

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO**

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Licenciados en
Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

**RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN BACTERIAS PATÓGENAS
AISLADAS DEL REGADÍO DEL RÍO CHIBUNGA. MAYO-JULIO 2018.**

Autores: Llibran Mur Caicedo
Karen G. Marcillo Valencia

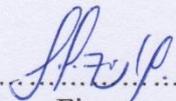
Tutora: PhD. Morella Guillén Ferraro

**Riobamba – Ecuador
2018**

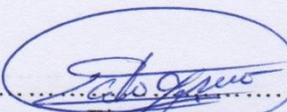
DECLARACIÓN DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL

PhD. Morella Guillen Ferraro docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en
Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018, presentado por Libran Mur Caicedo y Karen Gabriela Marcillo Valencia, dirigido por PhD. Morella Guillen Ferraro, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

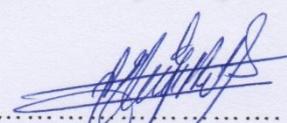
PhD. Liliana Araujo Baptista
Presidente del Tribunal


.....
Firma

Mgs. Celio García Ramírez
Miembro del Tribunal


.....
Firma

Lic. Elena Brito Sanaguano
Miembro del Tribunal

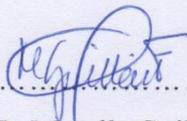

.....
Firma

DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA

Yo, Morella Guillen Ferraro docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de tutora del proyecto de investigación titulado: “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-Julio 2018”, propuesto por el Sr. Llibran Mur Caicedo y la Srta. Karen Marcillo Valencia, egresados de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentran aptos para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a los interesados en hacer uso del presente para los trámites correspondientes.

Llibran Mur Caicedo
210038373-2

Karen Marcillo Valencia
30042514-3

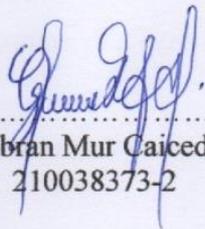


PhD. Morella Guillen Ferraro

Docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, nos corresponde exclusivamente a: Llibran Mur Caicedo, Karen Marcillo Valencia y Morella Guillen Ferraro y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



.....
Llibran Mur Caicedo
210038373-2



.....
Karen Marcillo Valencia
230042514-3

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios autor y consumidor de todos nuestros anhelos, por regalarnos el hábito de vida para poder cumplir nuestros sueños.
A nuestros padres, quienes han sido nuestro especial sustento y motivación, seres que nos han impulsado a avanzar en este camino.
De manera muy especial a nuestra tutora Morella Guillen, María del Carmen Córdovez, Félix Falconi, Ana Gonzales, y a cada uno de nuestros amigos docentes, quienes aportaron con su granito de arena para que la ejecución de esta investigación tenga éxito.

Karen y Llibran

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios autor y consumidor de todos nuestros anhelos, por regalarnos el hálito de vida para poder cumplir nuestros sueños.

A nuestros padres, quiénes han sido nuestro especial sustento y motivación, seres que nos han impulsado a avanzar en este camino.

De manera muy especial a: nuestra tutora Morella Guillen, María del Carmen Córdovez, Félix Falconí, Ana Gonzáles, y a cada uno de nuestros amigos docentes, quiénes aportaron con su granito de arena para que la ejecución de esta investigación tenga éxito.

Karen y Llibran

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres

Darwin y Nanci.

A mis hermanos Katherine, Erick,
Matthew.

A mis abuelitos Galo, Domi y Herlinda.

Karen

Dedico este trabajo a mis padres Leonel
y Yadira.

Además, quiero también dedicar este
trabajo a todas aquellas personas que
creyeron que lo lograría, que con
respetuosas palabras siempre me
alentaron a seguir y que nunca
desfallezca en el camino, mi amada
familia.

Llibran

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vii
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN	13
OBJETIVOS	15
Objetivo General.....	15
Objetivos Específicos.....	15
ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA	16
Río Chibunga.....	16
Regadío.....	16
Enterobacterias.....	17
<i>Vibrio y Aeromonas</i>	19
<i>Pseudomonas</i>	20
Cocos Gram Positivos.....	20
Resistencia Antimicrobiana.....	21
Mecanismos de Acción de los Fármacos Antimicrobianos.....	22
Mecanismos de Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos.....	24
METODOLOGÍA	26
Tipo de Investigación.....	26
Determinación de la Población y Muestra.....	26
Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	26
Procedimiento.....	26
Identificación del Área de Estudio y Toma de las Muestras.....	27
Aislamiento de las Bacterias Patógenas Presentes en las Muestras.....	28
Medición de Resistencia Antibiótica en Bacterias Patógenas.....	29
Análisis Estadístico de Datos.....	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	37
RECOMENDACIONES	38
BIBLIOGRAFÍA	39
ANEXOS	44

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen N° 1: Antibiograma de <i>Salmonella enterica</i>	34
Imagen N° 2: Antibiograma de <i>Hafnia alvei</i>	34
Imagen N° 3: Antibiograma de <i>Plesiomonas shigelloides</i>	34
Imagen N° 4: Antibiograma de <i>Pseudomonas. aeruginosa</i>	35
Imagen N° 5: Antibiograma del <i>Enterococcus</i> spp.....	36
Imagen N° 6: Estación de muestreo Santa Martha.....	55
Imagen N° 7: Estación de muestreo Shobol-Llinllin.	55
Imagen N° 8: Estación de muestreo San Juan.....	56
Imagen N° 9: Estación de muestreo Calpi	56
Imagen N° 10: Estación de muestreo Ricpamba.....	57
Imagen N° 11: Estación de muestreo Parque lineal Chibunga.	57
Imagen N° 12: Estación de muestreo San Luis.....	58
Imagen N° 13: Medición de la Temperatura. y pH.....	58
Imagen N° 14: Procesamiento de Muestras	59
Imagen N° 15: Colonias de <i>Aeromona hydrophila</i> . y <i>Vibrio</i> spp.	59
Imagen N° 16: Batería de Identificación Bacteriana.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Enterobacterias Frecuentes con Significado Clínico.....	17
Tabla N° 2: Gastroenteritis por <i>Escherichia coli</i>	18
Tabla N° 3: Descripción de Ubicación y Altitud en cada Estación de Muestreo	27
Tabla N° 4: Datos de Temperatura y pH obtenidos de las aguas del Regadío del Río Chibunga de Acuerdo a Cada Estación de Muestreo.....	30
Tabla N° 5: Distribución de los Aislados Bacterianos según la Coloración de Gram.....	31
Tabla N° 6: Bacterias Patógenas Aisladas de las Aguas de Regadío del Río Chibunga	31
Tabla N° 7: Distribución de Especies de Bacterias Patógenas aisladas de acuerdo al Punto Geográfico.....	32
Tabla N° 8: Patrón de Susceptibilidad y Resistencia de Bacterias Pertenecientes a la Familia Enterobacteriaceae según la guía internacional CLSI.....	33
Tabla N° 9: Patrón de Susceptibilidad y Resistencia de otra enterobacteria patógena y demás bacterias gramnegativas asociadas a cuadros de gastroenteritis según la guía Internacional CLSI	35
Tabla N° 10: Patrón de Susceptibilidad y Resistencia del <i>Enterococcus</i> spp. Según la Guía Internacional CLSI.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Mecanismos Genéticos de la Resistencia Adquirida	22
Figura N° 2: Sitios Básicos de la Actividad de los Antibióticos.	22
Figura N° 3: Mecanismos de Resistencia a los Antimicrobianos.	25
Figura N° 4: Localización de las Estaciones de Muestreo a lo largo de la Microcuenca del Rio Chibunga	45

RESUMEN

Las bacterias patógenas han adquirido resistencia antimicrobiana y están contaminando los ecosistemas acuáticos. Este estudio se basó en determinar la resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga, para mostrar patógenos causantes de infecciones importantes, que podrían ser de difícil tratamiento farmacológico. Se contó con la colaboración de habitantes de las comunidades que facilitaron información de la localización de los canales de riego provenientes del afluente. El estudio es de tipo descriptivo, de corte transversal con un diseño de campo. Se inició con la recolección de las muestras del río en siete estaciones diferentes, incluyendo la medición de altitud, temperatura y pH. La identificación bacteriana se realizó mediante el cultivo en agar CLED, Sangre, McConkey, Salmonella-Shigella y TCBS, e interpretación de las diferentes pruebas fisiológicas y bioquímicas para clasificar a las bacterias por género y especie. Se midió la susceptibilidad bacteriana mediante el método de Kirby Bauer. Los resultados obtenidos muestran a 18 bacterias patógenas diferentes, correspondientes a 17 gramnegativas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Salmonella enterica*, *Plesiomonas shigelloides*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Vibrio* spp.; y tan solo una bacteria grampositiva: *Enterococcus* spp. La mayoría de las bacterias mostraron resistencia frente a las quinolonas y menor resistencia, a las cefalosporinas, glicopéptidos y aminoglucósidos, concluyendo que el Río Chibunga está contaminado por bacterias patógenas resistentes a antibióticos de uso clínico.

Palabras clave: Río Chibunga, Regadío, Bacterias patógenas, Resistencia antimicrobiana.

Abstract

The objective of this investigation is determine antimicrobial resistance in pathogenic bacteria isolated from the irrigated Chibunga's River, in order to show pathogens that cause important infections, which could be difficult to treat clinically. There was the collaboration of the communities that provided information on the location of the irrigation channels from the tributary. The study is descriptive, cross-sectional with a field design. It began with the collection of river samples in seven different stations, including the measurement of altitude, temperature and pH. The bacterial identification was carried out by means of agar culture CLED, Blood, MacConkey, Salmonella-Shigella and TCBS, and interpretation of the different physiological and biochemical test in order to classify the bacteria by gender and species. Bacterial susceptibility was measured by the Kirby Bauer method. The results obtained show 18 different pathogenic bacteria, corresponding to 17 gram-negative bacteria: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Salmonella enterica*, *Plesiomonas shigelloides*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Vibrio* spp.; and only a gram-positive bacteria: *Enterococcus* spp. Most of the bacteria showed resistance against quinolones, and lower resistance to cephalosporins, glycopeptides, and aminoglycosides, concluding that the Chibunga River is contaminated by pathogenic bacteria resistant to antibiotics for clinical use.

Key words: Chibunga River, Irrigation, Pathogenic bacteria, Antimicrobial resistance



Reviewed by: Chavez, Maritza

Language Center Teacher



INTRODUCCIÓN

Es un hecho que el agua es el líquido vital que se encuentra en la naturaleza en estado más o menos puro formando ríos, lagos y mares; ocupa las tres cuartas partes del planeta tierra y forma parte de los seres vivos¹, y es por lo mismo que se le utiliza en diferentes actividades, de entre las cuales resalta el consumo diario para la supervivencia de los seres vivos como plantas, animales y humanos. A nivel mundial alrededor del 70% de agua dulce disponible es utilizada para la agricultura². En efecto, es muy común que se utilice algún río como riego cercano para mantener el cultivo bien hidratado y garantizar una buena cosecha.

En la actualidad, después del desarrollo y la comercialización en masa de los antibióticos, las bacterias patógenas y ambientales han desarrollado resistencia antimicrobiana, de modo que las infecciones emergentes causadas por estos microorganismos se tornan de difícil tratamiento farmacológico³. Es importante conocer que actualmente se está produciendo la aparición significativa de las denominadas “superbacterias”, es decir, bacterias multiresistentes a antibióticos utilizados comúnmente en el tratamiento de infecciones⁴.

El ecosistema acuático, se considera como la principal ruta por donde se introducen genes de resistencia bacterianos, donde las bacterias no patógenas pueden servir como reservorio y posteriormente formar plásmidos que se pueden transferir a los patógenos humanos⁴.

Los antibióticos y bacterias patógenas ingresan al ambiente acuático a través de descargas directas de aguas residuales, plantas de tratamiento, lixiviados de vertederos, escorrentía de granjas agrícolas y animales, alcantarillas, tanques de almacenamiento de estiércol o lagunas; para habitar luego en el ecosistema fluvial^{3,5}.

En el artículo 66 de la Constitución de la República del Ecuador se establece “el derecho a una vida digna, que asegure la salud, alimentación, nutrición y agua potable”, y por medio de esta ley es que el Plan Nacional de Desarrollo 2017 – 2021 en el objetivo 1, propone mejorar la calidad de vida de la población para permanecer en hábitat seguro y saludable⁶.

A nivel mundial, no se encuentran cifras exactas donde se indique el grado de contaminación en los ríos con bacterias patógenas resistentes, pero, en países como China, India, Turquía, Etiopía, Austria, España, Estados Unidos, Cuba, Brasil, Argentina y Colombia se han aislado bacterias patógenas con resistencia a antibióticos de importancia clínica y en algunos casos con producción de betalactamasas y carbapenemasas⁷⁻¹⁷.

En Ecuador, se evaluó la calidad del agua de los ríos Machángara y Monjas¹⁸, encontrándose en gran cantidad coliformes. En Santo Domingo de los Colorados, se logró aislar cepas de *Escherichia coli* resistentes a antibióticos de interés clínico¹⁹. En Quito se hizo un estudio de resistencia antibacteriana en cepas de *Salmonella enterica* lográndose obtener resultados importantes²⁰. En Chimborazo, se realizó un estudio en las aguas del canal Chi-Pungales y del “Parque de las fuentes” lográndose aislar bacterias patógenas de origen fecal con resistencia a antibióticos de interés clínico^{21,22}. Incluso, se han obtenido estos patógenos resistentes en aguas termales²³.

En previas publicaciones, se señala que el Río Chibunga está contaminado, ya que, en él descargan aguas servidas²⁴. El problema surge porque se utilizan estas aguas para el riego de cultivos agrícolas, y en el caso de existir bacterias patógenas resistentes o multirresistentes a antibióticos, los productos cosechados se convertirían en vehículo o fuente de infección de patologías diversas. El problema se ve agravado porque Chimborazo las comunidades que se dedican al comercio de productos provenientes de la tierra (frutas y verduras) los venden en mercados de acceso al público²⁵.

En la actualidad, no existe un estudio previo de interés clínico en el que se haya estudiado la presencia de resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas habitantes de las aguas del regadío del Río Chibunga, razón por la cual se ha realizado esta investigación. El aporte científico que se brindará será importante para la comunidad académica y de investigadores. De igual manera, con este estudio se posibilita que se cree una señal de alerta sobre el riesgo existente, para que las instituciones correspondientes se mentalicen en crear medidas de control para evitar que los daños se propaguen. Esta acción beneficiará de manera directa a la población de trabajadores que viven de la agricultura, pues, sus productos serán de mejor calidad, sin riesgos de afectar a la salud humana.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo - julio 2018.

Objetivos Específicos

1. Seleccionar los puntos geográficos de toma de muestra con medición de temperatura y pH tomando en cuenta los sectores agrícolas.
2. Identificar las bacterias patógenas de las muestras obtenidas en cada punto geográfico de las aguas de regadío del Río Chibunga.
3. Medir la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas identificadas en las aguas de regadío del Río Chibunga.

ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA

Río Chibunga

El Río Chibunga, situado al Noroeste de la Provincia de Chimborazo, cantón Riobamba; afluente del Río Chambo que alimenta a la cuenca del Río Pastaza. Dispone de una superficie de 12491 hectáreas, y se sitúa en un rango entre 3.200 a 6.300 m. de altitud²⁶. Se origina en las laderas del nevado Chimborazo, descendiendo por 25 comunidades contiguas a la ciudad de Riobamba, desde los páramos de El Arenal hasta llegar a sectores agrícolas de la parroquia San Juan, en Las Caleras, Shobol, Gatazo, y San Luis²⁷.

El cauce representa uno de los recursos hídricos con gran incidencia en el desarrollo de Riobamba. A pesar de ello, este afluente es uno de los más contaminados del país^{24,25,27} lo más particular, es la directriz que toma el tema, de cómo las personas lo emplean; según los expertos es muy utilizado para el riego de cultivos; sin mencionar que se ha convertido en depósito de aguas servidas, donde las personas arrojan desperdicios^{24,25} evidencia comprobada por la Unidad de Calidad Ambiental del Ministerio del Ambiente, organismo quien recolecto 65 sacos de desechos y escombros con un peso total de 2 267 kilogramos en las riberas del río Chibunga²⁸.

En publicaciones del diario El Telégrafo^{25,27}, se alude el problema; la preparación de grandes extensiones de terreno y el riego artificial de vastos sembríos con esta agua. Esto trae consigo causas que se vinculan con patologías cancerígenas, ya que se han realizado investigaciones que muestran un alto grado de contaminación de estas aguas, que sobrepasan los niveles tolerables de metales pesados, residuos de hidrocarburos, aceites y grasas²⁷.

Regadío

Según Soubannier²⁹ “El riego puede ser definido como la aplicación artificial del agua para suplir al suelo la humedad requerida por las plantas de cultivo”, método que debería aplicarse cuando la lluvia no compense las necesidades de un cultivo agrícola, asegurándose las cosechas, mejorando las condiciones ambientales para el desarrollo vegetal e impedir que la falta de humedad afecte el crecimiento de los cultivos.

Caballero Torres et al³⁰, menciona que las aguas de mejor calidad para el consumo humano son las aguas minerales naturales. Estas deben ser desde el punto de vista bacteriológico sin microorganismos.

Bacterias patógenas

Se conoce que millones de bacterias están presentes en el ambiente, muchas de ellas juegan

roles importantes, y en algunos casos vitales, representando a especies altamente adaptadas a sus medios; en ocasiones, existe el cambio de nicho ecológico donde habitan natural, a formar parte de un huésped (ser humano), esto ocasiona efectos perjudiciales que provocan enfermedades, a estos microorganismos se los denominan patógenos³¹.

Las bacterias patógenas producen muchas enfermedades infecciosas, en su mayoría generan enfermedades a nivel digestivo, transmitidas por bacterias provenientes del tracto gastrointestinal de animales y humanos³², patógenos que son vertidos a los sistemas de aguas cloacales³³, y hacen de estos su habitat.

El grupo denominado coliformes corresponde a especies de la familia Enterobacteriaceae³⁴, algunos serotipos virulentos ocasionan diarreas agudas³³. Un género diferente, significativo en cualquier tipo de investigación, lo conforma el género *Vibrio*, transmitido a través del consumo de aguas contaminadas, los cuales provocan diarreas agudas, acuosas y profusas, con altas tasas de mortalidad³³. En zonas superficiales que contienen oxígeno suficiente se encuentran especies de *Pseudomonas*³³, como otros microorganismos de importancia clínica.

Enterobacterias

El conjunto más grande y heterogéneo microorganismos con importancia clínica de bacilos gramnegativos lo conforman los miembros de la familia Enterobacteriaceae. Las especies con importancia clínica se muestran en la tabla a continuación^{35,36}.

Tabla N° 1: Enterobacterias frecuentes con significado clínico

<i>Citrobacter freundii, Citrobacter koseri</i>
<i>Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca</i>
<i>Morganella morganii</i>
<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Salmonella enterica</i>
<i>Serratia marcescens</i>
<i>Shigella sonnei, Shigella flexneri</i>
<i>Yersinia pestis, Yersinia enterocolitica</i>
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>

Fuente: Murray et al., Microbiología médica 8^{va} edición, pág. 253

Escherichia coli. Es el miembro más usual y trascendente del género *Escherichia*. Este microorganismo está vinculado a múltiples enfermedades, debido a la multitud de cepas y algunos serotipos capaces de producir enfermedad, asociándose a una mayor virulencia^{35,37}. A continuación se muestran las serovariedades de *E. coli* causantes de gastroenteritis.

Tabla N° 2: Gastroenteritis por *Escherichia coli*

Microorganismo	Lugar de acción	Enfermedad
<i>E. coli</i> Enterotoxigénica (ECET)	Intestino delgado	Diarrea del viajero; diarrea infantil en países en desarrollo; diarrea acuosa, vómitos, espasmos abdominales, náuseas, febrícula.
<i>E. coli</i> Enteropatógena (ECEP)	Intestino delgado	Diarrea infantil en países en desarrollo; diarrea acuosa y vómitos, heces no sanguinolentas.
<i>E. coli</i> Enteroagregativa (ECEA)	Intestino delgado	Diarrea infantil en países en desarrollo y probablemente en los desarrollados; diarrea del viajero; diarrea acuosa persistente con vómitos, deshidratación y febrícula.
<i>E. coli</i> Enterohemorrágica (ECEH)	Intestino grueso	Inicialmente diarrea acuosa, seguida de diarrea sanguinolenta con espasmos abdominales; sin fiebre o con febrícula; puede progresar a síndrome hemolítico.
<i>E. coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	Intestino grueso	Rara en los países en desarrollo y en los desarrollados; fiebre, espasmos, diarrea acuosa; puede progresar a disentería con escasas heces sanguinolentas.

Fuente: Murray et al. Microbiología médica 8va edición, pág. 256

Salmonella. Más que cualquier otro género, *Salmonella* ha sido el favorito de aquellos que gustan de subdividir y aplicar nombres, debido a que la clasificación taxonómica del género ha sido problemática³⁵⁻³⁷. *Salmonella* tiene un único género de gran importancia clínica “*Salmonella enterica*”, en el cual se han descrito más de 2.500 serotipos únicos para esta sola especie; siendo casi todos sus miembros potencialmente patógenos, por causar enteritis (fiebre, náuseas, vómitos, diarrea sanguinolenta o no sanguinolenta, dolores, cólicos abdominales); fiebre *enterica* (fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea); bacteriemia³⁵⁻³⁸.

Murray et al³⁵ mencionan que la nomenclatura correcta para nombrar a esta especie sería *Salmonella enterica* serovariedad Typhi, pero, para evitar las confusiones y conservar términos históricos, actualmente se escriben los serotipos individuales con el serotipo en mayúsculas y sin cursivas, p ej, la forma habitual de llamar a *Salmonella enterica* serovariedad Typhi sería *Salmonella* Typhi, esta información la confirman Koneman y Tortora^{36,38}.

Yersinia enterocolitica. Es un bacilo gramnegativo aerobio, y anaerobio facultativo, fermentador de lactosa oxidasa-negativo; esta especie del género *Yersinia* es un patógeno humano de origen entérico³⁵. Por lo general, el género *Yersinia* tiene genes de adherencia, actividad citotóxica, inhibición de la migración fagocítica y de acción de engullir e inhibir la agregación plaquetaria³⁵⁻³⁷; lo que caracteriza a esta bacteria a producir sepsis asociada a transfusiones, como también gastroenteritis³⁵.

Klebsiella pneumoniae. Las características bacteriológicas más distintivas del género *Klebsiella* son la ausencia de motilidad y la presencia de una cápsula de polisacáridos que bloquean la activación del complemento; esto da a las colonias su aspecto mucoso,

brillante^{35,37}. *K. pneumoniae* es la especie más común y es capaz de causar neumonía lobular clásica³⁵; en comparación con otras enterobacterias este patógeno se muestra entre las más resistentes a los antimicrobianos³⁶, a menudo es resistente a múltiples fármacos, comúnmente los β -lactámicos³⁷.

***Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris*.** El género *Proteus*, patógenos oportunistas que se encuentra con frecuencia en aislados hospitalarios, tiene diversos hábitats en la naturaleza^{35,37}. Existen varias especies de *Proteus*, pero *P. mirabilis* y *P. vulgaris* son los más significativos en la clínica³⁹. Estos patógenos oportunistas son causa de infecciones del tracto urinario, de modo ocasional en huéspedes sanos y con mucha frecuencia en aquellos inmunodeprimidos³⁵.

***Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* y *Hafnia alvei*.** Las infecciones primarias producidas por estos patógenos son frecuentes en individuos inmunocompetentes^{35,39}. Con mayor frecuencia son responsables de infecciones nosocomiales en neonatos³⁵. Se ha observado que *C. freundii* y *C. koseri* tiende a producir meningitis y abscesos cerebrales en neonatos^{35,37}. La antibioterapia frente a la infección por estos géneros puede carecer de eficacia como consecuencia de la frecuente resistencia a múltiples antibióticos, la resistencia es un problema especialmente grave en las especies de *Enterobacter*³⁵.

***Plesiomonas shigelloides*.** El género *Plesiomonas* posee cualidades bioquímicas semejantes a especies de *Vibrio* y *Pseudomonas*; son bacterias aerobias o anaerobias facultativas, capaces de fermentar la lactosa⁴⁰. Su hábitat es básicamente el medio ambiente, pero en ocasiones pueden encontrarse en el tubo digestivo de seres humanos, es por esto que se las agrupa entre las enterobacterias, este género se relaciona con diarrea enterotóxica⁴⁰. Es común una resistencia a las penicilinas y cefalosporinas; hoy en día la mayor parte de cepas muestran susceptibilidad a la tetraciclina, y en forma variable a aminoglucósidos, lo que incluye gentamicina⁴⁰.

Vibrio* y *Aeromonas

El segundo gran grupo de bacilos gramnegativos anaerobios facultativos y fermentadores, corresponden a los géneros *Vibrio* y *Aeromonas*⁴¹. Estos géneros antiguamente se consideraron de la familia Vibrionaceae por la reacción positiva a la oxidasa, y especialmente porque se los puede encontrar en el agua y posee una acción virulenta similar producida por *Vibrios*; enfermedad gastrointestinal con muchas similitudes⁴¹. Sin embargo, las técnicas de biología molecular establecieron que estos géneros presentan una relación lejana dividiéndose en géneros diferentes: *Vibrio* y *Aeromonas*, y agrupándose en la familia Vibrionaceae y

Aeromonadaceae, respectivamente⁴¹.

Vibrio spp. Este género se compone de bacilos gramnegativos curvados, anaerobios facultativos, fermentadores, que necesitan sal para crecer⁴¹. Muchas especies se asocian a afecciones en el ser humano, pero tres especies son patógenos de especial importancia clínica: *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*⁴¹.

La enfermedad que producen estos patógenos esta mediada por toxinas en el caso de la colérica producida por *V. cholerae*, que puede variar de una infección que partiría desde una colonización asintomática o una diarrea leve, hasta una diarrea grave y rápidamente mortal; *V. parahaemolyticus* produce una hemolisina directa termoestable, que producen diarrea autolimitada; *V. vulnificus* está asociado a elevada mortalidad debido a que produce septicemia primaria e infecciones de las heridas, sobre todo en pacientes con una hepatopatía de base⁴¹.

***Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*.** El género *Aeromonas* corresponden a bacilos gramnegativos, anaerobios facultativo, fermentador, que morfológicamente se parece a los miembros de la familia Enterobacteriaceae, ubicuos en el agua dulce y salobre^{41,42}. Al igual que en el *Vibrio*, se han descrito variedad de especies, la mayoría se asocian a enfermedad en el ser humano; los patógenos más destacados son: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*⁴¹. Estos microorganismos producen tres variantes de la enfermedad: **1)** diarrea en personas sanas, **2)** infecciones de las heridas y **3)** enfermedad sistémica oportunista en inmunodeprimidos⁴¹.

Pseudomonas

***Pseudomonas aeruginosa*.** El género *Pseudomonas* está constituido por una variedad heterogénea de bacterias sin capacidad de fermentación⁴³. La más importante de estas es *Pseudomonas aeruginosa*, bacilos gramnegativos pequeños que se disponen habitualmente en parejas, aerobio obligado; oxidador de glucosa, con requerimientos nutricionales sencillos^{40,43}. Los miembros de este género son ubicuos en la naturaleza (suelo, compuestos orgánicos en descomposición, vegetación y en el agua) y en los ambientes húmedos de los hospitales (lavabos, cuartos de baño, respiradores y equipos de diálisis)^{40,43}. Pueden colonizar de forma transitoria el tracto respiratorio y digestivo, ocasionando infecciones respiratorias, urinarias, de piel y tejidos blandos, oculares, auditivas y también bacteriemias y endocarditis⁴³.

Cocos Gram Positivos

Enterococcus spp. Los enterococos son cocos grampositivos que típicamente se ubican en parejas y en cadenas cortas⁴⁴. Las especies que a menudo se aíslan y que son las más

importantes clínicamente son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*; también concurren muy a menudo *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus casseliflavus* frecuentes colonizadores del aparato digestivo del ser humano y se tornan de gran importancia porque estas muestran una resistencia intrínseca frente a la vancomicina⁴⁴.

Resistencia Antimicrobiana

Las bacterias potencialmente patógenas se liberan continuamente en las aguas, muchas de ellas albergan genes de resistencia a antibióticos que se insertan en reservorios genéticos móviles como los plásmidos de muy fácil propagación entre las comunidades bacterianas, que hacen del agua y el suelo su habitat³². El agua constituye la ruta principal por la cual se introducen genes de resistencia bacterianos en los ecosistemas naturales⁴⁵, hoy en día es común encontrar aislamientos bacterianos con niveles de resistencia tales como: los multidrogosresistentes (resistente a 2 o más antibióticos), extremadamente resistentes (resistente a 3 o más antibióticos), y aún más perturbador, aislamientos panresistentes, los cuales son literalmente intratables con los regímenes farmacológicos actuales, razón que conlleva a incluir terapias combinadas³.

Según Acevedo et al⁴, el conjunto de problemas que comprende la resistencia a antibióticos se relaciona en diversos aspectos con la contaminación por metales pesados; entender la resistencia a metales pesados en el medio ambiente podría facilitar también la comprensión de la resistencia a antibióticos en los ecosistema^{46,47}. Los elementos que intervienen en la resistencia a los metales pesados están codificados en los cromosomas de bacterias, estos genes les permiten sobrevivir en los hábitats ricos en metales pesados naturalmente (ejemplo, suelos volcánicos); sin embargo, una fuerte presión selectiva debido a la contaminación antropogénica, conlleva a la transferencia de genes que pueden propagar la resistencia de forma eficiente entre las poblaciones bacterianas⁴⁸.

Alós⁴⁹ en su estudio expresó, “los antibióticos no solo matan a las bacterias sensibles y seleccionan a las resistentes, también influyen directamente los mecanismos de variación genética (mutación, recombinación, transposición, intercambio de genes), promueven intercambios de genes entre bacterias incrementando e induciendo la transferencia de genes de resistencia o desreprimiendo la expresión de genes necesarios para la transferencia”; por ejemplo: los genes BLEE CTX-M, muy extendidas en la actualidad, han pasado del cromosoma de especies ambientales del género *Kluyvera* a plásmidos bien adaptados en *E. coli*⁴⁹.

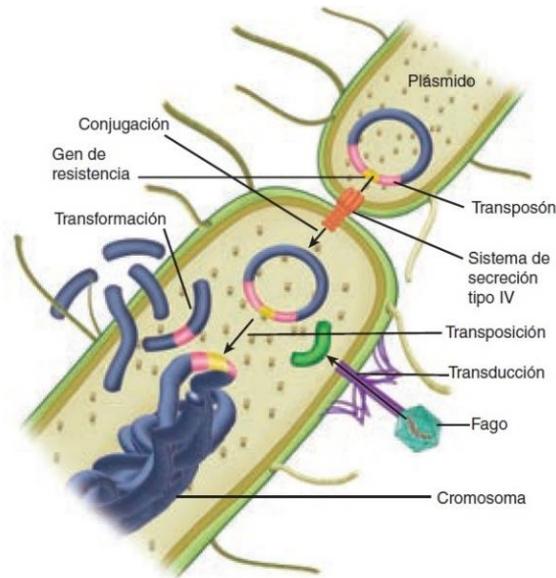


Figura N° 1: Mecanismos genéticos de la resistencia adquirida

Fuente: Ryan, Ray. Sherris. Microbiología médica. 5ª Edición. México, DF: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011 Pág. 326.

Mecanismos de Acción de los Fármacos Antimicrobianos

Los fármacos antimicrobianos pueden ser bactericidas o bacteriostáticos⁵⁰.

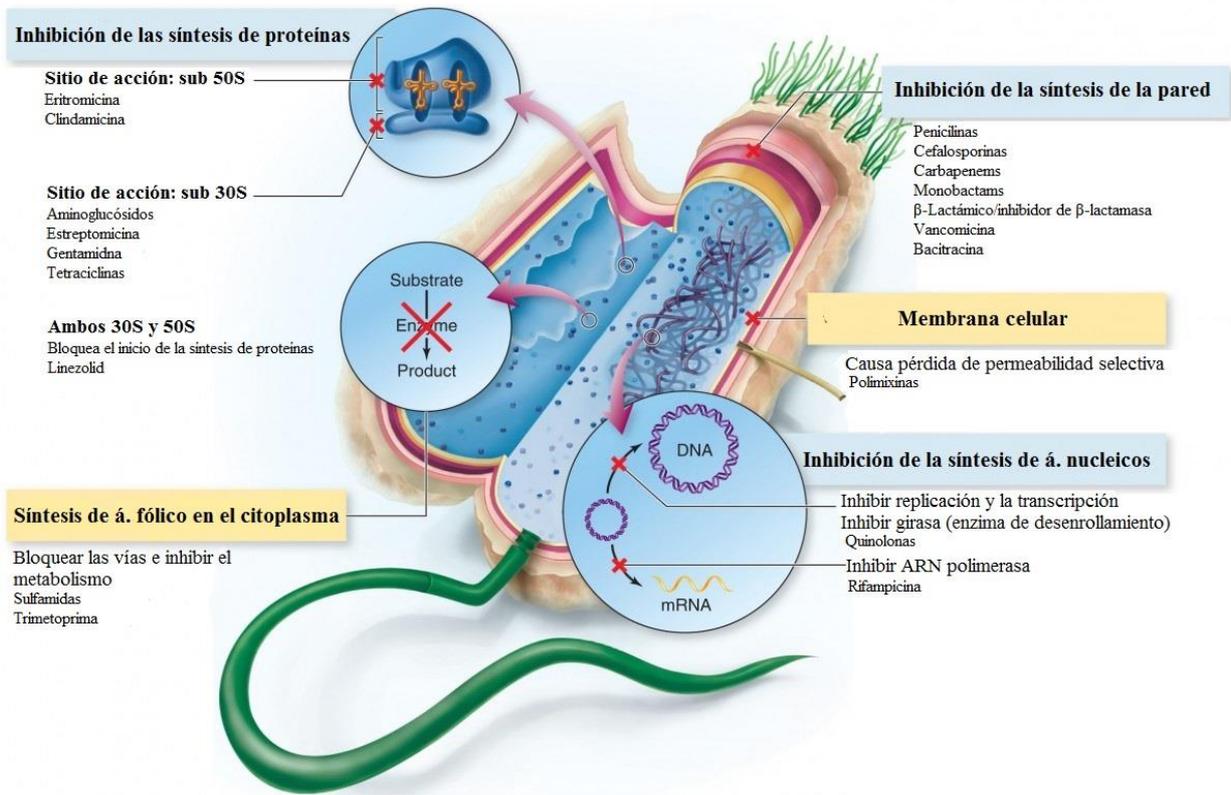


Figura N° 2: Sitios básicos de la actividad de los antibióticos.

Modificado de: ¿Cómo actúan los antibióticos?: Mecanismos de acción [Internet]. 2018 [citado 13 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://proantibioticos.com/como-actuan-los-antibioticos-mecanismos-de-accion/>

Inhibición de la Síntesis de la Pared Celular

El principal componente estructural de la mayoría de las paredes bacterianas es la capa de peptidoglucano^{50,51}, que se compone de cadenas que se entrecruzan; moléculas en alternancia de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico. Estas cadenas están catalizadas por enzimas específicas miembros de una gran familia de serina proteasas; enzimas reguladoras reciben también la denominación de proteínas fijadoras de penicilinas “PBP”, del inglés penicillin-binding proteins, porque son las dianas de los antibióticos β -lactámicos, que inhibe el ensamblaje de las cadenas de peptidoglucano; esto a su vez, activa autolisinas que degradan la pared celular, lo que da lugar a la muerte de la célula bacteriana⁵¹.

Inhibición de las Síntesis de Proteínas

Estos antibióticos ejecutan su acción al pasar a través de la membrana externa bacteriana (en gramnegativas y algunos microorganismos grampositivos), la pared celular y la membrana citoplasmática al citoplasma, en donde inhabilitan la síntesis de proteínas al acoplarse de modo irreversible a las proteínas ribosómicas 30S; produciendo un efecto devastador el cual se menciona como la elaboración de proteínas aberrantes como derivación de una lectura inexacta del ARN mensajero (ARNm)⁵¹.

Inhibición de la Síntesis de Ácidos Nucleicos

Los ácidos nucleicos se inhabilitan gracias a la acción de agentes quimioterapéuticos sintéticos que toman como diana las enzimas topoisomerasa de tipo II (girasa) o la topoisomerasa de tipo IV, en el ADN bacteriano, precisas para la replicación, recombinación y reparación del mismo^{51,52}. Incluso la síntesis de ADN puede verse afectada por antimetabolitos que compiten con el ácido *p*-aminobenzoico, con lo que se previene la síntesis del ácido fólico requerido por ciertos microorganismos⁵¹, o interferir directamente con el metabolismo del ácido fólico al inhibir la dihidrofolato reductasa, con lo que se previene la conversión de dihidrofolato a tetrahidrofolato. La ARN polimerasa, de la misma forma puede ser inhibida, obstaculizando la iniciación de la síntesis de ARN⁵¹.

Permeabilidad en Membranas

Estos antimicrobianos actúan como detergentes, introduciéndose entre membranas bacterianas interaccionando con fosfolípidos y los lipopolisacáridos de la membrana externa lo que genera mayor absorción del microorganismo y posterior muerte⁵¹.

Mecanismos de Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos

Los mecanismos de resistencia bacteriana más importantes son: **1)** exclusión del antimicrobiano de la célula bacteriana como resultado de impermeabilidad o salida activa, **2)** alteraciones de un blanco antimicrobiano que lo vuelven no susceptible y **3)** inactivación del fármaco antimicrobiano por una enzima producida por el microorganismo⁵³.

Exclusión. Un antimicrobiano eficaz debe ingresar en la célula bacteriana y lograr concentraciones suficientes para actuar sobre su blanco. La pared celular y la membrana externa se han constituido cercas para los antibióticos, en virtud de las proteínas porinas de la membrana externa que limitan la entrada hacia el interior⁵³.

Diversas especies de bacterias tienen mecanismos de salida dependientes de energía que literalmente extraen con una bomba las sustancias antimicrobianas que han ingresado a la célula⁵³. Exactamente son alteraciones en las proteínas porinas que estructuran las paredes de los poros pueden alterar el tamaño del orificio del poro o la carga de estos canales y dar lugar a la exclusión del antibiótico⁵¹.

Blanco Alterado. Al ingresar los antimicrobianos en la célula, proceden a unirse e inactivar su blanco, que en forma característica es una enzima o sitio ribosómico esencial. Si el blanco se altera de un modo, el efecto inhibitor disminuye de manera proporcional, sin afectar su función en la célula bacteriana⁵³.

Desactivación Enzimática. De los mecanismos de resistencia, la desactivación enzimática del agente antimicrobiano es el más influyente e inflexible. El antimicrobiano puede ser desactivado por cientos de diferentes enzimas producidas por bacterias resistentes, en el espacio periplásmico o fuera de la célula⁵³.

El grupo más representativo de enzimas bacterianas son las denominadas Betalactamasas que tienen la capacidad de romper el anillo betalactámico e inactivar a diversos miembros del grupo de oxabetalactámicos, una enzima diferente con características físicas y perfil de sustratos propios⁵³. Muchas solo fijan penicilinas (penicilinasas), otras cefalosporinas (cefalosporinasas) así mismo carbapenems (carbapenemasas), entre tanto otras poseen una amplia gama de actividad, frente a todas las penicilinas y cefalosporinas y son capaces de inactivar la mayoría de los antibióticos β -lactámicos; estas β -lactamasas reciben la denominación de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)⁵¹.

Existen enzimas modificadoras, la causa más común elementos de resistencia bacteriana adquirida más comunes contra los aminoglucósidos; más de 50 enzimas que acetilan, adenilan

o fosforilan grupos hidroxilo o amino en la molécula de aminoglucósido⁵³.

En el citosol o en cercana relación con la membrana citoplasmática ocurren las alteraciones, en donde el aminoglucósido químicamente modificado ya no se enlaza con el ribosoma. De modo que sucede con las betalactamasas, las enzimas modificadoras de aminoglucósido constituyen un conjunto amplio y heterogéneo de proteínas bacterianas, las cuales tienen propiedades y características distintas entre sí⁵³.

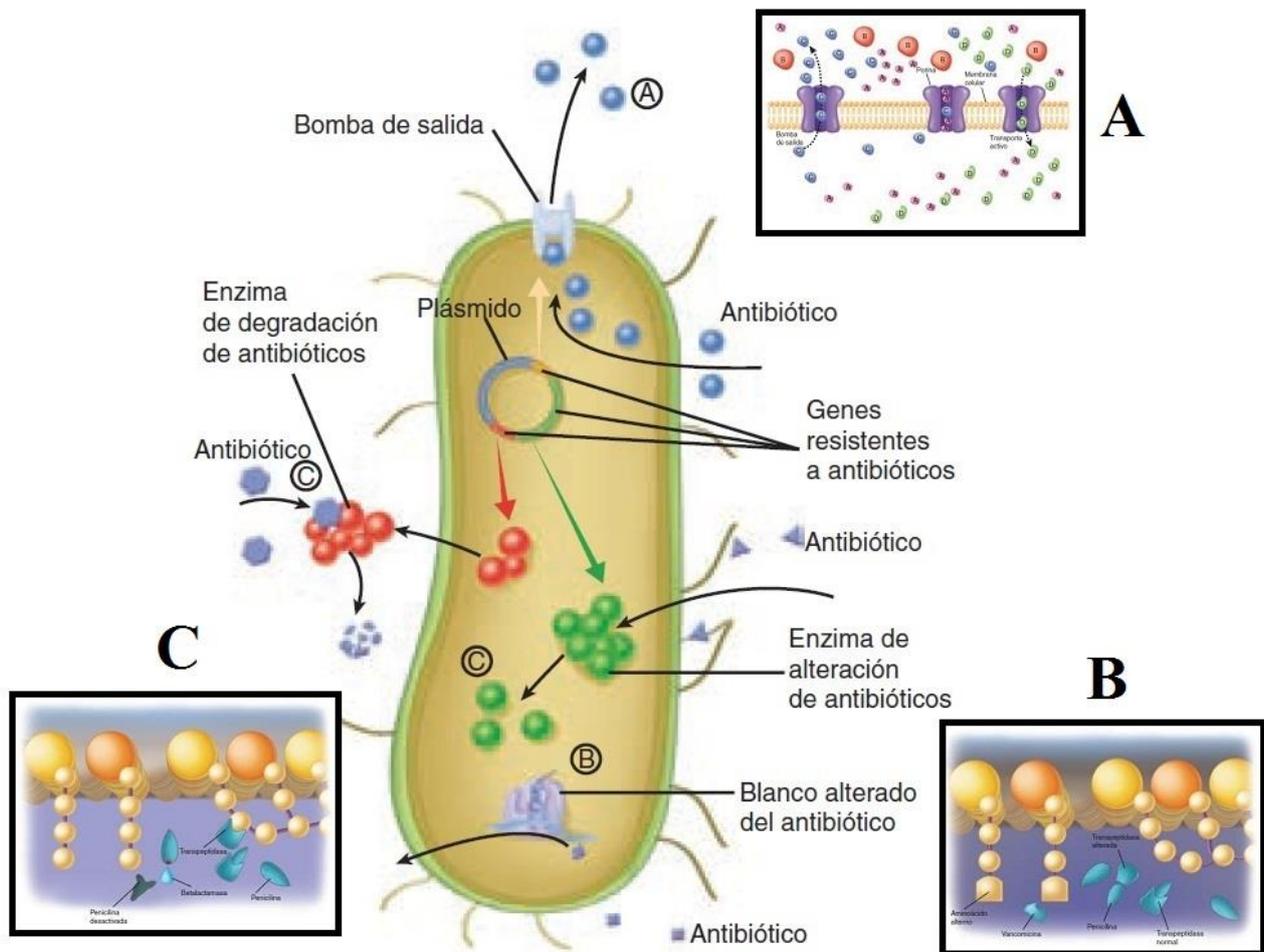


Figura N° 3: Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. **A.** Barrera de exclusión. **B.** Blanco alterado. **C.** Desactivación enzimática.

Fuente: Ryan, Ray. Sherris. Microbiología médica. 5ª Edición. México, DF: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011 Pág. 324.

METODOLOGÍA

Tipo de Investigación

De Campo: se recolectaron las muestras de las diferentes zonas del Río Chibunga, se aislaron e identificaron las bacterias patógenas y su resistencia antimicrobiana

No Experimental: no se manipuló las variables, es decir, no se alteraron las condiciones existentes.

Descriptiva: se recolectó la información de manera conjunta sobre las variables de estudio, ya que, se describió la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas presentes en las aguas de riego del Río Chibunga.

Corte Transversal: se ejecutó en un lugar delimitado (regadíos del Río Chibunga) y tiempo específico, durante el período de mayo a julio del año 2018.

Carácter Cualitativo: se realizó una descripción de las variables de estudio con categorías de análisis, buscando determinar la existencia de resistencia antimicrobiana en las bacterias patógenas aisladas del Río Chibunga.

Método Inductivo: se parte de lo particular a lo general, es decir, de la observación para proyectar una teoría.

Determinación de la Población y Muestra

Población: 51 colonias bacterianas aisladas de las aguas de riego del Río Chibunga.

Muestra: 18 bacterias patógenas identificadas.

Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

Técnicas: Observación.

Instrumentos: Guía de Observación, Cámara Fotográfica.

Procedimiento

Materiales: Sistema de triple embalaje (frascos estériles, gradilla, caja transportadora de muestras), demográfico, asas de platino, asas de vidrio, Micropipetas variables Monlab[®] automáticas, puntas amarillas y azules, pipetas de Pasteur, mechero de Bunsen, platos Mono y TriPetri Phonix[®] estériles, placas portaobjetos, probeta de 250mL Brand[®], Erlenmeyer de 500 y 1000mL Boeco[®], Vasos de precipitación de 50, 100 y 200 mL Boeco[®], Hisopos

estériles, Tubos con aditivos BD[®], Tiras indicadoras de pH, Termómetro, Regla.

Equipos: Cámara de Flujo Laminar Biobase[®], Estufa bacteriológica memmert[®], Autoclave Tuttnauer[®], Microscopio, Refrigeradora, Balanza analítica, Plancha de calentamiento Cimarec[®], Computador portátil, Cámara fotográfica.

Reactivos: Agua destilada, agua oxigenada, suero fisiológico, colorantes cristal violeta, lugol, safranina, decolorante Alcohol-cetona, Agar sangre Himedia[®], Agar McConkey Himedia[®], Agar CLED Difco[™], Agar SS Himedia[®], Agar TCBS Difco[™], Agar Urea Himedia[®], Agar Citrato de Simmons Himedia[®], Agar SIM Himedia[®], Agar LIA Difco[™], Agar Kliger Difco[™], Discos Antibiograma Thermo scientific[®], tiras de oxidasa, Aceite de inmersión, Alcohol.

Identificación del Área de Estudio y Toma de las Muestras

En este trabajo se utilizaron muestras de agua de regadío del río Chibunga, cuya microcuenca se localiza en la Provincia de Chimborazo y tiene una longitud aproximada de 14 km, limita al Norte con comunidades del cantón Riobamba; al Sur con el cantón Chambo; al Este: cantón Riobamba; al Oeste: cantón Colta⁵⁴ (Anexo N° 1, Figura N° 4).

Toma de muestra

Previo a la toma de la muestra, se identificó cada uno de los lugares, así como la altitud, temperatura ambiente, temperatura del agua y pH. Se usaron frascos estériles de plástico, llenándose las 3/4 partes del mismo. Para realizar la recogida del agua se colocó el frasco en contra corriente, y se realizaron tres lavados con la misma agua antes de tomar la muestra final, luego se procedió a taponar el recipiente y se realizó su respectiva codificación. El muestreo fue por duplicado. Las muestras de agua fueron transportadas mediante Sistema de triple embalaje, al Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, UNACH donde se realizó su respectivo análisis microbiológico (Anexo 8, Imagen N° 6 – 13).

Tabla N° 3: Descripción de Ubicación y Altitud en Cada Estación de Muestreo

<i>Estaciones de muestreo</i>	<i>Ubicación</i>	<i>Altitud</i>
1. Santa Martha	Cruce del Río a 100 m de la Y, bajo el puente	3400m
2. Shobol-Llinllin	Canales de riego a lado de la carretera estatal (100 m del puente)	3300m
3. San Juan	Canal de riego "Guabug Nunkata" (250 m de la Y)	3240m
4. Calpi	Canal de riego a 100 m del cementerio.	3100m
5. Ricpamba	Canal de riego que atraviesa el puente a 200 m de la entrada.	2480m
6. Parque lineal Chibunga	Cruce del Río bajo el puente, frente al parqueadero.	2380m
7. San Luis	Cruce del Río a 50 m del puente, frente a fábrica de lácteos.	2680m

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll.

Aislamiento de las Bacterias Patógenas Presentes en las Muestras.

Una vez que las muestras fueron trasladadas al laboratorio y con el propósito de evitar posibles contaminaciones, se procedió a realizar el análisis con las debidas precauciones y manteniendo una asepsia extrema, se utilizó una cámara de flujo laminar que se desinfectó con alcohol al 70% y luz UV durante 20 minutos (Anexo 8, Imagen N° 14, 15 y 16).

Preparación de Medios de Cultivo.

Se seleccionaron los agares: Cistina Electrolito Deficiente (CLED) Difco™, Sangre Himedia®, McConkey Himedia®, Salmonella-Shigella (SS) Himedia®, Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS) Difco™ y Müller Hinton Difco™; que fueron preparados según instrucciones del fabricante.

Todos los medios a excepción de SS y TCBS, fueron autoclavados a 15 psi a 121° C durante 15 minutos, se enfrió y colocó en las placas petri phonix® estériles, con un volumen aproximado de 15 mL sobre una superficie horizontal. Finalmente se dejó solidificar el medio de cultivo y las placas de cultivo se almacenaron en fundas de plástico a una temperatura de 2-8 °C.

Técnica para el aislamiento de las colonias

La técnica utilizada en el cultivo inicial fue mediante siembra por arrastre o dispersión en agar CLED Difco™, seguidamente se incubó en posición invertida a 37°C durante 24 horas en aerobiosis y microaerofilia. El aislamiento de las colonias se realizó a través de resiembra, donde se obtuvo colonias puras, usando la técnica de agotamiento en agar Sangre Himedia®, McConkey Himedia®, SS Himedia®, y se incubó a 37°C en posición invertida durante 24 horas.

Técnica de Gram

Se colocó una gota de suero fisiológico en una placa porta objetos limpia. De la colonia pura se recogió una muestra con un palillo estéril, se realizó el extendido sobre la gota de suero fisiológico que pusimos en la placa porta objetos. Se fijó la muestra someténdola al calor (se flameó tres veces aproximadamente). Para la coloración se siguió el protocolo tradicional de Hans Christian Gram: cubrir con cristal violeta por un minuto, añadir lugol por un minuto, decolorar con alcohol acetona durante 30 segundos y finalmente adicionar safranina o fucsina básica por un minuto (cabe recalcar que luego de la adición de cada reactivo se procedió a enjuagar con agua). Se dejó secar las placas al ambiente y las observamos al microscopio óptico a 100 X con aceite de inmersión⁵⁵.

Pruebas Bioquímicas para la Identificación Bacteriana.

Para la identificación de las bacterias patógenas aisladas de las muestras de agua de regadío del Río Chibunga, se utilizaron diversas pruebas bioquímicas. Las bacterias grampositivas crecidas

en agar Sangre Himedia[®], se les realizó las pruebas de catalasa, bilisesculina, hemólisis y motilidad. Las bacterias gramnegativas que crecieron en el agar McConkey se observó fermentación de lactosa y se les realizó pruebas de: oxidasa, y bioquímicas que incluyeron Kliger, Ureasa, Citrato, LIA (Lisina Hierro agar), SIM (Sulfuro, Indol, Motilidad) y pruebas confirmatorias como: fermentación de sacarosa, crecimiento en agar TCBS (Tiosulfato citrato bilis sacarosa), Esculina, NaCl 6%, producción de pioverdina.

Medición de Resistencia Antibiótica en Bacterias Patógenas

Luego de identificar cada una de las bacterias aisladas, se procedió a evaluar la resistencia y susceptibilidad a diferentes antibióticos. Se utilizó el ensayo de difusión en agar, prueba esencialmente cualitativa que determina si un microorganismo es sensible, intermedio o resistente a los antimicrobianos probados⁵⁶.

Se utilizaron: amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), ceftazidima (CAZ), aztreonam (ATM), ciprofloxacino (CIP), ácido nalidíxico (W), gentamicina (GE), imipenem (IPM), Trimetoprim-Sulfametoxazol (SXT), colistin (CT), tetraciclina (TE), cloranfenicol (C), teicoplanina (TEC), vancomicina (VA), penicilina (P) y gentamicina de alta carga (CN). Por medio del método de Kirby Bauer que comprende la preparación del medio de cultivo Agar Müeller Hinton (MH) deshidratado y la preparación de una dilución en NaCl 0,9% de cada colonia bacteriana aislada para compararlo a 0,5 de turbidez con el patrón McFarland que corresponde un $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Se embebió un hisopo en la suspensión bacteriana y se sembró en MH en 3 direcciones de manera que quedó uniformemente distribuido en un ángulo de 60°. Se colocaron los discos de sensibilidad con pinza estéril a 15 mm del borde y 20 mm de equidistancia. Las placas se incubaron de forma invertida a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas y la lectura de resultados se realizó mediante el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio “CLSI” por sus siglas en inglés, guía internacional que mide la inhibición: Resistente (R), Sensible (S) o Intermedio (I).

El mismo procedimiento se realizó para el control de calidad con cepas ATCC o American Type Culture Collection; organización que recolecta, almacena y comercializa microorganismos de referencia estándar.

Análisis Estadístico de Datos

Se realizaron tablas descriptivas de los resultados obtenidos con frecuencia y porcentaje en la aplicación de hojas de cálculo que pertenece al sistema operativo Microsoft Office 2013.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se seleccionaron siete estaciones para la toma de muestra de las aguas de regadío del Río Chibunga, tomando en cuenta los sectores agrícolas. Los puntos seleccionados corresponden a: Santa Martha, Shobol-Llinllin, San Juan, Calpi, Ricpamba, Parque lineal Chibunga y San Luis.

En la Tabla N° 4 se presenta los datos de temperatura y pH obtenidos de las aguas del regadío del Río Chibunga de acuerdo a cada estación de muestreo, observándose que la temperatura del agua en Santa Martha corresponde a 9°C, Shobol-Llinllin 10°C, San Juan 13°C, Calpi 14°C, Ricpamba 15°C, Parque lineal Chibunga y San Luis 16°C. El pH fue 8 en todas las estaciones de muestreo.

Tabla N° 4: Datos de temperatura y pH obtenidos de las aguas del regadío del Río Chibunga de acuerdo a cada estación de muestreo

Estaciones de muestreo	TAmbiente (°C)	TAgua (°C)	pH
1. Santa Martha	12	9	8
2. Shobol-Llinllin	13	10	8
3. San Juan	17	13	8
4. Calpi	18	14	8
5. Ricpamba	20	15	8
6. Parque lineal Chibunga	22	16	8
7. San Luis	22	16	8

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll.

En el caso de las bacterias patógenas responsables de las enfermedades de transmisión hídrica tienen una temperatura óptima de crecimiento correspondiente a 37°C, sin embargo, estos patógenos puede crecer en temperaturas desde 5° C a 65° C; a temperaturas bajas (<5°C) la membrana se vuelve más rígida y se disminuye el metabolismo, mientras que, a altas temperaturas (>65°C) se desnaturalizan los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos⁵⁷. El pH del agua en condiciones normales es neutro; las bacterias patógenas crecen a pH neutro o alcalino, es decir que, el medio acuático es muy susceptible a la contaminación bacteriana^{33,57}.

Se identificaron 18 bacterias patógenas diferentes de un total de 51 colonias aisladas, mediante pruebas fisiológicas y bioquímicas para gramnegativas y grampositivas (Anexo 2 y 3).

En la Tabla N° 5 se muestra la distribución porcentual de los aislados bacterianos según la coloración Gram, observándose en bacterias gramnegativas 17 (94,4%) representantes. En el grupo de Gram positivas se logró aislar 1 (5,6%) representante.

Tabla N° 5: Distribución porcentual de los aislados bacterianos según la coloración de Gram

Coloración Gram	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Gram Negativas	17	94,4
Gram Positivas	1	5,6
Total	18	100%

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll.

Ríos Tobón et al, y Bergey^{32,58}, confirman nuestros hallazgos, ya que plantean que las bacterias patógenas contaminantes del agua en su mayoría son de tipo gramnegativas, por lo general las provenientes de la microbiota intestinal. De acuerdo a estos autores las bacterias grampositivas no son frecuentes en aguas, pero existen algunos géneros como el *Enterococcus* que es indicador de contaminación fecal³².

En la Tabla N° 6 se presentan las bacterias patógenas aisladas de las aguas de regadío del Río Chibunga, observándose que la familia Enterobacteriaceae agrupó 13 (72,2%) especies diferentes, *Aeromonas* 2 (11,1%), *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Enterococcus* 1 (5,6%).

Tabla N° 6: Bacterias patógenas aisladas de las aguas de regadío del Río Chibunga

Hallazgo Bacteriano		Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	13	72,2
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
	<i>Enterobacter cloacae</i>		
	<i>Proteus mirabilis</i>		
	<i>Proteus vulgaris</i>		
	<i>Citrobacter diversus</i>		
	<i>Citrobacter freundii</i>		
	<i>Serratia marcescens</i>		
	<i>Hafnia alvei</i>		
	<i>Morganella morganii</i>		
	<i>Salmonella enterica</i>		
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>		
	<i>Yersinia enterocolitica</i>		
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	5,6
<i>Aeromonas</i>	<i>Aeromonas caviae</i>	2	11,1
	<i>Aeromonas hydrophila</i>		
<i>Vibrio</i>	<i>Vibrio</i> spp.	1	5,6
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	1	5,6
Total		18	100%

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll

Las bacterias patógenas que predominaron son pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, y otros bacilos gramnegativos asociados a cuadros clínicos de gastroenteritis (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrios*), mientras que en menor frecuencia se aislaron cocos grampositivos pertenecientes al género *Enterococcus*.

Rios Tobon et al.³², confirman en su trabajo que las bacterias implicadas en enfermedades de transmisión hídrica son del género *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Enterococcus* (como indicativos de contaminación fecal), así mismo, el género *Pseudomonas*, *Aeromonas* y *Vibrio* son comunes en medios acuáticos, por lo tanto son transmitidas mediante el consumo de aguas contaminadas³². *Pseudomonas* es común en ecosistemas acuáticos debido a su versatilidad respecto a fuentes de carbono y a sus bajos requerimientos nutricionales, posee una densa capa de polisacáridos que actúa como barrera fisicoquímica³².

En la Tabla N° 7 se presenta la distribución de especies de bacterias patógenas de acuerdo al punto geográfico o estación de muestreo, observándose que en el sector Santa Martha y Calpi fueron encontradas 6 (15,8%) especies, Shobol-Llinllin 5 (13,2%), San Juan 4 (10,5%), Ricpamba 3 (7,9%), en el Parque lineal Chibunga y en San Luis 7 (18,4%) especies.

Tabla N° 7: Distribución de especies de bacterias patógenas aisladas de acuerdo al punto geográfico

Estación de muestreo	Bacterias patógenas															Frecuencia (n)	Porcentaje (%)			
	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. diversus</i>	<i>C. freundii</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>H. abei</i>	<i>M. morganii</i>	<i>S. enterica</i>	<i>P. shigelloides</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. caviae</i>			<i>A. hydrophila</i>	<i>Vibrio spp.</i>	<i>Enterococcus spp.</i>
Santa Martha	1		1			1				1				1				1	6	15,8
Shobol-Llinllin	1								1		1	1	1						5	13,2
San Juan	1	1										1	1						4	10,5
Calpi	1			1			1	1			1		1						6	15,8
Ricpamba				1									1		1				3	7,9
Parque lineal Chibunga	1			1	1				1	1			1			1			7	18,4
San Luis	1				1	1		1	1				1	1					7	18,4
Total																		38	100	

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll.

El Parque lineal Chibunga y San Luis son los sectores con mayor hallazgo de especies bacterianas con un porcentaje de 18,4%, seguido de Santa Martha y Calpi con 15,8%; datos que corroboran que estas aguas albergan varias especies patógenas que causan daño al ser humano. Algunos autores describen que en Shobol, San Juan, Gatazo, Parque lineal Chibunga y San Luis existe alerta de contaminación a causa de la exagerada cantidad de coliformes^{54,59}, correspondiente a la presencia de *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*.

Es importante mencionar el hallazgo en el Parque lineal Chibunga de *Salmonella enterica* y *Vibrio* spp., porque en la actualidad no se encuentran reportes de su presencia en la zona. Cabe recalcar, que estas bacterias son patógenos de importancia clínica, que pueden causar enteritis, fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea, bacteriemia o eliminar toxinas que afectan al ser humano produciéndose disentería leve, hasta una diarrea grave y rápidamente mortal^{35,41}.

Se midió la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas aisladas de las aguas del regadío del Río Chibunga. El antibiograma se interpretó fenotípicamente de acuerdo a la guía internacional Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) para medir sensibilidad y resistencia a los antibióticos (Anexo 4 y 5).

En la Tabla N° 8 se muestra el patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos de bacterias patógenas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, observándose que *P. shigelloides* presentó múltiple resistencia a 5/8 antibióticos evaluados, seguido de *M. morgani* que fue resistente a 3/8, *C. freundii*, *H. alvei* y *S. enterica* fueron resistentes a 2 antibióticos.

Tabla N° 8: Patrón de susceptibilidad y resistencia de bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae según la guía internacional CLSI

Microorganismo	GE	IPM	SXT	CAZ	AMC	ATM	W	CIP
<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	S	S	R	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Proteus vulgaris</i>	S	S	S	S	S	S	R	S
<i>Proteus mirabilis</i>	S	S	S	S	S	S	R	S
<i>Citrobacter freundii</i>	R	S	S	S	R*	S	R	S
<i>Citrobacter diversus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Serratia marcescens</i>	S	S	S	S	R*	S	S	S
<i>Hafnia alvei</i>	S	S	S	S	R	S	R	S
<i>Morganella morgani</i>	R	S	R	S	R*	S	R	S
<i>Salmonella enterica</i>	R	S	S	S	S	S	R	S
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	S	S	R	R	S	R	R	R

AMC: amoxicilina/clavulánico; W: ácido nalidíxico; GE: gentamicina; IPM: imipenem; SXT: trimetoprim-sulfametoxazole; CAZ: ceftazidima; ATM: aztreonam; CIP: ciprofloxacino. R*: resistencia natural

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll.

Los resultados obtenidos muestran que *P. shigelloides*, *M. morganii*, *C. freundii* y *S. enterica* presentaron mayor resistencia a los antibióticos probados. Es importante destacar que en las cepas de *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *C. freundii*, *H. alvei*, *M. morganii*, *S. enterica* y *P. shigelloides* se pudo detectar fenotípicamente mecanismos de resistencia frente a las quinolonas (**Imagen N°1**), como muestra la resistencia que se observa al ácido nalidíxico y a ciprofloxacina⁵², lo que sugiere que posiblemente ocurrieron mutaciones a nivel de los genes *gyrA* y *parC* que codifican para la subunidad A de la ADN girasa y la subunidad C de la topoisomerasa IV⁶⁰, confiriendo resistencia a este grupo de antibióticos.



Imagen N° 1: Antibiograma de *Salmonella enterica*

Otro punto a resaltar es que la cepa de *H. alvei* mostró fenotípicamente otro mecanismo de resistencia que sugiere la presencia de enzimas resistentes a los inhibidores de betalactamas (IRT)⁶⁰ (**Imagen N°2**) como muestra la resistencia a amoxicilina/clavulánico.

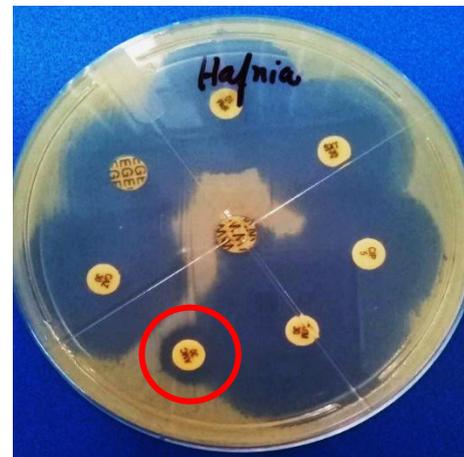


Imagen N° 2: Antibiograma de *Hafnia alvei*

El hallazgo de resistencia a cefalosporinas y monobactámicos representado por resistencia a ceftazidima y aztreonam, se evidenció fenotípicamente



Imagen N° 3: Antibiograma de *Plesiomonas shigelloides*

por la formación de un aparente “efecto huevo” que se interpreta como producción β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)⁵¹, entre el inhibidor amoxicilina/clavulánico y aztreonam (**Imagen N° 3**).

De acuerdo a Navarro et al.⁵², las enterobacterias *C. freundii*, *M. morganii*, *S. marcescens* son naturalmente resistentes a la asociación de amoxicilina/clavulánico por ende la resistencia que presentan estas cepas no tiene importancia clínica.

En la Tabla N° 9 se presenta el patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos de otra enterobacteria patógena y demás bacterias gramnegativas asociadas a cuadros de gastroenteritis, observándose que *Pseudomonas aeruginosa* muestra resistencia a los antibióticos aztreonam y ácido nalidíxico, mientras que, *Y. enterocolitica*, *A. hydrophila*, *A. caviae* y *Vibrio* spp. se muestran sensibles a todos los antibióticos probados.

Tabla N° 9: Patrón de Susceptibilidad y Resistencia de otra enterobacteria patógena y demás bacterias gramnegativas asociadas a cuadros de gastroenteritis según la guía Internacional CLSI

Microorganismo	CAZ	CIP	W	GE	IPM	SXT	TE	C	CT	ATM
<i>Yersinia enterocolitica</i> **	-	S	-	S	-	S	S	S	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S	S	R	S	S	-	-	-	S	R
<i>Aeromonas hydrophila</i>	S	S	-	S	S	S	S	-	S	S
<i>Aeromonas caviae</i>	S	S	-	S	S	S	S	-	S	S
<i>Vibrio</i> spp.	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-

** : enterobacteria; CAZ: ceftazidima; CIP: ciprofloxacino; GE: gentamicina; IPM: imipenem; SXT: sulfaprim-sulfametoxazole; TE: tetraciclina; C: cloranfenicol; CT: colistín; ATM: aztreonam; W: ácido nalidíxico.

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede decir que *P. aeruginosa* mostró fenotípicamente mecanismos de resistencia frente a las quinolonas (**Imagen N° 4**), una posible explicación para este hallazgo sería una mutación a nivel del gen *gyrA* que codifica para la subunidad A de la ADN girasa, como muestra la resistencia al ácido nalidíxico y sensibilidad a ciprofloxacina⁶⁰.

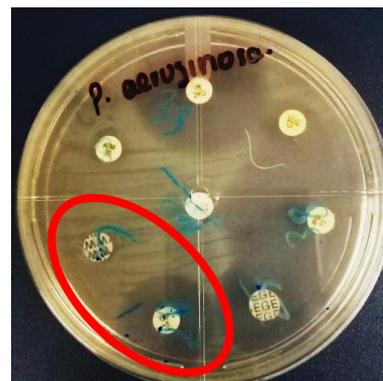


Imagen N° 4: Antibiograma de *Pseudomonas aeruginosa*

En la Tabla N° 10 se presenta el patrón de susceptibilidad y resistencia antimicrobiana del *Enterococcus* spp., observándose resistencia a vancomicina, teicoplanina y penicilina, mientras que, para ciprofloxacino, gentamicina de alta carga y tetraciclina se muestra sensible.

Tabla N° 10: Patrón de Susceptibilidad y Resistencia del *Enterococcus* spp. Según la Guía Internacional CLSI

Microorganismo	CIP	TE	TEC	VA	P	CN
<i>Enterococcus</i> spp.	S	S	R	R	R	S

CIP: ciprofloxacina; TE: tetraciclina; TEC: teicoplanina; VA: vancomicina; P: penicilina; CN: gentamicina de alta carga

Elaborado por: Marcillo K., Mur Ll



Imagen N° 5: Antibiograma del *Enterococcus* spp.

Murray et al.⁵¹, confirman que algunas especies de enterococos han adquirido resistencia a la vancomicina, lo que les confiere una característica de patogenicidad, lo que hace importante el hallazgo, ya que esta cepa fue resistente a antibióticos de relevancia clínica como es vancomicina y teicoplanina (**Imagen N° 5**), lo que podría explicar que posiblemente existe una mutación en el gen *vanA* que codifica la resistencia a los glucopéptidos⁵¹.

CONCLUSIONES

1. Se establecieron siete puntos geográficos diferentes sobre las aguas del regadío del Río Chibunga. Se consideró de preferencia obtener la muestra de los lugares donde nacen los canales de riego que tienen como objetivo la agricultura y estos fueron: Santa Martha, Shobol-Llinllin, San Juan, Calpi, Ricpamba, Parque lineal Chibunga y San Luis. Se midió la temperatura y pH en cada estación de muestreo, y sus valores se mostraron óptimos para el crecimiento bacteriano.
2. Se identificó un total de 18 bacterias patógenas procedentes de los diferentes puntos geográficos del regadío del Río Chibunga, mostrándose que en Parque lineal Chibunga y San Luis se encuentra el 18,4% de especies bacterianas. Las bacterias fueron identificadas mediante pruebas fisiológicas y bioquímicas para gramnegativas y grampositivas. Los aislados bacterianos son los siguientes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas* (*A. hydrophila* y *caviae*), *Vibrio* spp., *Enterococcus* spp, y 13 cepas agrupadas como enterobacterias (*E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *C. freundii*, *C. diversus*, *S. enterica*, *M. morgani*, *H. alvei*, *S. marcescens*, *Y. enterocolitica*, *P. shigelloides*).
3. Se midió la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas y fenotípicamente los resultados para gramnegativas fueron la sugerencia de posibles mecanismos de resistencia de tipo IRT y mutaciones en genes *gyrA* y *parC* a causa de la resistencia al inhibidor amoxicilina/clavulánico, y resistencia al ácido nalidíxico y ciprofloxacino, respectivamente. *Pseudomonas shigelloides* fenotípicamente sugirió la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), por la resistencia a aztreonam y ceftazidima, y la formación de un “efecto huevo” entre amoxicilina/clavulánico y aztreonam. En el caso de las grampositivas, *Enterococcus* spp. fenotípicamente mostró resistencia a vancomicina y teicoplanina, lo que sugiere que a nivel molecular existe una posible mutación en el gen *vanA*, que codifica la resistencia a los glicopéptidos. Estos resultados conllevan a decir que el Río Chibunga está contaminado por bacterias patógenas resistentes a antibióticos de uso clínico, que podrían ser fuente de infecciones para las comunidades adyacentes al mismo.

RECOMENDACIONES

1. En las aguas de regadío del Río Chibunga se encontraron microorganismos patógenos resistentes a antibióticos, lo cual es alarmante; se sugiere que se debe establecer una mayor vigilancia por el Ministerio de Salud Pública y Ministerio del Ambiente, del uso que se les da a estas aguas.
2. La implementación de una planta de tratamiento que reduzca la materia orgánica e inorgánica sería beneficioso para mejorar la calidad de estas aguas utilizadas para la agricultura.
3. Se recomienda sensibilizar a la población informando sobre la amenaza que representa el manipular este tipo de aguas sin medidas higiénico-sanitaria, ya que podría haber repercusiones para la salud; y educando para cambiar conductas como arrojar desperdicios sin ningún impedimento, así como prácticas de realizar necesidades biológicas dentro o fuera del Río Chibunga.
4. Se sugiere continuar investigaciones de este tipo de manera que se verifique la presencia de poblaciones bacterianas resistentes a antibióticos de uso clínico; sería favorable que para la identificación bacteriana se utilice baterías API o equipos automatizados que brinden una mejor clasificación por género y especie.
5. Es importante fomentar a la sociedad el uso razonado de antibióticos, para disminuir la problemática de resistencia que día a día se acrecienta.
6. Se recomienda realizar estudios de resistencia antimicrobiana a nivel molecular, para corroborar los hallazgos de mecanismos de resistencia en las bacterias patógenas presentes en el regadío de Río Chibunga.

BIBLIOGRAFÍA

1. Caballero S. El agua, líquido vital en el Ser Humano [Internet]. 2016 [citado 8 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.verdelive.com/noticias/agua-liquido-vital-importancia-humano/>
2. Khokhar T. Gráfico: A nivel mundial, el 70 % del agua dulce es utilizada para la agricultura | The Data Blog [Internet]. 2017 [citado 8 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://blogs.worldbank.org/opendata/dmblog/es/el-70-del-agua-dulce-es-utilizada-para-la-agricultura>
3. Claudio R, Nathanael D, Mark P. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2015;32(1):139–45. Disponible en: /scielo.php?script=sci_arttext&pid=&lang=pt
4. Jaimes Morales J, Acevedo Barrios R, Severiche Sierra C. Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *Prod más Limpia* [Internet]. 2016;10(2):160–72. Disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/pl/article/view/906>
5. Diwan V, Purohit M, Chandran S, Parashar V, Shah H, Mahadik VK, et al. A three-year follow-up study of antibiotic and metal residues, antibiotic resistance and resistance genes, focusing on Kshipra—A river associated with holy religious mass-bathing in India: Protocol paper. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(6):1–13.
6. Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021-Toda una Vida [Internet]. Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo - Senplades 2017 p. 53–4. Disponible en: www.planificacion.gob.ec
7. Song Q, Zhang D, Gao H, Wu J. *Salmonella* Species' Persistence and Their High Level of Antimicrobial Resistance in Flooded Man-Made Rivers in China. *Microb Drug Resist* [Internet]. 2018;00(00):mdr.2017.0316. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2017.0316>
8. Sukumaran D, Mohamed Hatha AA. Antibiotic resistance and virulence genes of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from tropical estuary, south India. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2015;9(05):496. Disponible en: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/25989169>
9. Sánchez M del P, Gutiérrez NP, Padilla MY, Suárez LL. Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué, Colombia. *Rev Univ Salud* [Internet]. 2015;17(1):18–31. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v17n1/v17n1a03.pdf>
10. Kürekci C, Aydin M, Yipel M, Katouli M, Gündogdu A. Characterization of extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in Asia (Orontes) River in Turkey. *J Water Health*. 2017;15(5):788–98.
11. Messele YE, Abdi RD, Yalew ST, Tegegne DT, Emeru BA, Werid GM. Molecular determination of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from raw meat in Addis Ababa and Bishoftu, Ethiopia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2017;16(1):1–9.
12. Hladicz A, Kittinger C, Zarfel G. Tigecycline resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from Austrian river water. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(10):11–3.

13. Piedra Carrasco N, Fàbrega A, Calero Cáceres W, Cornejo Sánchez T, Brown Jaque M, Mir Cros A, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae recovered from a Spanish river ecosystem. PLoS One. 2017;12(4):1–11.
14. Cho S, Hiott LM, Barrett JB, McMillan EA, House SL, Humayoun SB, et al. Prevalence and characterization of *Escherichia coli* isolated from the upper oconee watershed in Northeast Georgia. PLoS One. 2018;13(5):1–15.
15. Romeu Álvarez B, Salazar Jiménez P, Lugo Moya D, Rojas Hernández NM, Eslava Campos CA. Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de ecosistemas dulceacuícolas. Antimicrob susceptibility *Escherichia coli* Isol from river water Ecosyst [Internet]. 2012;64(2):132–41. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=82789182&lang=es&site=ehost-live>
16. De Menezes FGR, Rodriguez MTT, De Carvalho FCT, Rebouças RH, Costa RA, De Sousa O V, et al. Pathogenic *Vibrio* species isolated from estuarine environments (Ceará, Brazil) -antimicrobial resistance and virulence potential profiles. An Acad Bras CiencAnnals Brazilian Acad Sci [Internet]. 2017;89(892):1175–88. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720160191%0Awww.scielo.br/aabc>
17. Nuñez L, Tornello C, Puentes N, Moreton J. Bacterias resistentes a antibióticos en aguas grises como agentes de riesgo sanitario. Rev Ambient Água-An Interdiscip J Appl Sci. 2012;7(1):235–43.
18. Campaña A, Gualoto E, Chiluisa-Utreras V. Evaluación físico-química y microbiológica de la calidad del agua de los ríos Machángara y Monjas de la red hídrica del distrito metropolitano de Quito. Bionatura [Internet]. 2017;2(2):305–10. Disponible en: <http://revistabionatura.com/2017.02.02.6.html>
19. Troya C, Herrera D, Guevara A, Obregón M, Gaus D, Larcos D, et al. Monitoreo local de resistencia a los antibióticos en *Escherichia coli* en una zona rural de Ecuador: más allá del modelo Biomédico. Práctica Fam Rural [Internet]. 28 de marzo de 2016 [citado 8 de septiembre de 2018];1(1). Disponible en: <http://ojssalud.saludesa.org.ec/index.php/saludrural/article/view/128/190>
20. Villagómez Estrada S, Logacho Pilataxi M, Vinueza Burgos C. Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de *Salmonella enterica* aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. Rev Ecuat Med Cienc Biol [Internet]. 30 de mayo de 2017 [citado 8 de septiembre de 2018];38(1):11–24. Disponible en: <http://remcb-puce.edu.ec/index.php/remcb/article/view/17>
21. Puyol JF, Razo AG, Pino M. Determinación de la calidad de agua del sistema de riego “Chi-Pungales” y su incidencia en la producción de maíz de la comunidad Pungal Santa Marianita del cantón Guano [Internet]. 2016. 1-105 p. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1381/1/UNACH-EC-AGR-2016-0002.pdf>
22. Almendariz A, Medina G. Análisis Microbiológico de las aguas del Parque de las Fuentes del cantón Guano, perteneciente a la provincia de Chimborazo. 2017. 66 p.
23. Veintimilla A, Andueza F. Estudio Microbiológico de las aguas termales de Guayllabamba o Aguallanchí situadas en el cantón Chambo, provincia de Chimborazo. 2015.
24. Estudiantes de Epoch recuperan el Río Chibunga con bacterias [Internet]. Diario, El

- Telégrafo. 2017 [citado 17 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/estudiantes-de-esPOCH-recuperan-el-rio-chibunga-con-bacterias>
25. Metales pesados y grasas hallados en río Chibunga [Internet]. Diario, El Telégrafo. 2013 [citado 17 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/metales-pesados-y-grasas-hallados-en-rio-chibunga>
 26. Grijalva J., J. Riofrío DA y RR. Árboles y Arbustos para la Conservación de Microcuencas Alto Andinas y Adaptación al Cambio Climático. Microcuenca del Río Chimborazo [Internet]. NINA Comun. Luis Rodríguez, Esteban Falconí, Ivan Reinoso MR, editor. Quito; 2010 [citado 16 de septiembre de 2018]. 1-2 p. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=f4MzAQAAMAAJ&pg=PA21&lpg=PA21&dq=Unidad+Técnica+-+INIAP+Chimborazo;+Programa+Nacional+de+Forestería&source=bl&ots=ge_hs5zTW7&sig=ptvH0XZuJSuRMfrChl0ZzQZcCFc&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjY-tS90sDdAhVSmVkJHQZhCIEQ6AE
 27. El Chibunga, uno de los ríos más contaminados del país [Internet]. Diario, El Telégrafo. 2013 [citado 16 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/el-chibunga-uno-de-los-rios-mas-contaminados-del-pais>
 28. MAE. MAE recolecta 2 267 kg de desechos las riberas del río Chibunga, Chimborazo | Ministerio del Ambiente [Internet]. Ministerio del Ambiente. 2017 [citado 16 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/mae-recolecta-2-267-kg-de-desechos-las-riberas-del-rio-chibunga-chimborazo/>
 29. Leiton Soubannier JS. Riego y drenaje. [Internet]. EUNED, editor. Editorial Universidad Estatal a Distancia; 1985 [citado 16 de septiembre de 2018]. 14 p. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=_yuPFwKJ6yWC&printsec=frontcover&dq=Riego+y+drenaje+Soubannier&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwit2qCB38DdAhWOq1kKHZtnD5gQ6AEIjAA#v=onepage&q=Riego+y+drenaje+Soubannier&f=false
 30. Caballero Torres Á, Leyva V, Martino T, Puig Y, Fernández E, García M, et al. Control sanitario de las aguas y bebidas. En: Cheping N, editor. Temas de higiene de los alimentos [Internet]. La Habana: Ciencias Médicas; 2008 [citado 16 de septiembre de 2018]. p. 306–10. Disponible en: <https://sceqa.files.wordpress.com/2012/05/libro-higiene-de-alimentos.pdf>
 31. Basualdo J, Coto C, deTorres R. Acción patógena de los microorganismos. En: Microbiología Biomédica. Segunda ed. Buenos Aires: editorial Atlante s.r.l; 2006. p. 209–10.
 32. Ríos Tobón S, Agudelo-Cadavid R, Gutiérrez-Builes L. Patógenos e Indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo Humano. Rev Fac Nac Salud Pública [Internet]. 2017;35(2):236–47. Disponible en: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/fnsp/article/view/26353>
 33. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiología ambiental y aplicada. En: Introducción a La Microbiología. 9a edición. Médica Panamericana; 2007. p. 820–4.
 34. Torres ÁE. Control microbiológico de los alimentos. En: Temas de Higiene de los

- Alimentos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2008. p. 25–6.
35. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Enterobacteriaceae. En: Microbiología médica. 8va. edici. Barcelona: Elsevier; 2017. p. 252–64.
 36. Koneman EW, Winn WC. Enterobacteriaceae. En: Koneman Diagnóstico Microbiológico: Texto y Atlas en color. 6ta. edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 205–62.
 37. Ryan KJ, Ray GC. Enterobacterias. En: Sherris Microbiología médica. 5ª Edición. México, D.F.: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011. p. 463–80.
 38. Tortora G, Funke BR, Case CL. Procariontes: Dominios: Bacteria y Archaea. En: Introducción a la microbiología. 9a edición. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2007. p. 313–30.
 39. García PA, Rodríguez MF. Enterobacterias [Internet]. Albacete; 2010 [citado 16 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.elsevierinsituaciones.com>
 40. Ryan KJ, Ray GC. *Pseudomonas* y otros bacilos gramnegativos oportunistas. En: Sherris: microbiología médica. 5ª Edición. México, DF: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011. p. 476.
 41. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Vibrios* y bacterias relacionadas. En: Microbiología médica. 8va edició. Barcelona: Elsevier; 2017. p. 265–71.
 42. Frías-Salcedo JA. El género *Aeromonas* como patógeno humano. Rev Sanid Milit [Internet]. 10 de octubre de 2017 [citado 17 de septiembre de 2018];58(4):321–3. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=74707>
 43. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Pseudomonas* y bacterias relacionadas. En: Microbiología médica. 8va edició. Barcelona: Elsevier; 2017. p. 272–8.
 44. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Enterococcus* y otros cocos grampositivos. En: DRK, editor. Microbiología médica [Internet]. 7.ª ed. Elsevier; 2014 [citado 18 de septiembre de 2018]. p. 205. Disponible en: <http://www.studentconsult.es/bookportal/microbiologia-medica-7/murray/obra/9788490224113/500/4999.html>
 45. Storteboom H, Arabi M, Davis JG, Crimi B, Pruden A. Identification of Antibiotic-Resistance-Gene Molecular Signatures Suitable as Tracers of Pristine River, Urban, and Agricultural Sources. Environ Sci Technol [Internet]. 15 de marzo de 2010 [citado 17 de septiembre de 2018];44(6):1947–53. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20158229>
 46. Acevedo Barrios RL, Severiche-Sierra CA. Identificación de bacterias resistentes a di-bromo-mercurio aisladas de sedimentos en playas de Cartagena de Indias , caribe colombiano. Av Investig en Ing. 2013;10(2):73–9.
 47. Baquero F, Martínez JL, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Curr Opin Biotechnol [Internet]. 1 de junio de 2008 [citado 17 de septiembre de 2018];19(3):260–5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166908000591>
 48. Wellington EM, Boxall AB, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, et al. The role of

- the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis* [Internet]. febrero de 2013 [citado 17 de septiembre de 2018];13(2):155–65. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23347633>
49. Alós JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2015;33(10):692–9. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X14003413>
 50. Tortora G, Funke BR, Case CL. Fármacos antimicrobianos. En: *Introducción a la Microbiología*. 9na edición. Médica Panamericana; 2007. p. 582–94.
 51. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Agentes antibacterianos. En: *Microbiología médica*. 8va edición. Barcelona; 2017. p. 162–9.
 52. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernandez-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(7):524–34.
 53. Ryan KJ, Ray CG, Sherris JC. Fármacos Antibacterianos y Resistencia. En: *Sherris Microbiología médica*. 5ª Edición. México, DF: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011. p. 776.
 54. Jaque Castellano E, Potocí Guerrero C, Veloz N. Evaluación del Índice de Calidad de Agua (ICA) de la microcuenca del Río Chibunga, en variaciones estacionales, provincia de Chimborazo – Ecuador, durante el período 2014 [Internet]. Facultad de Ciencias. 2015. 167 p. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4077>
 55. Rodríguez PA, Arenas R. Hans Christian Gram y su tinción Hans Christian Gram and His Staining [Internet]. 2018 [citado 13 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
 56. Basualdo JA, Coto CE, De Torres RA. Estrategias y técnicas básicas de eliminación y control de microorganismos. En: Noriega F, editor. *Microbiología Biomédica: Bacteriología, Micología, Virología, Parasitología, Inmunología* [Internet]. 2da edición. Buenos Aires: Editorial Atlante; 2006 [citado 17 de septiembre de 2018]. p. 200–2. Disponible en: <https://booksmedicos.org/microbiologia-microbiologia-biomedica/>
 57. Madigan MT, Brock TD, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH (Daniel H, Stahl DA, et al. Brock. *Biología de los microorganismos* [Internet]. 14va edición. Pearson; 2015 [citado 18 de septiembre de 2018]. 1132 p. Disponible en: http://www.ingebook.com/ib/NPcd/IB_BooksVis?cod_primaria=1000187&codigo_libro=5850
 58. Bergey DH. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology - Vol 4: Bacteroidetes* [Internet]. 4ta edición. Springer-Verlag New York Inc. Estados Unidos: Athens; 2010. 949 p. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-68572-4>
 59. Tierra F, Espinoza C. “Evaluación De La Calidad Física, Química Y Microbiológica Del Agua De Consumo Humano De La Parroquia De San Luis, Cantón Riobamba, Provincia De Chimborazo [Internet]. 2015. 100 p. Disponible en: www.esPOCH.edu.ec
 60. Martínez P, Máttar S. Mutación en el gen *gyrA* de aislamientos hospitalarios de *Acinetobacter baumannii* en Montería, Colombia. *Infectio* [Internet]. 2010;14(2):97–104. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939210700977>

Anexos

Anexo N° 1: Localización geográfica de las estaciones para la toma de muestra en las aguas del regadío del Río Chibunga.

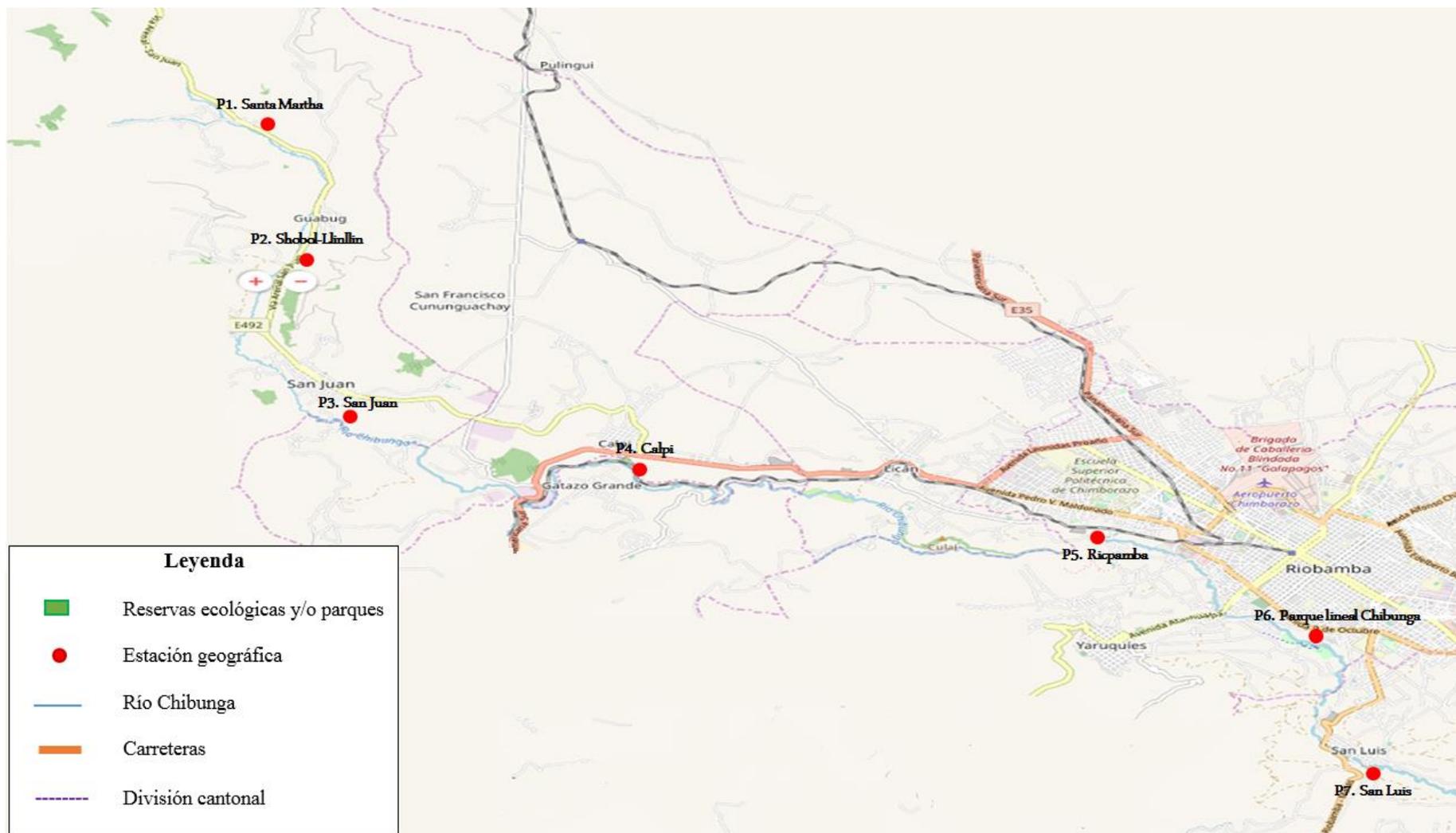


Figura N° 4: Localización de las Estaciones de Muestreo a lo largo de la Microcuenca del Río Chibunga

Fuente: UbicaEcuador.com

Anexo N° 2: Tabla de Resultados de las pruebas Fisiológicas y Bioquímicas de bacterias Gram positivas realizadas en la identificación de *Enterococcus* spp.

Microorganismo	CAT	MOT	Hlisis	Biesc
<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	α	+++

CAT: catalasa; MOT: motilidad; Hlisis: hemolisis en agar sangre; Biesc: bilisesculina

Anexo N° 3: Resultados de las pruebas Fisiológicas y Bioquímicas realizadas en la identificación de Bacterias Gram negativas.

N°	Microorganismo	KIA	GAS	H ₂ S	URE	CIT	IND	MOT	LIS	PAD	OXI	MAE	NaCl 6%	SAC	ESC	PIG
1	<i>Escherichia coli</i>	A/A	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+				
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+				
3	<i>Enterobacter cloacae</i>	A/A	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+				
4	<i>Proteus mirabilis</i>	K/A	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+				
5	<i>Proteus vulgaris</i>	K/A	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+				
6	<i>Citrobacter diversus</i>	K/A	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+				
7	<i>Citrobacter freundii</i>	A/A	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+				
8	<i>Serratia marcescens</i>	K/A	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+				
9	<i>Hafnia alvei</i>	K/A	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+				
10	<i>Morganella morganii</i>	K/A	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+				
11	<i>Salmonella entérica</i>	K/A	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+				
12	<i>Plesiomona shigelloide</i>	A/A	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+				
13	<i>Yersinia enterocolitica</i>	K/A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+				
14	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	K/K	+	-	+	+	-	-	+	-	+					+
15	<i>Aeromona caviae</i>	K/A	-	-	-	-	+	+	-	-	+		-	+	+	
16	<i>Aeromona hydrophila</i>	K/A	+	-	-	-	+	+	+	-	+		-	+	+	
17	<i>Vibrio spp.</i>	K/A	-	-	-	+	+	+	+	-	+		+	+	-	

KIA: agar hierro de Kligler; GAS: gas de glucosa; H₂S: sulfuro de hidrógeno; URE: ureasa; CIT: citrato; IND: indol; MOT: motilidad; LIS: lisina descarboxilasa; PAD: fenilalanina desaminasa; OXI: oxidasa; MAE: microaerofilia; SAC: sacarosa; ESC: esculina; PIG: producción de pioverdina

Anexo N° 4: Resultados del Antibiograma diámetro de los Halos Formados Bacteria Grampositiva realizado a *Enterococcus* spp. e Interpretación de acuerdo a la guía Internacional CLSI.

Microorganismo	P		CIP		TEC		VA		TE		CN	
	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.
<i>Enterococcus</i> spp.	0	R	29	S	8	R	10	R	19	S	20	S

P: penicilina; CIP: ciprofloxacino; TEC: Teicoplanina; VA: vancomicina; TE: tetraciclina; CN: gentamicina de alta carga

Anexo N° 5: Resultados del antibiograma realizado en las bacterias gramnegativas identificadas e Interpretación de acuerdo a la guía Internacional CLSI.

Microorganismo	AMC		CAZ		ATM		CIP		W		GE		IPM		SXT		CT		TE		C	
	Mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.	mm	Int.
<i>Escherichia coli</i>	27	S	33	S	30	S	33	S	13	R	24	S	28	S	26	S	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	S	29	S	32	S	29	S	20	S	26	S	27	S	29	S	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	26	S	28	S	30	S	28	S	26	S	24	S	25	S	28	S	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	19	S	22	S	36	S	33	S	18	R	22	S	22	S	22	S	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	21	S	29	S	31	S	31	S	18	R	25	S	28	S	28	S	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	17	R*	28	S	33	S	26	S	8	R	0	R	28	S	22	S	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter diversus</i>	29	S	29	S	34	S	32	S	25	S	22	S	24	S	28	S	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	13	R*	27	S	30	S	36	S	26	S	25	S	24	S	24	S	-	-	-	-	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	10	R	32	S	40	S	26	S	0	R	20	S	28	S	20	S	-	-	-	-	-	-
<i>Morganella morganii</i>	0	R*	26	S	30	S	21	S	0	R	0	R	24	S	0	R	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella entérica</i>	27	S	27	S	29	S	22	S	13	R	8	R	27	S	25	S	-	-	-	-	-	-
<i>Plesiomona shigelloide</i>	30	S	14	R	9	R	19	R	8	R	18	S	46	S	8	R	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-	33	S	-	-	29	S	-	-	26	S	-	-	22	S	30	S
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	-	-	33	S	8	R	21	S	0	R	25	S	38	S	-	-	13	S	-	-	-	-
<i>Aeromona caviae</i>	-	-	28	S	30	S	33	S	-	-	30	S	32	S	30	S	28	S	28	S	-	-
<i>Aeromona hydrophila</i>	-	-	26	S	36	S	32	S	-	-	35	S	30	S	28	S	25	S	23	S	-	-
<i>Vibrio spp.</i>	-	-	30	S	40	S	36	S	32	S	38	S	30	S	32	S	-	-	33	S	-	-

AMC: amoxicilina/ácido clavulánico; CAZ: ceftazidima; ATM: aztreonam; CIP: ciprofloxacino; W: ácido nalidíxico; GE: gentamicina; IPM: imipenem; SXT: Trimetroprim-Sulfametoxazol; CT: colistin; TE: tetraciclina; C: cloranfenicol; mm: diámetro del halo; Int.: interpretación; S: sensible; R: resistente; R*: resistente natural.

Anexo N° 6:

Aprobación del Título del Proyecto de
Investigación



**FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD
DECANATO**

Riobamba, 06 de julio de 2018
Oficio No. 0648-HCD-FCS-2018

Señores
MUR CAICEDO LLIBRAN
MARCILLO VALENCIA KAREN GABRIELA
ESTUDIANTE DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNACH
En su despacho. -

De mi consideración:

Cumplo con el deber de informarle la resolución del H. Consejo Directivo de Facultad, adoptada en sesión ordinaria el jueves 05 de julio de 2018.

RESOLUCIÓN No. 0648-HCDFCS-05-07-2018: Aprobar el tema, tribunal y Tutor del Proyecto de Investigación de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico (Revisión y visto bueno de la Comisión de Carrera y Coordinador del CID), de acuerdo al siguiente detalle:

Nombres y Apellidos	Tema Proyecto de Investigación Revisado y/o Reformado por la Comisión	Área Del Conocimiento y Línea de Investigación	Tribunal Aprobado Art. 173 Trabajo Escrito	Tribunal Aprobado Art. 174 Sustentación
Mur Caicedo Llibran Marcillo Valencia Karen Gabriela *	Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo - julio 2018	Área De Conocimiento: Ciencias Línea De Investigación: Ciencias De La Vida Descripción: Microbiología	Tutor: Dra. Morella Guillén Msc. Celio García Miembro Dra. María Eugenia Lucena Miembro	Phd. Liliana Araujo Preside Msc. Celio García Miembro Dra. María Eugenia Lucena Miembro

Atentamente:



Dr. Gonzalo E. Bonilla P.
DECAÑO DE LA FACULTAD
CIENCIAS DE LA SALUD - UNACH

C.C.: Archivo

Transcripción Acta 020-HCD-05-07-2018: Jenny Castañeda
Revisado y Aprobado por: Dr. Gonzalo Bonilla

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO
RECEPCIÓN DE DOCUMENTOS
MORA: _____
FECHA: 9/7/18
SECRETARÍA CARRERA

Anexo N° 7:

Aprobación del Uso de los Laboratorios



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
COMISIÓN DE VINCULACIÓN CON LA SOCIEDAD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

Riobamba, 13 de julio de 2018.

Dr. Gonzalo Bonilla
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
Presente

Estimado Doctor:

Reciba saludos cordiales. Por medio de la presente le solicito de la manera más comedida, se autorice la utilización del área del laboratorio E301 y E302, a cargo del Ing. Félix Falconí e Ing. Eliana De la Torre, respectivamente, por parte de los estudiantes de la Unidad de Titulación Especial Karen Marcillo Valencia, C.I. 230042514-3 y Llibran Mur Caicedo, C.I. 210038373-2 con el fin de investigación en el trabajo de titulación **“Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas en el regadío del Río Chibunga. Mayo-Julio 2018”**, para que se acuda de lunes a viernes mientras dure el proceso de siembra, aislamiento, identificación y antibiograma de los microorganismos patógenos aislados de la mencionada investigación, durante el actual ciclo académico, por lo cual se adjunta la resolución del tema del proyecto, tutor y miembros del tribunal aprobada por el Honorable Consejo Académico.

Esperando que la solicitud sea recibida y aprobada me despido deseándole bendiciones y éxitos en su día laboral.

Atentamente:

PhD. Morella Guillen Ferraro
C.I. 175687759-1

DOCENTE TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
RECEPCION DE DOCUMENTOS

FECHA:

13 JUL 2018

10:50
HORA:

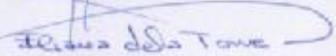
SECRETARIA DECANATO

La Srta. Bonilla debe coordinar con el laboratorio, con el Ing. Félix y la Torre. El asunto.

13/07/18

HORARIO DE ASISTENCIA AL ÁREA DE LABORATORIOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD PARA EJECUCIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN "Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga"

Hora	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes
09h00	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E301 Biología Molecular y Genética
10h00					
11h00					
12h00					
13h00					
14h00	ALMUERZO				
15h00	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Lab. E301 Biología Molecular y Genética
16h00					
17h00					
18h00					
19h00					
20h00					
21h00					
22h00					

Área	Profesional a cargo	Firma	Sello
Lab. E301 Biología Molecular y Genética	Ing. Félix Falconi		
Lab. E302 Microbiología y Parasitología	Ing. Eliana De la Torre		

Anexo N° 8: Evidencias fotográficas.



Imagen N° 6: Comunidad Santa Martha, punto de muestreo del agua utilizada para riego agrícola
Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.



Imagen N° 7: Punto de muestreo de la Comunidad Shobol-Llinllin. **A)** Canal de riego.
B) Obtención de la muestra.

Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.

A



B



Imagen N° 8: Entornos de la Parroquia San Juan. **A)** Subdivisión del Canal de riego. **B)** Toma de muestra.

Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.



Imagen N° 9: Canal de Riego en la Comunidad Calpi, toma de muestra.

Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.

A**B****C**

Imagen N° 10: A) Canal de Riego en Ricpamba. B) Carro recolector usado para extraer agua del canal. C) Toma de alícuota del agua extraída por el carro recolector.

Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.



Imagen N° 11: Toma de Muestra en el “Parque lineal Chibunga”.

Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.



Imagen N° 12: Punto de Muestreo en la Comunidad de San Luis, recolección del agua utilizada para riego agrícola.

Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.

A



B



Imagen N° 13: Recopilación de Datos importantes para la Investigación **A)** Medición de la Temperatura. **B)** Medición del pH.

Fuente: Marcillo K., Mur Ll., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.

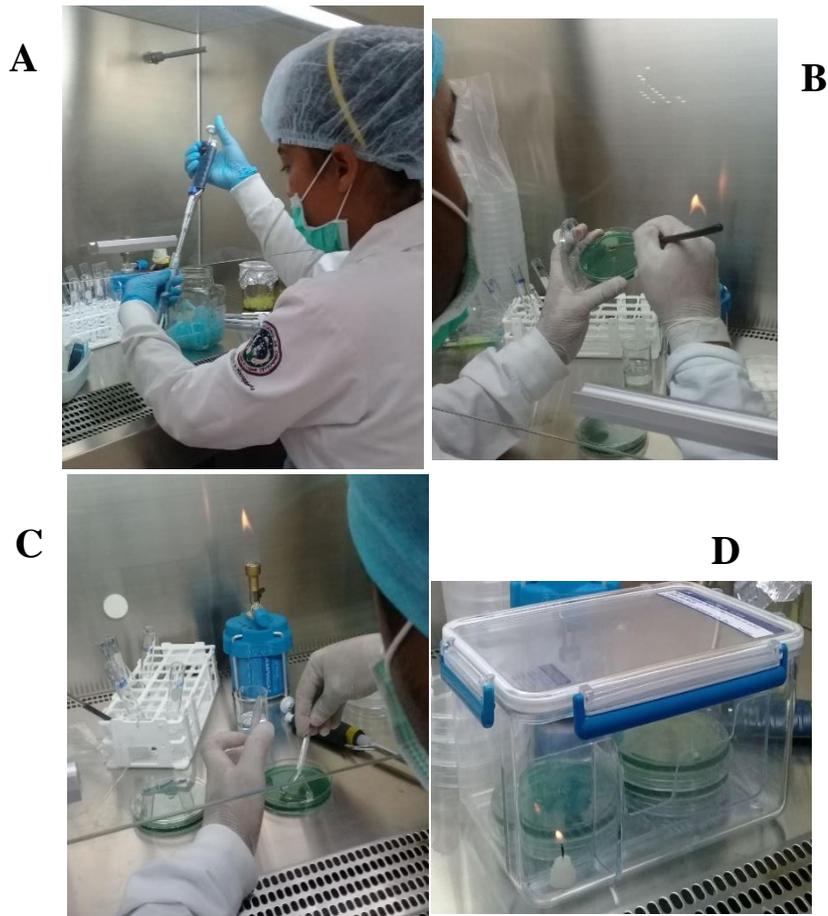


Imagen N° 14: Procesamiento de Muestras A) Dilución de las Muestras a diferentes concentraciones. B) Siembra de Diluciones en Agar CLED por Técnica de Agotamiento. C) Siembra de Diluciones en Agar CLED por Técnica de Agotamiento. D) Cultivo por Microaerofilia.

Fuente: Marcillo K., Mur LL., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH



Imagen N° 15: A) Colonias Grises, Lisas, Semitransparentes de *Aeromona hydrophila*. B) Colonias fermentadoras de sacarosa en agar TCBS. La pigmentación es una característica importante para la identificación diferencial de muchas especies bacterianas, sobre todo aquellas que pertenecen a varios grupos de bacilos no fermentadores de lactosa. Las colonias que se muestran corresponden a especies de *Vibrio* spp. luego de 48 horas de incubación.

Fuente: Marcillo K., Mur LL., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.

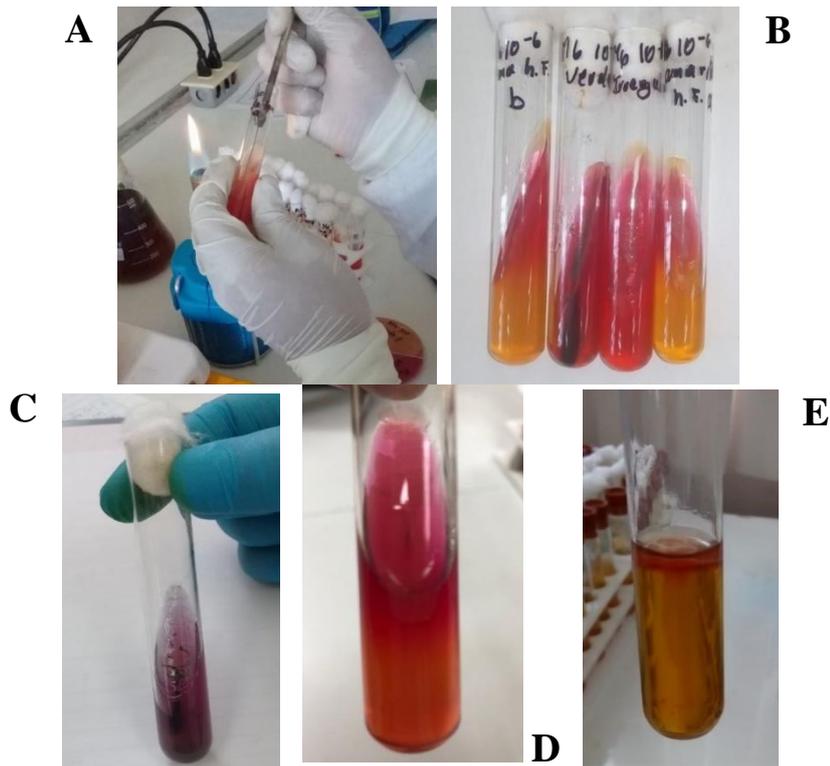


Imagen N° 16: Batería de Identificación Bacteriana. **A)** Realización de la técnica. **B)** Serie de tubos con agar hierro de Kigler “en pico de flauta” que muestra varios patrones de reacción. **C)** Agar lisina hierro (LIA) que pueden diferenciar a los microorganismos entéricos sobre la base de su capacidad para formar H_2S , producen ennegrecimiento del medio principalmente en el centro y la profundidad del tubo. **D)** Agar LIA, lisina desaminasa positivo y lisina descarboxilasa negativo. **E)** Tubo de agar SIM (sulfuro indol motilidad), donde los microorganismos móviles muestran un crecimiento difuso lejos de la línea de inoculación; más el agregado reactivo de Kovac, que muestra la prueba de Indol positiva.

Fuente: Marcillo K., Mur LL., Proyecto “Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga. Mayo-julio 2018”. UNACH.