

# Enfoque **multidisciplinario** de la investigación en **salud**

María Dolores Martínez Garduño  
Jessica Belen Rojas Espinoza  
*Coordinadoras*



# Enfoque multidisciplinario de la investigación en salud

María Dolores Martínez Garduño

Jessica Belen Rojas Espinoza

*Coordinadoras*



**Universidad Autónoma  
del Estado de México**

Doctor en Ciencias e Ingeniería Ambientales  
Carlos Eduardo Barrera Díaz  
*Rector*

Doctora en Ciencias Sociales  
Martha Patricia Zarza Delgado  
*Secretaria de Investigación y Estudios Avanzados*

Doctora en Alta Dirección  
Gloria Ángeles Ávila  
*Directora de la Facultad de Enfermería y Obstetricia*

Maestra en Administración  
Susana García Hernández  
*Directora de Difusión y Promoción  
de la Investigación y los Estudios Avanzados*

# Enfoque multidisciplinario de la investigación en salud

María Dolores Martínez Garduño  
Jessica Belen Rojas Espinoza

*Coordinadoras*

*Universidad Autónoma del Estado de México  
DC LEARNING S.A. DE C.V.*

México, 2023

*Enfoque multidisciplinario de la investigación en salud* / María Dolores Martínez Garduño, Jessica Belen Rojas Espinoza, coordinadoras.

1ª ed.

Toluca, Estado de México: Universidad Autónoma del Estado de México, 2023.  
414 p.: 17 x 23 cm.

Incluye referencias bibliográficas.

ISBN: 978-607-633-698-4 (PDF Universidad Autónoma del Estado de México)

ISBN 978-607-99472-3-1 (PDF DC Learning S.A. de C.V.)

1. Salud – Investigaciones -- Metodología.
2. Medicina--Investigaciones--Metodología.

I. Martínez Garduño, María Dolores, coord.

II. Rojas Espinoza, Jessica Belen, coord.

R850 .E54 2023

*Enfoque multidisciplinario de la investigación en salud*

María Dolores Martínez Garduño

Jessica Belen Rojas Espinoza

Coordinadoras

Libro sometido a sistema antiplagio y publicado con la previa revisión y aprobación de dos pares doble ciego externos. Expediente de obra número 336/06/2022, Dirección de Difusión y Promoción de la Investigación y los Estudios Avanzados, adscrita a la Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México. Cada uno de los capítulos de la obra fue revisado por dictaminadores expertos en las temáticas abordadas, los cuales fueron seleccionados por las coordinadoras, con el fin de garantizar que el contenido contara con la calidad científica multidisciplinaria.

Primera edición: 8 de septiembre de 2023

Serie: Doctorado en Ciencias de la Salud

D.R. © Universidad Autónoma del Estado de México

Instituto Literario núm. 100 Ote.

C.P. 50000, Toluca, Estado de México

[www.uaemex.mx](http://www.uaemex.mx)

D.R. © DC LEARNING S.A. DE C.V.

Francisco Petrarca 133 Int. 501

Polanco V sección, Ciudad de México

Tel. 55 68 02 88 91

ISBN 978-607-633-698-4 (PDF Universidad Autónoma del Estado de México)

ISBN 978-607-99472-3-1 (PDF DC Learning S.A. de C.V.)

Esta edición y sus características son propiedad de la Universidad Autónoma del Estado de México y de DC Learning S.A. de C.V.

El contenido de esta publicación es responsabilidad de los autores.



Esta obra queda sujeta a una licencia *Creative Commons* Atribución-No comercial-Sin derivadas 4.0 Internacional. Puede ser utilizada con fines educativos, informativos o culturales, ya que permite solo descargar sus obras y compartirlas, siempre y cuando den crédito, pero no pueden cambiarlas de forma alguna ni usarlas de manera comercial. Disponible para su descarga en acceso abierto en: [ri.uaemex.mx](http://ri.uaemex.mx)

Hecho en México

# CONTENIDO

PRÓLOGO .....	11
PRESENTACIÓN .....	15

## MEDICINA

### DETECCIÓN DE BACTERIAS HALOTOLERANTES POTENCIALMENTE DEGRADADORAS DE IBUPROFENO Y PARACETAMOL. PRUEBA RÁPIDA CUALITATIVA

<i>Lorna Catalina Can Ubando, Keila Isaac Olivé, Ángel Horacio Sandoval y Trujillo, Ninfa Ramírez Durán</i> .....	23
---	----

### CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA RETINOPATÍA DEL PREMATURO EN NACIDOS PRETÉRMINO SIN Y CON SÍNDROME DE DOWN EN EL HOSPITAL MATERNO-PERINATAL MÓNICA PRETELINI SÁENZ, EN EL PERÍODO 2017 A 2018

<i>Cristian Fabián Layton Tovar, Hugo Mendieta Zerón, Araceli Consuelo Hinojosa Juárez, Adriana Garduño Alanís, Luis Gilberto Pérez Chimal</i> .....	45
--	----

### SISTEMAS ELECTRO-ÓPTICOS PARA DIGITALIZACIÓN DE PELÍCULA RADIOCRÓMICA

<i>Gerardo Jiménez Avilés, Miguel Ángel Camacho López, Olivia Amanda García Garduño, Keila Isaac Olivé Elsa Yazmín León Marroquín</i> .....	61
---	----

### MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN PARA TEJIDOS TRASPLANTABLES

<i>Erick Ávila Navarro, Daniel Luna Zaragoza Ninfa Ramírez Durán, Keila Isaac Olivé</i> .....	83
---	----

### DESARROLLO DE UN MÉTODO RADIÓMICO PARA EL DIAGNÓSTICO DEL ESTADO DE SALUD DEL CORAZÓN A PARTIR DE IMÁGENES DE PROFUSIÓN MIOCÁRDICA

<i>Rafael Popoca Flores, Clara Leticia Santos Cuevas, Liliana Aranda Lara, Keila Isaac Olivé, Gerardo Julián Ramírez Nava</i> .....	107
---	-----

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL ESTRÉS CRÓNICO Y LA DIABETES SOBRE LA CAPTACIÓN MULTIORGÁNICA DE <sup>18</sup> F-FDG EN MODELO MURINO <i>Diana Córdoba Adaya, Eugenio Torres García, Luis Alberto Medina Velázquez, Keila Isaac Olivé, Rigoberto Oros Pantoja</i> .....	127
---	-----

## NUTRICIÓN

DETERMINANTES SOCIALES DE LA INACTIVIDAD FÍSICA Y COMPORTAMIENTO SEDENTARIO EN NIÑOS Y ADOLESCENTES: LO QUE DICE LA EVIDENCIA <i>Jessica Gordillo Granados, Roxana Valdés Ramos, Edna Judith Nava González, Patricia Tlatempa Sotelo, Alejandra Donají Benítez Arciniega</i> .....	145
--	-----

ASOCIACIÓN ENTRE DIETA, SOBREPESO-OBESIDAD Y DISLIPIDEMIAS EN NIÑAS Y NIÑOS MEXICANOS <i>Carmen Lilitiana Ceballos Juárez, Ivonne Vizcarra Bordi, Roxana Valdés Ramos, Adriana Zambrano Moreno, Alejandra Donají Benítez Arciniega</i> .....	177
--	-----

CORRELACIÓN ENTRE CONSUMO DE HIDRATOS DE CARBONO Y LÍPIDOS, CON PARÁMETROS OXIDANTES Y ANTIOXIDANTES EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 <i>Flor de María Cruz Estrada, Beatriz Eliana Martínez Carrillo, Ana Laura Guadarrama López, Ivonne Maciel Arciniega Martínez</i> .....	197
---	-----

## ODONTOLOGÍA

EFFECTO DE ENCLAVAMIENTO Y DEFORMACIÓN ELÁSTICA EN LA FRICCIÓN DE BRACKETS DE AUTOLIGADO Y BRACKETS DE LIGADO CONVENCIONAL: REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA DE LA LITERATURA <i>Pierre González Díaz, Ulises Velázquez Enríquez, Rogelio José Scougall Vilchis, Efraín Rubio Rosas</i> .....	235
--	-----

OBTENCIÓN DE RUGOSIDAD CON MICROSCOPIO DE FUERZA ATÓMICA DE RESINAS DE USO INDIRECTO EN ODONTOLOGÍA <i>Lizzeth Aguillón Sol, Rogelio José Scougall Vilchis, Laura Emma Rodríguez Vilchis, Carlo Eduardo Medina Solís</i> .....	249
--	-----

PREVALENCIA EN LA DISTRIBUCIÓN DE LAS LESIONES ORALES Y MAXILOFACIALES EN UNA POBLACIÓN MEXICANA <i>Nayeli Lovera Rojas, Edith Lara Carrillo, Víctor Hugo Toral Rizo, Brenda Yuliana Herrera Serna, Ulises Velázquez Enríquez, Antonio Hernández Morales</i> .....	265
--	-----

PAPEL DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA DE <i>PORPHYROMONAS</i> <i>GINGIVALIS</i> EN EL DESARROLLO Y EVOLUCIÓN DE ARTRITIS REUMATOIDE: REVISIÓN DE LA LITERATURA <i>Ma. Elena Ponce Díaz, Blanca Silvia González López, Norma Leticia Robles Bermeo,</i> <i>Carlo Eduardo Medina Solís, Carolina Sámano Valencia</i> .....	295
--	-----

PLASMA NO-TÉRMICO GENERADO A PRESIÓN ATMOSFÉRICA COMO PROMOTOR DE LA CURACIÓN POR SEGUNDA INTENCIÓN EN MUCOSA BUCAL <i>Norma Guadalupe Ibáñez Mancera, Víctor Hugo Toral Rizo, Edith Lara Carrillo,</i> <i>Régulo López Callejas, Rosendo Peña Eguiluz, Benjamín Gonzalo Rodríguez Méndez</i> .....	313
--	-----

REVISIÓN DE LA LITERATURA SOBRE LA CALIDAD DE VIDA Y EL ESTADO DE SALUD BUCAL EN ADOLESCENTES <i>Gabriel Canseco Prado, Blanca Silvia González López, Norma Leticia Robles Bermeo,</i> <i>Carlo Eduardo Medina Solís, América Patricia Pontigo Loyola</i> .....	337
--	-----

EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE DESÓRDENES TRAUMÁTICOS ACUMULATIVOS EN ESTUDIANTES DE ODONTOLOGÍA CON EL MÉTODO JOB STRAIN INDEX <i>Carolina Susel Villegas Vargas, José de Jesús Garduño García,</i> <i>Gabriel Gerardo Huitrón Bravo, Eneida del Socorro Camarillo Romero,</i> <i>María del Socorro Camarillo Romero</i> .....	357
---	-----

## PSICOLOGÍA

SALUD MASCULINA Y CALIDAD DE VIDA EN VARONES CON HEMOFILIA EN MÉXICO <i>Luis Horacio Aguiar Palacios, Norma Ivonne González Arratia López Fuentes,</i> <i>Ana Olivia Ruiz Martínez, Alejandra del Carmen Domínguez Espinosa,</i> <i>Joaquín Alberto Padilla Bautista</i> .....	369
---	-----

MODELOS TEÓRICOS PARA EL FOMENTO DE CONDUCTAS SEXUALES PREVENTIVAS DEL VIH: META-ANÁLISIS <i>Leopoldo Javier Díaz Arizmendi, Sergio González Escobar,</i> <i>Norma Ivonne González Arratia López Fuentes, Mirta Margarita Flores Galaz</i> .....	385
---	-----

CONCLUSIONES .....	401
--------------------	-----

# DETECCIÓN DE BACTERIAS HALOTOLERANTES POTENCIALMENTE DEGRADADORAS DE IBUPROFENO Y PARACETAMOL. PRUEBA RÁPIDA CUALITATIVA

*Lorna Catalina Can Ubando<sup>1</sup>, Keila Isaac Olivé<sup>2</sup>,  
Ángel Horacio Sandoval y Trujillo<sup>3</sup>, Ninfa Ramírez Durán<sup>4</sup>*

## Introducción

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) actúan como inhibidores de las isoformas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), con lo cual se inhibe la síntesis de prostaglandinas y, por tanto, la cascada de inflamación [1]. Existe variación en cuanto a la eliminación, vida media, rutas de administración y tolerancia de estos fármacos [2].

Debido a su uso y disposición, los AINES se han identificado como contaminantes emergentes [3]. Llegan a las aguas terrestres como resultado de tratamientos medicamentosos, técnicas de laboratorio clínico y actividades de investigación, así como de la excreción de la sustancia activa no metabolizada [4].

En México, de acuerdo con la NOM-073-ECOL-1994, los límites máximos permisibles de sólidos suspendidos totales provenientes de las descargas de aguas residuales al día son 150 mg/L para la industria farmacéutica y 250 mg/L para la industria farmoquímica [5]. No se especifica la concentración de AINES permitida bajo estas condiciones. Estos contaminantes requieren especial atención, ya que pueden ser tóxicos para los seres humanos, exhiben ecotoxicidad a bajas concentraciones y se encuentran principalmente en aguas residuales, superficiales y subterráneas [6].

<sup>1</sup>Estudiante del Doctorado en Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias de la Conducta, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. (ORCID: 0000-0002-3918-3348).

<sup>2</sup>Laboratorio de Investigación en Teranóstica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. (ORCID: 0000-0003-4388-3811).

<sup>3</sup>Laboratorio de Producción de Biológicos. Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México, México. (ORCID: 0000-0002-7 762-1775).

<sup>4</sup>Laboratorio de Investigación en Microbiología Médica y Ambiental, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. (ORCID: 0000-0003-3108-895X).

Uno de los AINES más utilizados es el ibuprofeno, tiene alta biodisponibilidad y se metaboliza en el hígado [7]. Entre sus efectos adversos destacan las reacciones anafilácticas, problemas gastrointestinales, trombocitopenia, erupciones cutáneas, cefalea y edema [8]. Por otro lado, el paracetamol se concentra principalmente en el hígado, el tracto gastrointestinal y los riñones [9]; en grandes cantidades, puede producir daño hepatocelular y necrosis tubular renal [10]. Es necesario plantear estrategias viables y efectivas para la remoción de estos contaminantes en los ecosistemas [11].

La biodegradación de AINES es un proceso de oxidación. Los métodos colorimétricos para la detección de reacciones de oxidación se basan en la reducción de un indicador redox que cambia de color; la oxidación es detectada por este cambio [12], lo que los convierte en la mejor opción como ensayos rápidos para la detección de la oxidación de AINES.

En este trabajo, se implementó una prueba rápida cualitativa para la detección de bacterias halotolerantes potencialmente degradadoras de ibuprofeno y paracetamol, utilizando 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP) y cristal violeta (CV) como indicadores de óxido-reducción.

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio de tipo experimental cualitativo de muestras y controles. El método de muestreo utilizado fue por conveniencia en una población de bacterias halotolerantes y se seleccionaron a las que mostraron ser potencialmente degradadoras de AINES.

Dentro de los aspectos éticos, se tomaron en cuenta las bases tratadas en el Convenio sobre la Diversidad Biológica de las Naciones Unidas, firmado en Río de Janeiro en 1992, el cual tiene como objetivo la conservación de la diversidad biológica, el uso sostenible de sus componentes y el reparto justo y equitativo de los beneficios derivados de la utilización de recursos genéticos.

## Procedimientos

### *Reactivación de cepas*

Se utilizaron las cepas de bacterias halotolerantes aisladas de dos ambientes hipersalinos en México: suelo salino del Ex Lago de Texcoco, en el Estado de

México, y sedimento salino de la Laguna el Rosario en Oaxaca. Las cepas fueron resembradas en los medios de cultivo tanto sólidos como líquidos. A las cepas reactivadas se les realizó la tinción de Gram para observar su morfología microscópica.

