.
 3. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
-

3. Preparación de Agar Nutritivo

Uso: El agar es un agente gelificante que proporciona solidez a los medios de cultivo, permitiendo el crecimiento de los microorganismos en la superficie del agar

Materiales:

- 1000 ml de agua destilada
- 15.0 g de agar bacteriológico
- 8.0 g de caldo nutritivo

Procedimiento:

1. Disolver el caldo nutritivo y el agar bacteriológico en 1000 ml de agua destilada.
2. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb/pulg²) durante 15 minutos.
3. Dejar enfriar a una temperatura de 45°C a 50°C.
4. Distribuir en cajas Petri o en viales de 5.0 ml. Para medios inclinados, vaciar 3.0 ml por vial e inclinar mientras se solidifica.
5. Sembrar por estría e incubar a 28°C durante 24 horas.

Anexo 2

Preparación de Reactivos para la Técnica de Tinción Gram

Nota: Esta tinción debe aplicarse a cultivos con 24 horas de incubación (Carballo-Cruz, 1985).

Reactivo 1: Cristal Violeta - Oxalato de Amonio

Solución A:

- 200 ml de alcohol etílico al 96%
- 0.2 g de cristal violeta

Solución B:

- 80 ml de agua destilada
- 0.8 g de oxalato de amonio

Procedimiento:

1. Preparar ambas soluciones por separado.
 2. Combinar la solución A y la solución B.
 3. Dejar reposar durante 24 horas.
 4. Filtrar antes de su uso.
-

Reactivo 2: Yodo - Lugol

Solución A:

- 240 ml de agua destilada
- 1.0 g de yodo (cristales)
- 2.0 g de yoduro de potasio

Solución B:

- 60 ml de NaHCO_3 al 5% (5 g por cada 100 ml de agua destilada)

Procedimiento:

1. Disolver el yodo y el yoduro de potasio en 40 ml de agua destilada.
 2. Añadir el resto del volumen de agua destilada (hasta completar los 240 ml).
 3. Combinar esta solución con la solución B de bicarbonato de sodio.
 4. Dejar reposar durante 24 horas.
 5. Filtrar antes de su uso.
-

Reactivo 3: Alcohol / Acetona (Descolorante)

Composición:

- 70 ml de alcohol etílico
- 30 ml de acetona

Procedimiento:

1. Mezclar ambos componentes hasta homogeneizar.
-

Reactivo 4: Safranina

Composición:

- 100 ml de alcohol etílico
- 2.0 g de safranina

Procedimiento:

1. Disolver completamente la safranina en el alcohol etílico.
2. Dejar reposar durante 24 horas.
3. Filtrar antes de utilizar

Preparación del Frotis

1. Etiquetar los portaobjetos.
 2. Encender el mechero y esterilizar el asa.
 3. Colocar una gota de solución salina sobre el portaobjetos.
 4. Tomar parte de una colonia con el asa enfriada.
 5. Extender suavemente en forma circular.
 6. Secar al aire cerca del mechero, sin sobrecalentar.
-

Proceso de Tinción

1. Agregar cristal violeta por 1 minuto. Enjuagar suavemente con agua.
 2. Agregar yodo-Lugol por 1 minuto. Enjuagar.
 3. Aplicar alcohol/acetona por 30 segundos. Enjuagar.
 4. Agregar safranina por 1 minuto. Enjuagar.
 5. Retirar el exceso de agua y dejar secar.
-

Interpretación de Resultados

- **Gram Positivo:** Color azul o morado.
- **Gram Negativo:** Color rojo o rosa.

Anexo 3

Pruebas catabólicas, metabolismo respiratorio y enzimas extracelulares

Las lecturas se deben realizar después de incubar los cultivos puros durante 24 horas a 28°C.

1. Pruebas catabólicas

1.1 Pruebas con Hidratos de Carbono Líquidos

Sustratos: maltosa, lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, dextrosa

Fundamento: Evaluar la capacidad de los microorganismos para metabolizar compuestos orgánicos.

Composición:

- 1000 ml agua destilada
- 15.0 g rojo de fenol
- 5.0 g del sustrato (azúcar correspondiente)

Procedimiento:

1. Preparar rojo de fenol y agregar el sustrato.
2. Disolver y distribuir 3 ml en tubos con rosca.
3. Esterilizar a 121°C durante 20 minutos.

Lectura:

- Color amarillo: **Prueba positiva**
 - Sin cambio o color más intenso: **Prueba negativa**
-

1.2 Pruebas con Hidratos de Carbono Semisólidos**Sustratos:** Glucosa/fructosa**Composición:**

- 1000 ml agua destilada
- 15.0 g rojo de fenol
- 5.0 g sustrato
- 3.0 g agar bacteriológico

Procedimiento:

1. Preparar la mezcla con rojo de fenol, sustrato y agar.
2. Llevar a ebullición.
3. Verter en tubos con tapón de algodón.
4. Esterilizar a 121°C por 15 minutos.