Para la reactivación de las cepas se utilizaron cuatro diferentes medios de cultivo:

- Medio para bacterias halófilas moderadas (MH) [13]: contiene 10 g/L de extracto de levadura, 5 g/L de proteosa peptona, 1 g/L de dextrosa y 18 g/L de agar; los componentes del medio fueron disueltos en una solución de NaCl al 5% (cantidad suficiente para un litro).
- Medio Sauton-UAM [14]: contiene 4 g/L de asparagina, 2 g/L de ácido cítrico, 0.5 g/L de  $K_2HPO_4$ , 0.5 g/L de  $MgSO_4$ , 0.05 g/L de citrato férrico amoniacal, 0.1 g/L de  $ZnSO_4$ , 0.5 g/L de  $CaCl_2$ , 0.1 g/L de  $CuSO_4$ , 10 g/L de hojuelas de papa, 60 g/L de glicerol, 5 g/L de carbón activado, 0.1 g/L de cicloheximida, 0.05 g/L de estreptomina, 0.05 g/L de eritromicina, 0.05 g/L de kanamicina y 18 g/L de agar; los componentes del medio fueron disueltos en una solución de NaCl al 5% (cantidad suficiente para un litro).
- Medio Czapek (Becton Dickinson, No. de catálogo: 211776): se resuspenden 50 g del medio deshidratado por cada litro de solución de NaCl al 5%.
- Medio BHI (Becton Dickinson, No. de catálogo: 211200): se resuspenden 37 g del medio deshidratado por cada litro de solución de NaCl al 5%.

Los medios fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 minutos; posteriormente, se dejaron enfriar a 45 °C y se vertieron en cajas Petri estériles.

*Caracterización fisiológica: determinación de la concentración de NaCl para el crecimiento óptimo de las cepas aisladas*

El rango y la concentración de NaCl óptimo para el crecimiento de las cepas se determinó sembrando cada cepa en el medio de cultivo MH, a diferentes concentraciones de NaCl (0, 0.5, 3, 5, 10, 15, 20, 25 y 30%) a pH de 7. La siembra se realizó por estría y se incubaron a 37 °C.

*Determinación del valor de pH para el crecimiento óptimo de las cepas aisladas*

El rango y pH óptimo para el crecimiento de las cepas se determinó sembrando cada cepa en el medio de cultivo MH, ajustando la concentración de NaCl de

acuerdo con el crecimiento óptimo (previamente determinado). El pH se ajustó a los valores de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12. Se inoculó por estría y se incubó a 37 °C.

#### *Interpretación de pruebas fisiológicas*

El crecimiento fue observado diariamente durante 10 días y se interpretó como (-) cuando fue nulo, (+) cuando fue muy escaso, (++) cuando fue escaso, (+++) cuando fue moderado y (++++) cuando fue óptimo.

#### *Prueba rápida cualitativa de biodegradación de AINES: preparación de las muestras*

Las bacterias halotolerantes reactivadas se inocularon en medio líquido MH suplementado con NaCl y ajustado al pH de óptimo crecimiento de cada cepa (previamente determinados). Se incubaron a 37 °C durante 7 días; por otro lado, se prepararon soluciones de 100 mL a una concentración de 1000 ppm de AINES (ibuprofeno y paracetamol), 2,6-diclorofenol-indofenol (DCPIP) y cristal violeta (CV). Posteriormente, un inóculo de 200  $\mu$ L del cultivo bacteriano, equivalente a  $6 \times 10^7$  células (tubo 3 de la escala McFarland), se transfirió a un tubo con tapa de rosca que contenía 25  $\mu$ L de la solución de ibuprofeno o paracetamol y 100  $\mu$ L de la solución de DCPIP. El volumen final se ajustó a 5 mL con Medio Mínimo de Sales (MSM) [15], el cual contiene  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 1000mg/L;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 800mg/L;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 200mg/L;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 200mg/L;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 100mg/L;  $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 5mg/L;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 1mg/L, suplementado con NaCl y ajustado al pH óptimo para el crecimiento de cada cepa. De esta manera, la concentración final de cada AINES fue de 5ppm y la del DCPIP de 20 ppm. En el caso del CV, el volumen de indicador añadido fue de 25  $\mu$ L para obtener una concentración final de 5 ppm. Finalmente, las muestras estuvieron constituidas por el inóculo bacteriano, los AINES como fuente de carbono y el indicador.

Para determinar la sensibilidad de los indicadores de óxido reducción evaluados, se construyó una curva de calibración para cada uno.

#### *Preparación de controles*

*Control-1.* Contenía 100  $\mu$ L de la solución de DCPIP o 25  $\mu$ L de CV; se llevó a volumen de 5 mL con MSM suplementado con NaCl y ajustado al pH óptimo para el crecimiento de cada cepa.

*Control-2.* Se preparó con 25  $\mu\text{L}$  de la solución de AINES (ibuprofeno o paracetamol) y 100  $\mu\text{L}$  de la solución de DCPIP o 25  $\mu\text{L}$  de CV; se llevó a volumen de 5 mL con MSM suplementado con NaCl y ajustado al pH óptimo para el crecimiento de cada cepa.

*Control-3.* Contenía 200  $\mu\text{L}$  del cultivo bacteriano, equivalente a  $6 \times 10^7$  células y 100  $\mu\text{L}$  de la solución de DCPIP o 25  $\mu\text{L}$  de CV; se llevó a volumen de 5 mL con MSM suplementado con NaCl y ajustado al pH óptimo de cada cepa.

### *Interpretación*

La presencia de los indicadores tornó a cultivos y controles de color azul, en el caso de DCPIP, y morado con el CV. Cada muestra de cultivo y sus controles se prepararon por triplicado y se sometieron a incubación a 37 °C durante 5 días (120 h). Las muestras y controles fueron centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos. Los sobrenadantes de todas las muestras y controles fueron medidos a las 0 h y 120 h en un espectrofotómetro Biotech® marca EPOCH a la longitud de onda correspondiente, de acuerdo con el indicador utilizado (600 nm para DCPIP [16] y 590 nm para CV [17]). La disminución en la intensidad del color de las muestras con respecto a los controles, indica preliminarmente un resultado positivo a la prueba cualitativa de biodegradación.

Se utilizaron 3 criterios para la selección de las cepas: para el primer criterio se compararon las relaciones de absorbancias de las muestras y el control-1 (solución del indicador) a las 0 y 120 horas de incubación, con la finalidad de asegurar que el indicador no cambiara de color por las condiciones ambientales. Se hizo lo mismo en el segundo criterio, salvo que esta vez se utilizó el control-2 (solución del indicador con ibuprofeno o paracetamol) para descartar que el AINES reaccionara con el indicador, dando un resultado falso positivo. Las cepas que mostraron diferencias, entre las muestras y los controles 1 y 2 a las 120 h, se sometieron al tercer criterio, en el cual se compararon las relaciones de absorbancia entre las muestras y el control-3 (solución del indicador con la cepa bacteriana) a las 0 y 120 horas de incubación, este criterio garantizó que la bacteria estaba usando el AINES, y no al indicador, como fuente de carbono. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Las cepas potencialmente degradadoras son aquellas que cumplieron los 3 criterios evaluados. Se considera que una muestra es diferente a un control cuando la  $p$  obtenida en la prueba de comparación de medias de t-student es menor a 0.05.

### *Cinética de crecimiento en Medio Mínimo de Sales*

Para determinar la cinética de crecimiento de las bacterias halotolerantes que demostraron ser potencialmente degradadoras de al menos uno de los AINES a los que se expusieron, se utilizó el Medio Mínimo de Sales (MSM). Se realizaron dos cinéticas de crecimiento para cada cepa, utilizando diferentes fuentes de carbono.

Para la primera cinética, se transfirió un inóculo equivalente a  $6 \times 10^7$  células/mL de cada una de las cepas, con capacidad degradadora a un tubo que contenía 10 mL del medio de cultivo MSM, con las características fisicoquímicas de NaCl y pH óptimas para cada cepa (previamente determinadas). Como única fuente de carbono se utilizó glucosa a una concentración de 10 ppm. Los matraces se mantuvieron en una incubadora a 37 °C. El crecimiento microbiano se determinó midiendo su densidad óptica a 600 nm [18] en un espectrofotómetro marca Biotek® modelo EPOCH. Las lecturas de densidad óptica fueron tomadas desde las 0 horas hasta alcanzar la fase estacionaria de cada una de las cepas.

Por otro lado, la segunda cinética de crecimiento de las bacterias se midió utilizando el antiinflamatorio que potencialmente es capaz de degradar como única fuente de carbono (resultado de la prueba cualitativa). Se transfirió un inóculo equivalente a  $6 \times 10^7$  células/mL a un tubo que contenía 10 mL de Medio Mínimo de Sales con las características fisicoquímicas de NaCl y pH óptimas para cada cepa y 10 ppm del AINES a probar (ibuprofeno o paracetamol). Los cultivos bacterianos se incubaron a 37 °C y todos los experimentos se realizaron por triplicado.

## Resultados

### *Reactivación de cepas y caracterización fisiológica*

Se reactivaron setenta y cuatro cepas de bacterias halotolerantes provenientes de muestras de agua, suelo y sedimento de ambientes hipersalinos de México.

De las muestras de agua se obtuvieron seis cepas a las que se les asignaron las claves HA (dos cepas), ICA (una cepa), SFA (una cepa) y UT (dos cepas). Por otro lado, cuatro cepas provenían de las muestras de sedimento y sus claves fueron ESE (dos cepas) y COSE (dos cepas). Por último, sesenta y cuatro cepas

pertencieron a las muestras de suelo, LRS (ocho cepas), HS (tres cepas), IAS (una cepa), ICS (una cepa), LB (tres cepas), SOSSI (tres cepas), SFS (una cepa) y TX (cuarenta y cuatro cepas).

La morfología microscópica de todas las cepas se describe como bacilos largos filamentosos Gram positivos.

Tras realizar la caracterización fisiológica, todas las cepas resultaron ser halotolerantes débiles (rango de crecimiento de 0% – 15% NaCl) [19]. Los crecimientos óptimos fueron a 0% (cuatro cepas), 0.5% (cuatro cepas), 3% (cinco cepas), 5% (cuarenta y cinco cepas) y 10% (dieciséis cepas). Por otro lado, trece cepas tuvieron un crecimiento óptimo a pH 9 y ocho cepas a pH 10, por lo que se consideran alcalófilas [20]. Además, tres cepas tuvieron crecimiento óptimo a pH 6, veinticinco cepas a pH 7 y otras veinticinco cepas a pH 8.

#### *Pruebas cualitativas de degradación*

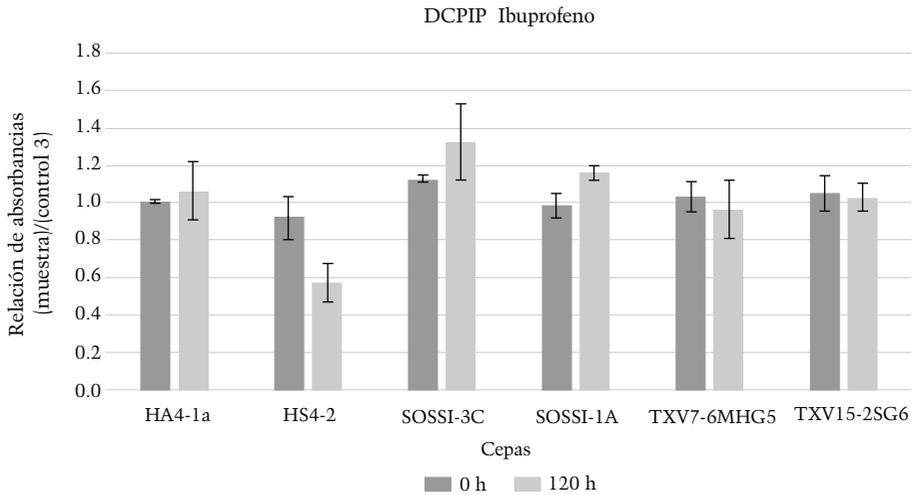
De las setenta y cuatro cepas reactivadas, las que mostraron un resultado positivo a los tres criterios de las pruebas cualitativas, se consideraron potencialmente degradadoras de AINES. El DCPIP detectó una cepa degradadora de ibuprofeno y ninguna de paracetamol. Por su parte, el CV detectó dos cepas degradadoras de ibuprofeno y dos de paracetamol, aunque estas cepas no coinciden.

Una posible razón por la que el CV detectó un mayor número de cepas degradadoras que el DCPIP, es porque el CV es más sensible que el DCPIP. A partir de curvas de calibración construidas con estos dos indicadores se demostró que el CV ( $y = 0.0993x + 0.0281$ ,  $r^2 = 0.9945$ ) es tres veces más sensible que el DCPIP ( $y = 0.0324x + 0.0029$ ,  $r^2 = 0.9972$ ).

#### *Cepas potencialmente degradadoras de ibuprofeno*

De las setenta y cuatro cepas, solo seis de ellas mostraron un decremento en la coloración del DCPIP según el primer criterio (control-1), estas fueron: HA4-1a, HS4-2, SOSSI-3C, SOSSI-1a, TXV7-6MHG5 y TXV15-2SG6. Estas mismas cepas cumplieron el segundo criterio (control-2), pero solo una cepa cumplió el tercer criterio (HS4-2). La positividad de las cepas a los criterios 1 y 2, indicó que las mismas consumen tanto al AINES como al indicador. Solo la positividad al criterio 3 indicó que solamente consumen AINES. Los resultados del criterio 3 se muestran en la Figura 1.

Figura 1. Relación de absorbancias muestra/control-3 a las 0 y 120 horas (n = 3), utilizando DCPIP como indicador e ibuprofeno como única fuente de carbono



Elaboración propia.

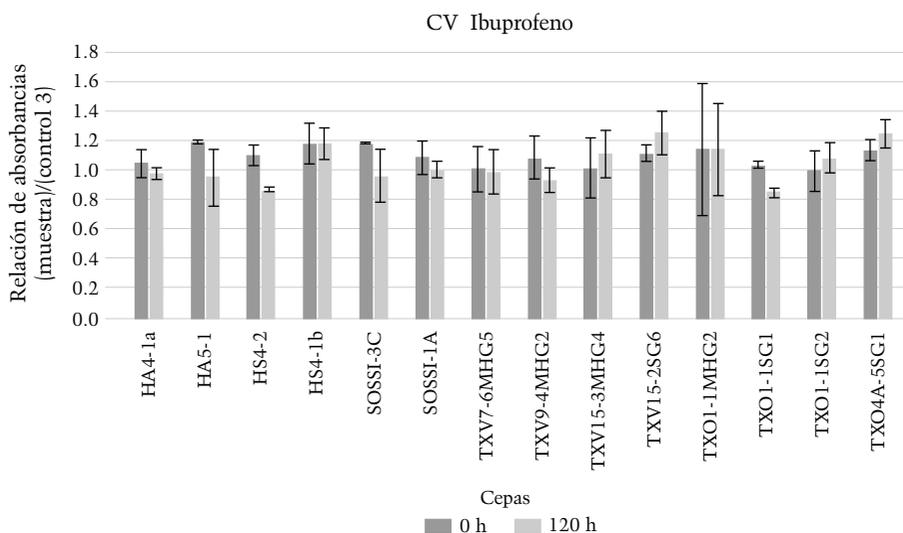
La figura muestra que la relación de las absorbancias a las 0 h de todas las muestras con respecto al control-3, oscila alrededor de 1 (barra de la izquierda de cada cepa). No hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre las muestras a este tiempo. Esto significa que muestras y controles parten de la misma cantidad de indicador (igual absorbancia).

La relación de las absorbancias a las 120 h de todas las muestras con respecto al control-3 (barra de la derecha de cada cepa) no difirió significativamente de las 0 h en todas las cepas, excepto en la HS4-2. La disminución de la barra en esta cepa indicó que la absorbancia de la muestra para ese tiempo es menor que la del control-3, la única diferencia en la composición de la muestra y el control-3 es la presencia del AINES; por tanto, la disminución de la absorbancia indica presencia de reacción redox y consumo del AINES por la cepa. De esta forma, la cepa HS4-2 dio un resultado positivo a la prueba con DCPIP, por lo que se consideró potencialmente degradadora de ibuprofeno.

En el caso del indicador CV, catorce cepas cumplieron los dos primeros criterios de selección, al mostrar un decremento en la coloración con respecto a los controles-1 y 2 (HA4-1a, HA5-1, HS4-2, HS4-1b, SOSSI-3C, SOSSI-1A, TXV7-6MHG5, TXV9-4MHG2, TXV15-3MHG4, TXV15-2SG6, TXO1-1MHG2,

TXO1-1SG1, TXO1-1SG2 y TXO4A-5SG1); solo dos de ellas cumplieron el tercer criterio (control 3) y fueron seleccionadas como potencialmente degradadoras de ibuprofeno (HS4-2 y TXO1-1SG1). Los resultados del criterio 3 se muestran en la Figura 2.

Figura 2. Relación de absorbancias muestra/control-3 a las 0 y 120 horas (n = 3) utilizando cv como indicador e ibuprofeno como única fuente de carbono



Elaboración propia.

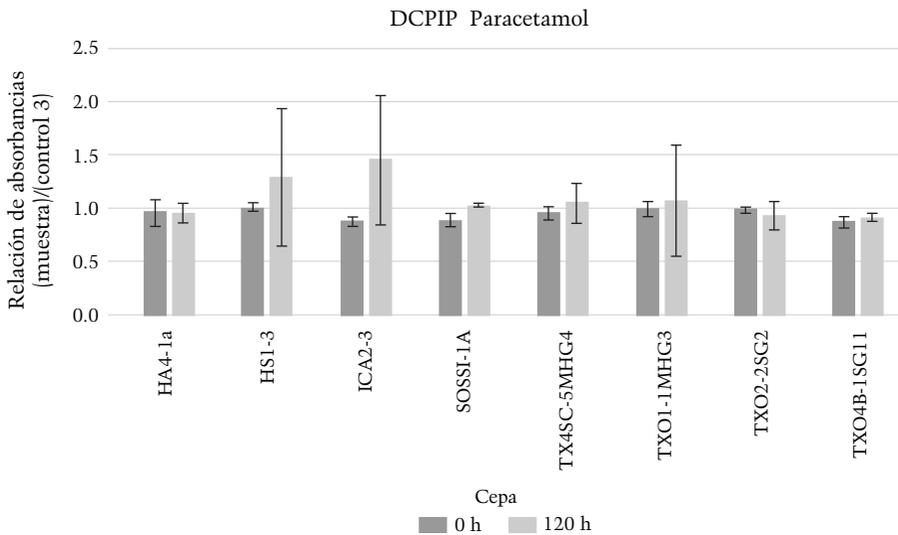
La figura muestra, al igual que en el caso anterior, que a las 0 h la relación de las absorbancias de todas las muestras con respecto al control-3 oscila alrededor de 1, y que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre las muestras. A las 120 h encontramos una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de la absorbancia en las cepas HS4-2 y TXO1-1SG1, lo que indica que ambas son potencialmente degradadoras de ibuprofeno. La cepa HS4-2 mostró un resultado positivo con ambos indicadores.

Las características fisiológicas de dichas cepas fueron similares. Ambas tienen un rango de tolerancia de 0 – 10% NaCl (crecimiento óptimo de 0% y 5% respectivamente), considerándose así halotolerantes débiles. Asimismo, el rango de tolerancia de pH fue de 7 – 10 (crecimiento óptimo de 8 y 7, respectivamente).

*Cepas potencialmente degradadoras de paracetamol*

Al utilizar el indicador de óxido reducción DCPIP, se descartaron sesenta y seis cepas, ya que solo ocho cepas mostraron un decremento en la coloración en el primer y segundo criterio; dichas cepas tienen las claves HA4-1A, HS1-3, ICA2-3, SOSSI-1A, TX4SC-5MHG4, TXO1-1MHG3, TXO2-2SG2 y TXO4B-1SG11. Ninguna de estas cepas resultó positiva al tercer criterio. Los resultados de la evaluación del tercer criterio se muestran en la Figura 3.

Figura 3. Relación de absorbancias muestra/control-3 a las 0 y 120 horas (n = 3) utilizando DCPIP como indicador y paracetamol como fuente de carbono



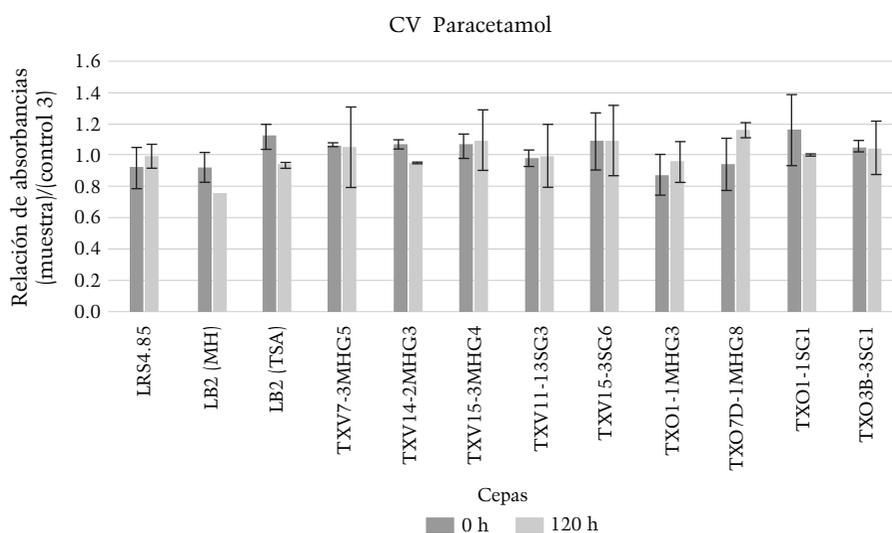
Elaboración propia.

En la figura 3 se puede apreciar, como en los casos anteriores, que a las 0 h no hay diferencia entre las absorbancias de muestras y controles, ya que en todos los casos oscila en 1. Sin embargo, no existen diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las absorbancias de las muestras y los controles después de las 120 horas de incubación, por lo que estas cepas tienen un resultado negativo a la prueba de degradación de paracetamol.

En el caso del indicador CV, doce de las setenta y cuatro cepas cumplieron los dos primeros criterios (LRS4.85, LB2 (MH), LB2 (TSA), TXV7-3MHG5,

TXV14-2MHG3, TXV15-3MHG4, TXV11-13SG3, TXV15-3SG6, TXO1-1MHG3, TXO7D-1MHG8, TXO1-1SG1 y TXO3B-3SG1); de las cuales solo dos obtuvieron un resultado positivo tras el tercer criterio, la LB2 (MH) y la LB2 (TSA), por lo que se consideraron potencialmente degradadoras de paracetamol. Los resultados se muestran en la Figura 4.

Figura 4. Relación de absorbancias muestra/control-3 a las 0 y 120 horas (n = 3) utilizando CV como indicador y paracetamol como única fuente de carbono



Elaboración propia.

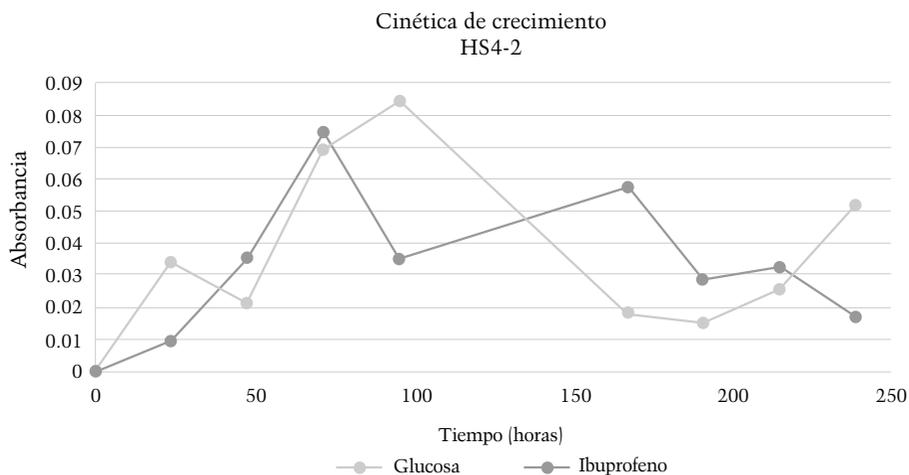
Siguiendo el mismo análisis hecho en los casos anteriores, la Figura 4 muestra a las cepas LB2 (MH) y LB2 (TSA) como potencialmente degradadoras de paracetamol, al obtener un resultado positivo a la prueba cualitativa con CV como indicador. Estas cepas, al igual que las anteriores, son halotolerantes débiles (rango de tolerancia de 0 – 10% NaCl), con un crecimiento óptimo de 5% y 10%, respectivamente. El rango de crecimiento de pH fue de 7 – 10, con un crecimiento óptimo a pH 8 para ambas cepas.

*Cinética de crecimiento en Medio Mínimo de Sales*

A las cuatro cepas que resultaron positivas a la degradación de algún AINES se les determinó su cinética de crecimiento utilizando glucosa e ibuprofeno o paracetamol, como única fuente de carbono.

En las Figuras 5 y 6 se observa la tendencia en la cinética de crecimiento de las cepas potencialmente degradadoras de ibuprofeno.

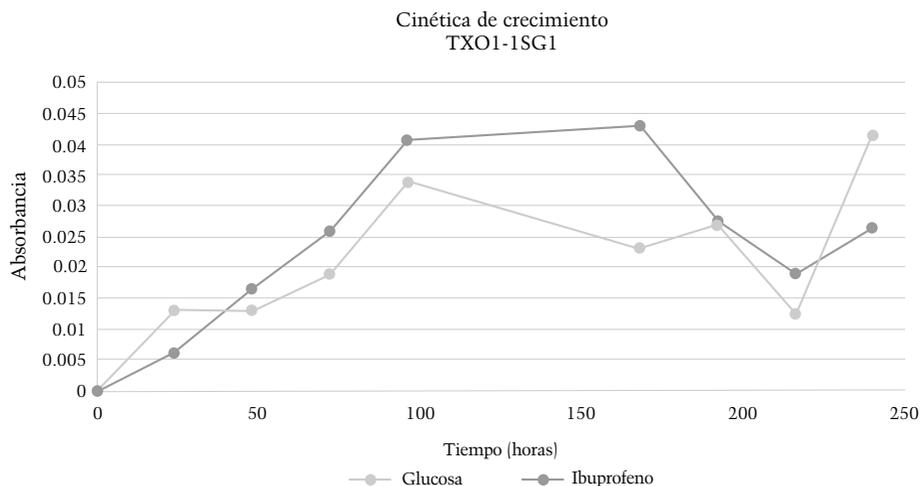
Figura 5. Cinética de crecimiento de la cepa HS4-2 utilizando glucosa e ibuprofeno como única fuente de carbono



Elaboración propia.

La cepa HS4-2 tiene alta tolerancia al ibuprofeno, ya que la diferencia entre las curvas de crecimiento con cada fuente de carbono es mínima.

Figura 6. Cinética de crecimiento de la cepa TXO1-1SG1 utilizando glucosa e ibuprofeno como única fuente de carbono

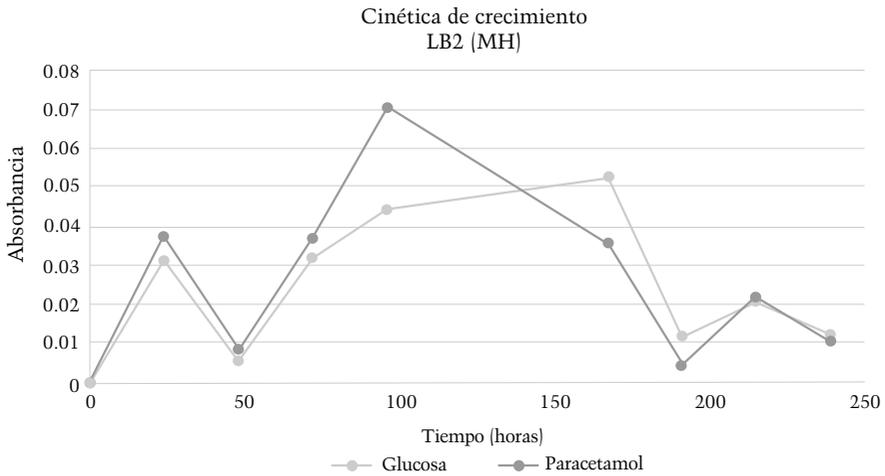


Elaboración propia.

La cepa TXO1-1SG1 también presenta una tendencia de crecimiento similar al utilizar ambas fuentes de carbono; esto, aunado a las pruebas cualitativas de degradación, refuerza la especulación respecto a su potencial biodegradador de ibuprofeno.

Las cepas LB2 (MH) y LB2 (TSA) fueron probadas con paracetamol. Las Figuras 7 y 8 muestran la comparación entre las fuentes de carbono a las que se sometieron las cepas, el anti-inflamatorio y la glucosa.

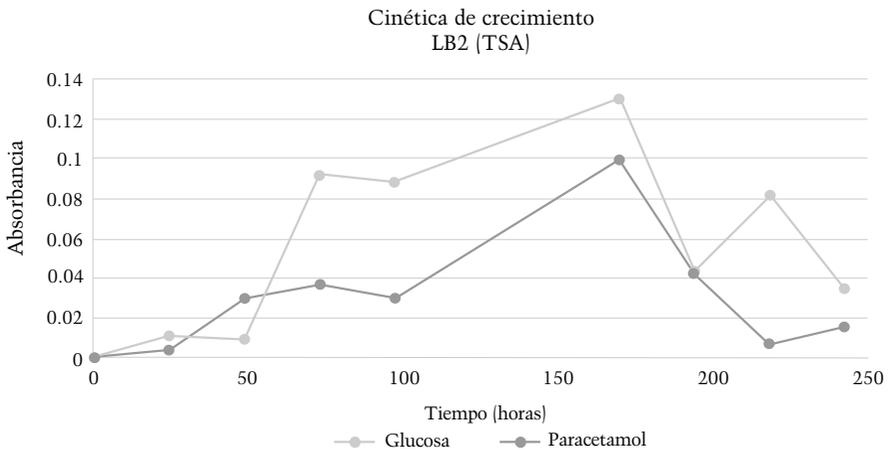
Figura 7. Cinética de crecimiento de la cepa LB2 (MH) utilizando glucosa y paracetamol como única fuente de carbono



Elaboración propia.

La tendencia de crecimiento de la cepa es similar con ambas fuentes de carbono, lo que indica que es capaz de utilizar al paracetamol en su ciclo biológico.

Figura 8. Cinética de crecimiento de la cepa LB2 (TSA) utilizando glucosa y paracetamol como única fuente de carbono



Elaboración propia.

Por otro lado, el crecimiento de la cepa LB2 (TSA) se ve ligeramente disminuido al utilizar paracetamol como única fuente de carbono; sin embargo, es evidente su tolerancia al AINES.

### *Discusión*

Se debe observar de cerca el uso indiscriminado de ibuprofeno y paracetamol, así como la mala disposición que se le da a estos fármacos, ya que provocan ecotoxicidad al bioacumularse en los organismos, causando daño hepático principalmente.

La biorremediación de zonas afectadas por estos AINES se puede llevar a cabo con bacterias y, entre estas, las bacterias halotolerantes son capaces de adaptarse a diferentes concentraciones de sal en el ambiente. Estas características las hacen adecuadas para el tratamiento de diferentes ecosistemas contaminados con AINES.

La ruta de degradación de los AINES se lleva a cabo a través de reacciones de oxidación [21-24], que pueden ser fácilmente detectadas con el uso de indicadores aceptores de electrones, como el 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP) y el cristal violeta (CV).

El DCPIP ha sido utilizado como indicador de óxido reducción en la degradación de hidrocarburos [25, 26], así como en la detección de peróxido de hidrógeno [27] y hemoglobina E [28]. La reacción se observa por el cambio de color en el medio, de azul a incoloro [29]. Por otro lado, el CV se utiliza en la tinción de Gram para diferenciar la pared celular de las bacterias [30], la determinación de viabilidad en cultivos celulares [31] y la tinción de proteínas en SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico) y zimogramas [32]. En el caso del CV, el medio cambia de violeta a incoloro [33].

Al exponer a las bacterias al ibuprofeno o paracetamol como única fuente de carbono, significa que la oxidación ocurrida en el indicador es resultado de la degradación de los fármacos. Debido a los controles que se utilizaron en las pruebas cualitativas, podemos inferir que: (i) el indicador no se oxida por sí solo en las condiciones a las que estuvo expuesto, ya que el control-1 (solución del indicador) no cambió de color entre las 0 y 120 h; (ii) los fármacos no inducen reacciones de oxidación en el indicador, ya que el control-2 (solución de indicador y AINES) no cambió de color entre las 0 y 120 h; (iii) las cepas seleccionadas como potencialmente degradadoras de AINES no degradan al indicador, ya que

el control-3 (solución de inóculo e indicador) no cambió de color entre las 0 y 120 h, o la muestra cambió de color en ese tiempo más de lo que lo hizo el control-3.

La cinética de crecimiento bacteriano se ve afectada por diversos factores tales como la temperatura [34], la relación de área de superficie líquida/volumen [35], así como la cantidad y tipo de sustrato en el medio [36] o la presencia de metales pesados en el medio [37].

La cinética de crecimiento que presentan las cepas potencialmente degradadoras de paracetamol se ve afectada al utilizar el fármaco o la glucosa como fuente de carbono. La cepa LB2 (TSA) decremента su crecimiento al utilizar el paracetamol en comparación con la glucosa; por otro lado, la cepa LB2 (MH) presenta un crecimiento similar en ambos casos. Ambas cepas son tolerantes al paracetamol.

En el caso de las cepas potencialmente degradadoras de ibuprofeno, HS4-2 y TXO1-1SG1, presentan una cinética de crecimiento similar utilizando ambas fuentes de carbono, lo que indica una alta tolerancia al ibuprofeno.

El crecimiento de cada cepa, en las diferentes condiciones a las que se expusieron, depende de la expresión de genes [38] de cada una, conjuntamente con el recurso proteómico para el transporte de sustrato y su costo enzimático [39].

Se han encontrado registros de la biodegradación de ibuprofeno por consorcios bacterianos [40] y por una cepa bacteriana del género *Variovorax* [41]. En cuanto a la biodegradación del paracetamol, se han identificado bacterias del género *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Bacillus* [42, 43].

## Conclusiones

El indicador de óxido-reducción CV, resultó tener mayor eficiencia como prueba rápida para localizar cepas bacterianas potencialmente degradadoras de ibuprofeno y paracetamol, en comparación al DCPIP. De las setenta y cuatro cepas probadas, solo dos de ellas obtuvieron un decremento significativo de la coloración de los indicadores, al utilizar ibuprofeno como única fuente de carbono (HS4-2 y TXO1-1SG1). Asimismo, dos cepas dieron un resultado positivo en la prueba con paracetamol (LB2 (MH) y LB2 (TSA)).

Las cuatro cepas con potencial degradador de AINES fueron aisladas de suelos salinos de México y caracterizadas como halotolerantes débiles. Adicionalmente, la cinética de crecimiento confirma que las cepas bacterianas seleccionadas con

las pruebas cualitativas son capaces de utilizar ibuprofeno o paracetamol como única fuente de carbono.

La prueba rápida cualitativa resultó útil en la detección de bacterias potencialmente degradadoras de ibuprofeno y paracetamol. El siguiente paso es realizar la identificación y el análisis de los productos de degradación de los fármacos, así como la identificación genética de las cepas que demuestren ser capaces de biodegradar AINES.<sup>5</sup>

### Fuentes de información

1. Mezzelani M, Gorbi S, Da Ros Z, Fattorini D, d'Errico G, Milan M *et al.* Ecotoxicological potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in marine organisms: Bioavailability, biomarkers and natural occurrence in *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Environmental Research* [Internet]. 2016, 1-9. Disponible en: DOI: 10.1016/j.marenvres.2016.03.005
2. Haley RM, von Recum HA. Localized and targeted delivery of NSAIDs for treatment of inflammation: A review. *Experimental Biology and Medicine* [Internet]. 2018, 0: 1-12. Disponible en: DOI: 10.1177/1535370218787770
3. Geissena V, Molb H, Klumpp E, Umlauf G, Nadale M, van der Ploega M *et al.* Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research* [Internet]. 2015, 3: 57-65. Disponible en: DOI: 10.1016/j.iswcr.2015.03.002
4. Verlicchi P, Galletti A, Petrovic M, Barceló D. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology* [Internet]. 2010, 389: 416-428. Disponible en: DOI: 10.1016/j.jhydrol.2010.06.005
5. Norma Oficial Mexicana. NOM-073-ECOL-1994: Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de las industrias farmacéutica y farmoquímica. En: *Diario Oficial de la Federación*, 1995.
6. Voloshenko-Rossin A, Gasser G, Cohen K, Gun J, Cumbal-Flores L, Parra Morales W *et al.* Emerging pollutants in the Esmeraldas watershed in Ecuador: discharge and attenuation of emerging organic pollutants along the San

<sup>5</sup>Este capítulo se fundamenta en la tesis *Capacidad de degradación antiinflamatorios no esteroideos por bacterias*, la cual se publicó en noviembre del 2021. Se encuentra disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/112602/Tesis%20DCS%20LCCU-%20correcto.pdf?isAllowed=y&sequence=4>

- Pedro– Guayllabamba–Esmeraldas rivers. *Environmental Science Processes & Impacts* [Internet]. 2015, 17: 41-53. Disponible en: DOI: 10.1039/c4em00394b
7. Shin D, Lee SJ, Ha Y-M, Choi Y-S, Kim J-W, Park S-R *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation according to absorption differences in three formulations of ibuprofen. *Drug Design, Development and Therapy* [Internet]. 2017, 11: 135 - 141. Disponible en: DOI: 10.2147/DDDT.S121633
  8. Uriarte V, Trejo S. *Farmacología Clínica*, vol. 1, Trillas, 2003.
  9. Rainsford KD. *Aspirin and Related Drugs*, vol. 1, USA: Taylor and Francis, 2004.
  10. Bennet N, Brown MJ, Sharma P. *Clinical Pharmacology*, 11 ed. China: Elsevier, 2012.
  11. Bilal M, Rasheed T, Iqbal HMN, Yan Y. Peroxidases-assisted removal of environmentally-related hazardous pollutants with reference to the reaction mechanisms of industrial dyes. *Science of the Total Environment* [Internet]. 2018, 644: 1-13. Disponible en: DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.274
  12. Martin A, Portaels F, Palomino JC. Colorimetric redox-indicator methods for the rapid detection of multidrug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* [Internet]. 2007, 59(2): 175-183. Disponible en: DOI: 10.1093/jac/dkl477
  13. Quesada E, Ventosa A, Rodríguez-Valera F, Megias L, Ramos-Cormenzana A. Numerical Taxonomy of Moderately Halophilic Gram-negative Bacteria from Hypersaline Soils. *Journal of General Microbiology* [Internet]. 1983, 129: 2649 - 2657. Disponible en: DOI: 10.1016/S0723-2020(87)80067-X
  14. Sandoval Trujillo H, Sanchez Saucedo N, Ramírez-Durán N, Beer Chavero L. Design of an economic method for the isolation of nocardioform actinomycetes from the soil. *J Mycol Med*, 1997, 7[4]: 232-233.
  15. Song H, Kim TY, Choi B-K, Choi SJ, Nielsen LK, Chang HN *et al.* Development of chemically defined medium for *Mannheimia succiniciproducens* based on its genome sequence. *Applied Microbial and Cell Physiology* [Internet]. 2008, 79: 263 - 272. Disponible en: DOI: 10.1007/s00253-008-1425-2
  16. Jahn B, Jonasson NS, Hu H, Singer H, Pol A, Good NM *et al.* Understanding the chemistry of the artificial electron acceptors PES, PMS, DCPIP and Wurster's Blue in methanol dehydrogenase assays. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* [Internet]. 2020: 1-14. Disponible en: DOI: 10.1007/s00775-020-01752-9
  17. Yang J, Zhang Y, Wang S, Li S, Wang Y, Wang S *et al.* Biodegradation of crystal violet mediated by *et al.* from *Bacillus amyloliquefaciens*. *Journal of bioscience and bioengineering* [Internet]. 2020, 130[4]: 347-351. Disponible en: DOI: 10.1016/j.jbiosc.2020.05.005

18. Mytilinaios I, Salih M, Schofield HK, Lambert RJ. Growth curve prediction from optical density data. *International journal of food microbiology* [Internet]. 2012, 154[3]: 169-176. Disponible en: DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.035
19. Rahman SS, Siddique R, Tabassum N. Isolation and identification of halotolerant soil bacteria from coastal Patenga area. *BMC Research Notes* [Internet]. 2017, 10[531]: 1-6. Disponible en: DOI: 10.1186/s13104-017-2855-7
20. Horikoshi K. Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiology and molecular biology reviews*. MMBR [Internet]. 1999, 63(4): 735-750. Disponible en: DOI: 10.1128/MMBR.63.4.735-750.1999
21. Lucas S. The Pharmacology of Indomethacin. Headache [Internet]. 2016, 56(2): 436-446. Disponible en: DOI: 10.1111/head.12769
22. Wojcieszynska D, Domaradzka D, Hupert-Kocurek K, Guzik U. Bacterial degradation of naproxen e Undisclosed pollutant in the environment. *Journal of Environmental Management* [Internet]. 2014, 145: 157-161. Disponible en: DOI: 10.1016/j.jenvman.2014.06.023
23. Amasha M, Baalbaki A, Ghauch A. A comparative study of the common persulfate activation techniques for the complete degradation of an NSAID: The case of ketoprofen. *Chemical Engineering Journal* [Internet]. 2018, 350: 395-410. Disponible en: DOI: 10.1016/j.cej.2018.05.118
24. Quero-Pastor MJ, Garrido-Perez MC, Acevedo A, Quiroga JM. Ozonation of ibuprofen: A degradation and toxicity study. *Science of the Total Environment* [Internet]. 2014, 466-467: 957-964. Disponible en: DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.07.067
25. Milić J, Avdalović J, Šolević Knudsen T, Gojgić Cvijović G, Jednak T, Vrvic M. Initial Microbial Degradation Of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly [Internet]. 2016, 22(3): 293-299. Disponible en: DOI: 10.2298/CICEQ150606043M
26. Darma Umara Z, Abd Aziz NA, Zahmir Zulkifli S, Mustafa M. Rapid biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using effective *Cronobacter sakazakii* MM045 (KT933253). *Methods X* [Internet]. 2017, 4: 104-117. Disponible en: DOI: 10.1016/j.mex.2017.02.003
27. García-Castiñeiras S, Velázquez S, Martínez P, Torres N. Aqueous Humor Hydrogen Peroxide Analysis with Dichlorophenol-indophenol. *Exp Eye Res* [Internet]. 1992, 55: 9-19. Disponible en: DOI: 10.1016/0014-4835(92)90086-8
28. Pienthai N, Pornprasert S. Lyophilized hemoglobin E control material for the dichlorophenol-indophenol [DCIP] test. *Clin Chem Lab Med* [Internet] 2016: 1-2. Disponible en: DOI: 10.1515/cclm-2016-0652
29. Bidoa ED, Montagnolli RN, Lopes PRM. Microbial biodegradation potential of hydrocarbons evaluated by colorimetric technique: a case study. *Currente*

- Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, 2010: 1277-1288.
30. Coico R. Gram staining. Current protocols in microbiology [Internet]. 2005, Appendix 3: Appendix 3C. Disponible en: DOI: 10.1002/9780471729259.mca03cs00
  31. Feoktistova M, Geserick P, Leverkus M. Crystal Violet Assay for Determining Viability of Cultured Cells. Cold Spring Harbor protocols [Internet]. 2016, 2016(4). Disponible en: DOI: 10.1101/pdb.prot087379
  32. Krause RGE, Goldring JPD. Crystal violet stains proteins in SDS-PAGE gels and zymograms. Analytical biochemistry [Internet]. 2019, 566: 107-115. Disponible en: DOI: 10.1016/j.ab.2018.11.015
  33. Rahimpour M, Taghvaei H, Rahimpour MR. Degradation of crystal violet in water solution using post discharge DBD plasma treatment: Factorial design experiment and modeling. Chemosphere [Internet]. 2019, 232: 213-223. Disponible en: DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.05.153
  34. Dey A, Bokka V, Sen S. Dependence of bacterial growth rate on dynamic temperature changes. IET systems biology [Internet]. 2020, 14[2]: 68-74. Disponible en: DOI: 10.1049/iet-syb.2018.5125
  35. Martínez H, Sánchez J. Modeling of scale-dependent bacterial growth by chemical kinetics approach. The Scientific World Journal [Internet]. 2014, 2014: 1-8. Disponible en: DOI: 10.1155/2014/820959
  36. Button DK. Nutrient-limited microbial growth kinetics: overview and recent advances. Antonie Van Leeuwenhoek [Internet]. 1993, 63[3-4]: 225-235. Disponible en: DOI: 10.1007/bf00871220
  37. Oladipo OG, Ezeokoli OT, Maboeta MS, Bezuidenhout JJ, Tiedt LR, Jordaan A *et al.* Tolerance and growth kinetics of bacteria isolated from gold and gemstone mining sites in response to heavy metal concentrations. J Environ Manage [Internet] 2018, 212: 357-366. Disponible en: DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.01.038
  38. Scott M, Hwa T. Bacterial growth laws and their applications. Current opinion in biotechnology [Internet]. 2011, 22[4]: 559-565. Disponible en: DOI: 10.1016/j.copbio.2011.04.014
  39. Zeng H, Yang A. Bridging substrate intake kinetics and bacterial growth phenotypes with flux balance analysis incorporating proteome allocation. Scientific reports [Internet]. 2020, 10[1]: 4283. Disponible en: DOI: 10.1038/s41598-020-61174-0
  40. Langenhoff A, Inderfurth N, Veuskens T, Schraa G, Blokland M, Kujawa-Roeleveld K *et al.* Microbial Removal of the Pharmaceutical Compounds Ibuprofen and Diclofenac from Wastewater. BioMed Research International [Internet]. 2013, 2013: 1-9. Disponible en: DOI: 10.1155/2013/325806

41. Murdoch R, Hay A. The biotransformation of ibuprofen to trihydroxyibuprofen in activated sludge and by *Variovorax* Ibu-1. *Biodegradation* [Internet]. 2015, 26: 105-113. Disponible en: DOI: 10.1007/s10532-015-9719-4
42. Ijah U, Gadimoh M, Uwabujo A. Biodegradation of acetaminophen. *The Nigerian Academic Forum*, 2004, 5[6]: 40-46.
43. Baratpour P, Moussavi G. The accelerated biodegradation and mineralization of acetaminophen in the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-stimulated upflow fixed-bed bioreactor [UFBR]. *Chemosphere* [Internet]. 2018, 210: 1115-1123. Disponible en: DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.135