Lectura:

- De naranja a amarillo: **Medio acidificado** → uso de sustrato.
 - De naranja a rojo: **Medio alcalino** → sin uso del sustrato.
 - Sin cambio: **No se metabolizó el sustrato.**
-

2. Prueba de Oxidación-Fermentación (O/F)**Uso:** Determinar el tipo de metabolismo energético (respiratorio o fermentativo).**Composición:**

- 1000 ml agua destilada
- 15.0 g rojo de fenol
- 5.0 g glucosa o fructosa
- 3.0 g agar bacteriológico

- Mezcla de parafina y aceite mineral (1:1)

Procedimiento:

1. Preparar el medio con agar, rojo de fenol y sustrato.
2. Inocular dos tubos por cultivo.
3. Cubrir uno con la mezcla de aceite/parafina.
4. Incubar a 29°C por 24 horas.

Lectura:

- Ambos tubos amarillos: **Anaerobio facultativo**
 - Solo tubo abierto amarillo: **Aerobio estricto**
 - Sin cambio: **No metaboliza el sustrato**
-

3. Prueba de Citrato de Simmons

Uso Determinar si el microorganismo puede usar el citrato como única fuente de carbono.

Composición:

- 1000 ml agua destilada
- 22.0 g medio Citrato de Simmons

Procedimiento:

1. Disolver el medio en agua.
2. Llevar a ebullición.
3. Verter en tubos con rosca e inclinar para formar pico de flauta.
4. Esterilizar a 121°C por 15 minutos.

Lectura:

- Color azul: **Uso del citrato**
 - Color verde: **No utiliza citrato**
-

4. Pruebas de Enzimas Extracelulares

Todos los medios se preparan en matraces con tapón, se esterilizan a 121°C por 15 minutos, se enfrían y se vierten en cajas de Petri.

4.1 Amilasa

Uso: Hidrólisis de almidón a azúcares simples.

Composición:

- 1000 ml agua destilada
- 8.0 g caldo nutritivo
- 15.0 g agar
- 1.5 g almidón soluble
- 5.0 g NaCl

Lectura:

Agregar yodo-lugol sobre el cultivo. **Halo transparente alrededor del inóculo = positivo.**

4.2 Gelatinasa

Fundamento: Hidrólisis de gelatina en péptidos y aminoácidos.

Composición:

- 1000 ml agua destilada
- 8.0 g caldo nutritivo
- 15.0 g agar
- 4.0 g gelatina bacteriológica

Lectura:

Agregar HgCl. **Halo transparente alrededor del inóculo = positivo.**

4.3 Lipasa

Fundamento: Hidrólisis de triglicéridos.

Composición:

- 1000 ml agua destilada
- 8.0 g caldo nutritivo
- 15.0 g agar
- 10.0 ml Tween 80

Lectura: Cristales alrededor del inóculo = positivo. No requiere indicador.

4.4 ADNasa

Uso: Hidrólisis de ADN

Composición:

- 1000 ml agua destilada
- 42.0 g agar ADNasa

Lectura:

Agregar HCl. **Halo transparente alrededor del inóculo = positivo.**

5. Prueba de Hemólisis

Uso: Detectar hemolisinas que destruyen glóbulos rojos.

Contenido:

- 950 ml agua destilada
- 38.0 g medio Müller-Hinton
- 50.0 ml sangre

Procedimiento:

1. Disolver Müller-Hinton en agua.
2. Esterilizar a 121°C por 15 minutos.
3. Añadir la sangre y mezclar.
4. Verter en cajas de Petri.

Lectura:

- **Halo negro:** Hemólisis alfa
- **Halo transparente:** Hemólisis beta
→ Ambos indican resultado positivo.

Anexo 4
(Carballo-Cruz, 1985)

Índice Medio de Utilización del sustrato (I.M.U.).

Este índice es empleado para calcular el “promedio de utilización de sustrato de una familia de sustratos o del total de sustratos ocupados por un probados de cepas” (Carballo, 1985).

$$IMU = \sum P/N$$

Donde:

P= Porcentaje de utilización de cada uno de los sustratos.

N=Número total de sustratos probados de cada familia química.

Índice Medio de producción de Enzimas (I.M.E.)

Este índice es empleado para calcular la producción de enzimas exocelulares, donde se mide la “capacidad de producirlas por un grupo de cepas que participan en la degradación de todos los sustratos” (Carballo-Cruz, 1985).

$$IME = Pe/Ne$$

Donde:

Pe=Porcentaje positivos de las exoenzimas.

Ne=Número total de exoenzimas ensayadas.

10. VISTO BUENO DE LAS ASESORAS DE SERVICIO SOCIAL

Dra. María Teresa Núñez Cardona
Laboratorio de Ecología Microbiana,
Departamento del Hombre y su Ambiente
Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco

M en C. A. Nancy Carolina Torres Corona
Laboratorio de Fisiología y Comportamiento Animal,
Departamento del Hombre y su Ambiente
Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco