

**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**

**CARACTERIZACIÓN BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DEL RIO GUANO,  
2019.**

**Autores:** Evelyn Valeria Nogales Quishpe

Johnathan David Vela Padilla

**Tutora:** PhD. Morella Guillén Ferraro

**Riobamba – Ecuador**

**2019**

## REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: **Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano, 2019**, presentado por Evelyn Valeria Nogales Quishpe y Johnathan David Vela Padilla, 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:

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos  
**Presidente del Tribunal**

  
.....  
Firma

MsC Félix Atair Falconí Ontaneda  
**Miembro del Tribunal**

  
.....  
Firma

Lic. Eliana Elizabeth Martinez Duran  
**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: “Caracterización bacteriológica del Río Guano, 2019”, propuesto por el Sr. Johnathan David Vela Padilla y la Srta. Evelyn Valeria Nogales Quishpe, 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.

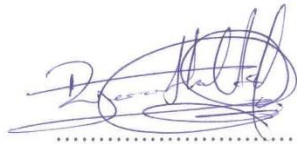


.....  
PhD. Morella Guillen Ferraro

**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: Evelyn Valeria Nogales Quishpe y Johnathan David Vela Padilla, y Morella Guillen Ferraro y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



.....  
Johnathan David Vela Padilla  
180494626-5



.....  
Evelyn Valeria Nogales Quishpe  
060404463-6

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por bendecirme en cada momento, porque hiciste realidad este sueño tan anhelado, por brindarme esperanza en esos momentos en los que dude

A mis padres por darme la vida por su paciencia porque a pesar de todo me ayudaron a formar mi carácter y me ayudaron a ser una mejor persona.

De manera muy especial a mi tutora de investigación la PhD. Morella Guillen Ferraro por sus consejos por cada momento dedicado para aclarar cualquier tipo de duda de igual manera a la Dra. María del Carmen Cordovez y Dra. Ana Carolina González quien con su ayuda constante permitieron que esta investigación sea culminada con éxito y a cada uno de los docentes que formaron para re mi vida universitaria que con su paciencia y conocimiento me ayudaron en mi formación como profesional

A mis amigas, que estuvieron en los momentos buenos y malos por todo lo compartido y vivido en estos últimos años gracias por sus consejos los llevaré en mi corazón

*Evelyn Nogales*

## DEDICATORIA

Dedicó de manera especial este trabajo a mi hermano Elito por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a tu apoyo he podido llegar hasta aquí todo esto te lo debo a ti ha sido un orgullo ser tu hermana.

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad y a pesar de los problemas me brindaron su apoyo a mi hermano Rolando por su cariño y apoyo incondicional durante todo este tiempo.

Pero, sobre todo, gracias a mi compañero de la vida Johnathan Vela y a mi hijo por su paciencia, comprensión y solidaridad con este proyecto, por el tiempo que me han concedido, un tiempo robado a la historia familiar. Sin su apoyo este trabajo nunca se habría escrito y, por eso, este trabajo también es suyo.

Gracias de todo corazón a todos

*Evelyn Nogales*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darme la oportunidad de vivir en este tiempo y brindarme la oportunidad de servirlo.

A la Universidad que me dio la bienvenida, abriéndome las puertas pues las oportunidades que me ha brindado son incomparables.

Agradezco mucho la ayuda de la Dra. Maria del Carmen Cordovez y a la Dra. Ana Carolina Gonzalez que con su ayuda y conocimientos hicieron que esta investigación sea un éxito. De manera muy especial a mi tutora PhD. Morella Guillen Ferraro que siempre me brindó su ayuda incondicionalmente, cultivando en mí, la actitud y el conocimiento necesario para la culminación de esta tesis.

A mis maestros y amigos que a diario convivían conmigo y se convertían en un apoyo fundamental a lo largo de mi vida como estudiante que un día empezó pero que ya poco a poco se va terminando.

*Johnathan Vela*

## DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi cariño a mi compañera de vida Evelyn Nogales, por su sacrificio y esfuerzo, por ayudarme en todo mi camino de estudios y así obtener un título, un futuro, una vida y aunque hemos pasado momentos difíciles siempre ha estado a mi lado brindándome su comprensión, cariño y amor.

A mi amado hijo Abraham Vela por ser una fuente de inspiración, alegría y sobre todo motivación para superarme día a día y así luchar para que la vida nos depare un futuro mejor.

A mis amados Padres Wilson Vela y Sandra Padilla quienes con su apoyo y palabras de aliento me indicaban el camino del bien y así continuar siempre perseverante hasta cumplir mis metas y sueños.

A mis hermanos Wilson y Joseph quienes sin esperar nada a cambio compartieron conmigo sus conocimientos, alegrías y tristezas que serán historias inolvidables guardadas para siempre en mi corazón y por ultimo, pero no menos importante a Gonzalo y Rolando que llegaron a mi vida, me ayudaron y me alentaron a conseguir mis metas.

*Johnathan Vela*



## **RESUMEN**

Esta investigación se basó en aislar e identificar las bacterias patógenas que se encuentran presentes en el agua del río Guano, Se trata de un estudio es de tipo descriptivo, de carácter cualitativo, de corte transversal con un diseño de campo, cuasi experimental. Se establecieron seis puntos diferentes a lo largo del río Guano, realizando tres tomas de agua por cada punto, midiéndose la altitud, pH y temperatura del ambiente y del agua. Posteriormente, las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo donde fueron sembradas en los agares CLED, Sangre, McConkey y Salmonella-Shigella. La identificación se realizó a través de pruebas fisiológicas y bioquímicas. Se midió la sensibilidad y resistencia bacteriana mediante el método de Kirby Bauer. Los resultados obtenidos fueron los siguientes; la familia *Enterobacteriaceae* presento 12 especies diferentes correspondiente a (80%) y *Pseudomonas* correspondiente a (20%), todas gramnegativas: *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter diversus*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas aeruginosa*. En cuanto a la resistencia a diferentes antimicrobianos, la mayoría de las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* resultaron resistentes a la amoxicilina y a la tetraciclina. *P. aeruginosa* resultó ser resistente a la kanamicina. Se concluye que las aguas de riego del río Guano presentan bacterias patógenas para el ser humano y que el riego de productos agrícolas con estas aguas los contamine, convirtiéndose así en un trasmisor de enfermedades para los que consuman esos vegetales.

## **Palabras Clave**

Río Guano, bacterias, resistencia bacteriana, enfermedades

## **INDICE GENERAL**

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	4
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
<b>CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO</b> .....	5
Importancia del agua.....	5
Las aguas residuales.....	5
Aguas de Riego.....	5
Río Guano.....	6
Contaminación en los principales ríos de la provincia de Chimborazo.....	6
Bacterias patógenas presentes en los Ríos.....	7
Bacterias Patógenas.....	7
Bacterias Gram Negativas.....	8
Enterobacterias.....	8
Escherichia coli.....	8
Enterobacter.....	9
Proteus mirabilis.....	9
Pseudomonas .....	9
Bacterias Gram positivas.....	10
Resistencia microbiana.....	10
Mecanismos de resistencia.....	10
Natural o intrínseca.....	10
Adquirida.....	11
Factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia.....	11
Modo de acción de los antibióticos .....	12
Tipos de mecanismos de acción de los antimicrobianos.....	14

<b>CAPÍTULO II METODOLOGÍA</b> .....	15
Tipo de Investigación .....	15
Determinación de la población y muestra.....	16
Identificación del área de estudio.....	16
Toma de muestra.....	16
Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	17
Procedimiento: .....	17
Materiales: .....	17
Medios de cultivo usados para la investigación.....	18
Aislamiento de bacterias patógenas de interés clínico presentes en las muestras.....	18
Preparación de medios de cultivo.....	18
Técnica de aislamiento de colonias.....	18
Pruebas fisiológicas y bioquímicas para identificación de género y especie.....	19
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	20
<b>CONCLUSIONES</b> .....	29
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	30
<b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	31
<b>ANEXOS</b> .....	36

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1:</b> Enterobacterias frecuentes con significado clínica.....	8
<b>Tabla N°2.-</b> Bacterias que presentan resistencia innata a antibióticos.....	11
<b>Tabla N°3.-</b> Principales mecanismos de resistencia antibiótica.....	13
<b>Tabla 4.</b> Descripción de los diferentes puntos de la recolección de muestra.....	17
<b>Tabla N° 5</b> Datos de altitud, temperatura del ambiente, agua y del pH obtenidos en los diferentes puntos de muestreo. ....	21
<b>Tabla N°6:</b> Bacterias patógenas aisladas en las aguas de regadío del Rio Guano.....	23
<b>Tabla N°7.</b> Distribución de las bacterias aisladas según la ubicación geográfica de cada punto de muestreo.....	24
<b>Tabla N° 8:</b> Patrón de susceptibilidad y resistencia de bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. ....	25
<b>Tabla N°9:</b> Patrón de susceptibilidad y resistencia de bacterias pertenecientes a la familia Pseudomonadaseae.....	28

## ÍNDICE DE IMÁGENES

<b>Imagen 1</b> Antibiograma de <i>Citrobacter amalonaticus</i> (cepa3).....	26
<b>Imagen 2</b> <b>Antibiograma</b> de <i>Enterobacter aerogenes</i> resistencia a gentamicina, kanamicina y amoxicilina.....	27
<b>Imagen 3</b> Antibiograma de <i>Escherichia coli</i> (cepa1) resistente a amoxicilina y cefocitina.....	27
<b>Imagen 4.</b> Antibiograma de <i>Escherichia coli</i> (cepa3) resistente a amoxicilina.....	28
<b>Imagen 5.</b> Antibiograma de <i>Escherichia coli</i> (cepa4) resistente a amoxicilina.....	28

## **RESUMEN**

Esta investigación se basó en aislar e identificar las bacterias patógenas que se encuentran presentes en el agua del río Guano, Se trata de un estudio es de tipo descriptivo, de carácter cualitativo, de corte transversal con un diseño de campo, cuasi experimental. Se establecieron seis puntos diferentes a lo largo del río Guano, realizando tres tomas de agua por cada punto, midiéndose la altitud, pH y temperatura del ambiente y del agua. Posteriormente, las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo donde fueron sembradas en los agares CLED, Sangre, McConkey y Salmonella-Shigella. La identificación se realizó a través de pruebas fisiológicas y bioquímicas. Se midió la sensibilidad y resistencia bacteriana mediante el método de Kirby Bauer. Los resultados obtenidos fueron los siguientes; la familia *Enterobacteriaceae* presento 12 especies diferentes correspondiente a (80%) y *Pseudomonas* correspondiente a (20%), todas gramnegativas: *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter diversus*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas aeruginosa*. En cuanto a la resistencia a diferentes antimicrobianos, la mayoría de las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* resultaron resistentes a la amoxicilina y a la tetraciclina. *P. aeruginosa* resultó ser resistente a la kanamicina. Se concluye que las aguas de riego del río Guano presentan bacterias patógenas para el ser humano y que el riego de productos agrícolas con estas aguas los contaminen, convirtiéndose así en un trasmisor de enfermedades para los que consuman esos vegetales.

## **Palabras Clave**

Río Guano, bacterias, resistencia bacteriana, enfermedades

### Abstract

The investigation based on identifying the bacterial pathogenesis that is presented in the Guano River. It was of a graphic descriptive studio, to characterize it, of the transversal body with a design of campo, mixed approach. We set ourselves up on the right side of the river Guano, making three water intakes for each point, measuring the altitude, pH, and temperature of the environment and water. Subsequently, the samples were taken to the Microbiology Laboratory of the Faculty of Health Sciences, the the National University of Chimborazo, where they planted in the CLED, Sangre, McConkey, and Salmonella-Shigella agars. The identification made through physiological and biochemical tests. Bacterial sensitivity and resistance measured by the Kirby Bauer method. The results obtained were the following; the Enterobacteriaceae family presented 12 different species corresponding to (80%) and Pseudomonas corresponding to (20%), all gram-negative: Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Proteus mirabilis, Citrobacter amalonaticus, Citrobacter diversus, Plesiomonas shigelloides, Pseudomonas aeruginosa.

Regarding the resistance to different antimicrobials, most bacteria of the Enterobacteriaceae family were resistant to amoxicillin and tetracycline. P. aeruginosa proved to be resistant to kanamycin. It concluded that the irrigation waters of the Guano River present pathogenic bacteria for humans and that the irrigation of agricultural products with these waters contaminates them, thus becoming a transmitter of diseases for those who consume those vegetables.

**Keywords:** Guano river, bacteria, Antibiotic-resistant, diseases



Reviewed by: Chávez, Maritza

Language Center Teacher

## INTRODUCCIÓN

El agua es un compuesto con características únicas e inigualables muy importante para la vida no solo de los humanos sino también de plantas y animales, el más abundante en la naturaleza y determinante en los procesos físicos, químicos y biológicos que se producen en todo el mundo. Es un elemento de la naturaleza, integrante de los ecosistemas naturales, fundamental para el sostenimiento y la reproducción de la vida <sup>1</sup>.

La calidad del agua puede fácilmente alterarse por la contaminación con microorganismos patógenos que ocasionan enfermedades que muchas de las veces pueden llegar a ser graves tales como diarreas, fiebres, gastroenteritis, infecciones cutáneas, o incluso neumonías <sup>2</sup>.

Para estudiar la relación que existe entre calidad de agua y salud humana, es necesario introducir el concepto de microbiología, y a partir de ello valorar la presencia de organismos microscópicos como virus, protozoos y bacterias realizando aislamientos mediante métodos de identificación que serán importantes para aplicaciones médicas y tratamientos <sup>3</sup>.

La resistencia actual de las bacterias a los antimicrobianos constituye un grave problema de salud en todo el orbe. Los mecanismos pueden ser intrínsecos o adaptativos. El uso indiscriminado e irracional de estos fármacos constituye la principal causa de la gravedad de la situación que hoy se presenta. <sup>4</sup>.

La contaminación del agua es una de las mayores preocupaciones en el mundo al igual que las actividades que lo producen y estas se han multiplicado en las últimas décadas. Cada año el total de químicos producidos mundialmente se ha incrementado notablemente <sup>5</sup>.

Tenemos que tomar en cuenta que en el mundo hay millones de bacterias y estamos continuamente en contacto directo con ellas, al menos 2000 millones de personas llegan a consumir agua que está contaminada por heces y 159 millones de personas que dependen de aguas superficiales <sup>6</sup>.

En Ecuador se realizó un estudio bacteriológico del agua y se evaluó su calidad concluyendo que los ríos Machángara y Monjas se encontraron una gran cantidad de coliformes <sup>7</sup>. En Santo Domingo de los Colorados, se pudo aislar cepas de *Escherichia coli* resistentes a antibióticos de interés clínico <sup>8</sup>. En Quito se hizo un estudio de resistencia antibacteriana en cepas de *Salmonella enterica* lográndose obtener resultados importantes <sup>9</sup>. En la provincia de Cañar, cantón Troncal, en las Aguas Termales de Yanayacu los microorganismos



identificados fueron: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Aeromonas schubertii*, *Shewanella putrefaciens*, *Enterococcus flavescens*, *Staphylococcus aureus* <sup>10</sup>, todas relacionadas con la aparición de enfermedades e infecciones que afectan a alrededor de 1.1 billones de personas.

En la provincia de Chimborazo se aislaron e identificaron once bacterias patógenas procedentes de las diferentes estaciones de muestreo del Río Chambo, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, por mencionar las más frecuentes, como afirman estudios realizados en la provincia de Chimborazo, mientras que un estudio realizado en el Río Chibunga demostró un total de 18 bacterias patógenas identificadas entre las más importantes tenemos *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas* (*A. hydrophila* y *caviae*), *Vibrio* spp., *Enterococcus* spp, y 13 cepas agrupadas como enterobacterias que se las han podido vincular con cuadros diarreicos, enfermedad común en todo el mundo que causa 4% de las muertes y 5% de pérdida de salud o incapacidad <sup>11</sup>.

Se puede indicar que la contaminación del río Guano se produce cuando esta corriente ingresa a la ciudad donde acoge diversas descargas sin ningún tipo de tratamiento, como las aguas residuales domésticas además no se lleva un registro, ni la verificación de concesiones en lo que se refiere al recurso, ni se han determinado las principales industrias en lo que respecta a las descargas de aguas grises y negras hacia el río <sup>12</sup>.

La Constitución de la República del Ecuador en el capítulo dos establece en el artículo 12 “El derecho humano al agua es fundamental e irrenunciable” de igual manera artículo 13 nos dice “Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; perfectamente producidos a nivel local” y en el artículo 66 también se establece “El derecho a una vida digna, que asegure la salud, alimentación, nutrición y agua potable” <sup>13</sup>. En el Plan Nacional de Desarrollo 2017 – 2021 en el objetivo 1 “Propone mejorar la calidad de vida de la población para vivir en hábitat seguro y saludable” y en el objetivo 6 “Desarrollar las capacidades productivas y del entorno para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir rural” <sup>14</sup>.

En el boletín semestral de la central Ecuatoriana de servicios agrícolas de mayo de 2013 se señala que a pesar de que existen investigaciones sobre el estudio de bacterias de interés clínico para el ser humano aisladas en ríos en la provincia y en todo el Ecuador, éstos son

muy escasos y limitados, además muy pocos incluyen la evaluación de la resistencia a antimicrobianos de uso común, por lo que consideramos motivo suficiente para elaborar esta investigación que aportará información y un aprendizaje significativo para mejorar la calidad de vida de todos aquellos que utilizan las aguas del río Guano.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la resistencia antimicrobiana de bacterias de importancia clínica aisladas en aguas del río Guano, Chimborazo, Ecuador en el período abril- julio de 2019.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar la medición del pH, altura y temperatura del agua y del ambiente en seis diferentes puntos geográficos del río Guano.
- Aislar bacterias patógenas de las aguas de este río, aplicando procedimientos metodológicos que permitan su identificación.
- Determinar la susceptibilidad y resistencia a diferentes antibióticos, por el método de Kirby Bauer, de las bacterias de importancia clínica aisladas.

## **CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO**

### **Importancia del agua**

El agua es el elemento fundamental de la vida siendo un recurso crucial para la humanidad y para el resto de los seres vivos todos la necesitamos y no solo para su consumo. De igual manera está presente en nuestros ríos, lagos, en las aguas costeras, marítimas y subterráneas constituyen un recurso esencial y valioso que es necesario proteger <sup>2</sup> .

De igual manera, el agua contribuye a la estabilidad del funcionamiento del entorno de los seres vivos y demás organismos que en él habitan, es por ello que es un elemento indispensable para la subsistencia de la vida animal y vegetal del planeta. Es decir que el agua es un bien de primera necesidad para los seres vivos y un elemento natural imprescindible en el desarrollo de los sistemas ambientales <sup>15</sup> .

### **Las aguas residuales**

Son aquellas que no son potables contienen una gran cantidad de sustancias (químicas, biológicas) que son nocivas o dañinas para el ser humano y que han sido utilizadas o manipuladas de alguna manera por el humano sin importar que su origen sea de característica doméstica, industrial, pecuaria, agrícola o recreativa <sup>17</sup> .

### **Aguas de Riego**

La agricultura es el mayor consumidor de agua a nivel global. El 70% del consumo de agua del mundo es para el riego de cultivos. El agua destinada al riego de cultivos representa el 95% del agua consumida, y juega un papel clave dentro de la producción de alimentos y seguridad alimentaria <sup>18</sup> .

Diferentes investigaciones han podido demostrar la contaminación bacteriana en vegetales debido a la utilización de aguas de riego contaminadas con heces humanas o de animales, el uso de estiércol como abono orgánico, la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* El desconocimiento de la presencia de estos contaminantes han provocado una mala manipulación tanto en el momento del cultivo, al momento de la cosecha y en el lavado de las verduras, lo que resulta perjudicial tanto para el productor como para el consumidor <sup>19</sup>

20 .

El principal sistema hidrográfico lo constituye el río Chambo nace en la cordillera Central, cruza el territorio de Sur a Norte y al unirse con el Patate forma el Pastaza.

### **Río Guano**

El cantón Guano se encuentra ubicado al norte de la provincia de Chimborazo, el cual tiene un territorio de 459.70 Km<sup>2</sup> que incorpora el 7% de superficie de la provincia de Chimborazo, donde oscilan temperaturas desde bajo 0°C hasta los 28,3°C en los meses más calurosos. <sup>22</sup> .

La microcuenca de un río es el espacio natural delimitado por los filos de los cerros, los valles y las laderas, o a su vez por la línea divisora de aguas; en donde se establece una dinámica constante entre las actividades de las comunidades indígenas y campesinas, manteniendo una interacción económica, ambiental y sociocultural <sup>25</sup> .

La microcuenca del río Guano ubicada en el cantón Guano al noroeste de la provincia de Chimborazo cuenta con una área de 390.7 km<sup>2</sup> cuya desembocadura se da en el río Chambo, es una parte fundamental para sus habitantes debido a que utilizan este recurso hídrico en actividades como la agricultura y ganadería; además que la principal actividad económica de este cantón está encaminada a la fabricación de productos textiles como: alfombras, tapices, entre otras <sup>22</sup> .

### **Contaminación en los principales ríos de la provincia de Chimborazo**

El río Chambo, principal afluente del Pastaza, está contaminado. Lo confirma el estudio preliminar sobre la calidad de agua que realizan los técnicos de la Central Ecuatoriana de Servicios Agrícolas (CESA) en Chimborazo. En su recorrido de 273 km recibe las descargas de las aguas residuales de industrias, hospitales y viviendas así como descargas de sus afluentes el Guamote, Chibunga, Guano, Sicalpa, San Juan y Blanco <sup>21 22</sup> .

Investigaciones realizadas en los ríos Chibunga y Chambo han demostrado la presencia de bacteria identificando así un total de 18 bacterias patógenas procedentes de los diferentes puntos geográficos del regadío del Río Chibunga <sup>23</sup> . Mientras que otra investigación demostró la presencia de once bacterias patógenas aisladas en el Río Chambo <sup>11</sup> .

Tras la evaluación, los técnicos determinaron que los ríos Guamote, Chibunga y Guano son los más contaminados de la cuenca del río Chambo. De igual manera se confirma también

que el río Guano recibe las aguas residuales de las fábricas de textiles y de curtiembres que forman parte de la zona cercana al río <sup>24</sup> .

### **Bacterias patógenas presentes en los Ríos**

Más del 80% de bacterias descritas en el Manual de Bergey pueden aislarse del agua. En su mayoría son bacterias entéricas, provenientes del tracto gastrointestinal de animales y humanos, denominadas bacterias fecales, cuya capacidad de sobrevivir y reproducirse en el agua es restringida dado el estrés fisiológico que presenta el medio acuoso. Teniendo en cuenta la respuesta a la tinción de Gram, a continuación, se mencionan y describen algunas de las más importantes entre las especies que se han aislado de aguas, podemos mencionar a las pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Gallionella*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*, *Vibrío*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter* <sup>26</sup> .

### **Bacterias Patógenas**

Estudios previos realizados en la provincia de Chimborazo como en el río Chibunga se ha confirmado 18 bacterias con mecanismos de resistencias a las quinolonas con mutaciones en genes *gyrA* y *parC*, confirmando su contaminación por bacterias patógenas y resistentes a antibióticos de uso clínico que podrían ser fuente de infecciones para comunidades cercanas al lugar <sup>11</sup> .

De la misma manera en el río Chambo se aislaron e identificaron once microorganismos patógenos originarios de las diferentes estaciones de muestreo, tales como *Pseudomonas spp* y especies de enterobacterias como *E. coli* , *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *C. freundii*. mismas que pueden contaminar las aguas y los humanos que entran en contacto con ellas en lugares donde no hay saneamiento básico como playas, ríos y lagos que reciben aguas residuales no tratadas, produciendo cuadros de gastroenteritis e infecciones extraintestinales, infecciones del tracto urinario en su gran mayoría, sepsis, meningitis entre otras <sup>23 11</sup> .

La mayoría de las bacterias patógenas que pueden ser transmitidas por el agua infectan el aparato digestivo y son excretadas en las heces de las personas o animales infectados. No obstante, hay también algunas bacterias patógenas transmitidas por el agua, como *Legionella*, *Burkholderia pseudomallei* y micobacterias atípicas, que proliferan en el agua y en el suelo y

pueden producir infecciones en el aparato respiratorio, en lesiones de la piel o en el cerebro  
27 .

## **Bacterias Gram Negativas**

### **Enterobacterias**

Perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, están constituidas por bacilos y cocobacilos gramnegativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, fermentadores de glucosa, caracterizados por no presentar actividad de citocromooxidasa (son oxidasa negativa), reducen nitratos a nitritos y las especies móviles lo son mediante flagelos siendo la causa más común de infecciones de vías urinarias (UTI)<sup>(30)</sup>.

Tienen requerimientos nutricionales relativamente simples. Generalmente se identifican por su capacidad para fermentar glucosa por vía glucolítica dando ácidos como producto final. *Escherichia coli*, habitante normal del intestino humano, es utilizada como indicador de contaminación fecal de aguas <sup>31</sup> .

### ***Escherichia coli***

Es una bacteria mesófila, su óptimo desarrollo se encuentra en el entorno de la temperatura corporal de los animales a 35-43 °C. La temperatura de crecimiento se sitúa alrededor de 7 °C.

Se caracteriza por poseer bacilos Gram negativos, no esporulante, y la producción de indol, no utiliza citrato como fuente de carbono y fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas, está asociada a patologías como dolor abdominal, diarrea en niños, náuseas, vómito, fiebre gastroenteritis e infecciones extraintestinales, infecciones del tracto urinario en su gran mayoría, meningitis, sepsis <sup>32</sup> .**Tabla N°1**

**Tabla N° 1:** Enterobacterias frecuentes con significado clínica

<i>Citrobacter amalonaticus, Citrobacter diversus</i>
<i>Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Proteus mirabilis</i>

**Fuente:** Murray et al., Microbiología médica 8<sup>va</sup> edición, pág. 253

### ***Citrobacter***

El género *Citrobacter* es un grupo de bacilos gramnegativos aerobios que se encuentran frecuentemente en el agua, suelo, comida y el tracto intestinal de animales y humanos. Se sabe que estos microorganismos pueden producir infecciones importantes, especialmente en huéspedes inmunocomprometidos

*Citrobacter* es un habitante normal del intestino humano. El género consta de tres especies diferentes. Uno de ellos, *C. diversus*, *C. amalonaticus*, *C. freundii*, es una causa rara de meningitis esporádica y epidémica, con una alta incidencia de abscesos cerebrales. Hay informes ocasionales de meningitis en recién nacidos, aunque rara vez se ha informado de los trópicos. <sup>33</sup> .

### ***Enterobacter***

El género *Enterobacter* tenemos las siguientes especies *E. cloacae*, *E. aerogenes* y *E. zakazakii* son bacilos gramnegativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, el cultivo se realiza en medios habituales como agar sangre o agar MacConkey son cepas no pigmentadas, la mayoría de las veces móviles, catalasa positiva, oxidasa y ADNasa negativas, fermentan la glucosa, reducen los nitritos, reacción de indol negativa, decarboxilan la ornitina, no decarboxilan la lisina y son citrato y ureasa positiva, son móviles y pueden tener cápsulas que. Normalmente se asocian a patologías como neumonía, infecciones del tracto urinario e infecciones de heridas y dispositivos, *E. aerogenes* es una bacteria patógena causante de infecciones oportunistas y nosocomiales <sup>34 35</sup> .

### ***Proteus mirabilis***

El género *Proteus* forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*. El Bergey's Manual of Determinative Bacteriology define este género como bacilos gramnegativos, móviles, con flagelos peritricos, aerobios y facultativos anaerobios <sup>36</sup> .

*Proteus mirabilis* es un patógeno de importancia en las infecciones nosocomiales así como en las comunitarias. La producción de AmpC plasmídica es un mecanismo de resistencia frente a cefalosporinas de espectro extendido emergente en esta bacteria <sup>37</sup> .



## ***Pseudomonas***

Son bacilos Gram negativos, aerobios, oxidasa positivos. Tienen, gracias a su metabolismo, una cierta facilidad de adaptación que les permite adecuar el hábitat donde se encuentren para utilizar diferentes fuentes como el carbono o el nitrógeno para su nutrición, Debido a esta adaptación al medio ambiente las *Pseudomonas* y *Aeromonas* se han convertido en un problema para la salud pública <sup>28</sup> .

*Pseudomonas aeruginosa*, patógeno gramnegativo versátil y oportunista debido a su gran adaptabilidad fisiológica, potencial metabólico y mecanismos de virulencia, es causa frecuente a escala mundial de severas infecciones en pacientes hospitalizados, siendo capaz de infectar prácticamente todas las localizaciones del organismo humano y desarrollar entonces a partir de la infección, la diseminación hemática, septicemia y lesiones focales en diversos tejidos <sup>29</sup> .

## **Bacterias Gram positivas**

A pesar de no representar un grupo muy difundido en agua si incluye algunos patógenos humanos. Los géneros más comunes pertenecen a los *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Los micrococcos y estafilococos son aerobios y muy tolerantes a altas concentraciones salinas, lo que permite diferenciarlos de los estreptococos. Diversas especies de los dos primeros son significativos patógenos humanos; aunque no existe certeza acerca de su entorno original, la bibliografía las considera procedentes de aguas subterráneas. El género *Streptococcus* incluye a *Enterococcus faecalis*, patógeno humano que reside normalmente en el intestino de hombres y animales por lo que es un indicador muy importante de contaminación fecal de aguas <sup>31</sup> .

## **Resistencia microbiana**

La resistencia actual de los gérmenes a los antimicrobianos compone un grave problema actual de salud en todo el mundo. Los mecanismos pueden ser intrínsecos o adaptativos. El uso irracional de estos fármacos establece la principal causa de la gravedad de la realidad que hoy se presenta <sup>38</sup> .

La resistencia a los antimicrobianos se provoca cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los antimicrobianos utilizados para corregir las infecciones causadas por ellos dejen de ser eficaces <sup>39</sup> .

## Mecanismos de resistencia

### Natural o intrínseca

Es una propiedad definida de las bacterias, su aparición es anterior al uso de los medicamentos y tiene la característica de ser innato a una especie en particular

**Tabla N°2.- bacterias que presentan resistencia innata a antibióticos**

Antibióticos	Cepas con resistencia innata
Penicilina	<i>Pseudomonas</i> spp. (excepto ureidopenicilinas)
Cefalosporinas	<i>Enterococcus</i> spp
Carbapenemes	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Aztreonam	Todas las bacterias grampositivas
Aminoglicósidos	Bacterias anaeróbicas, <i>Enterococcus</i> spp
Macrólidos	Enterobacteriaceae
Tetraciclinas	<i>Pseudomonas</i> spp.
Glicopéptidos	Todas las bacterias gramnegativas

**Fuente:** x Barker K. Antibiotic resistance: a current perspective. Br J ClinPharmacol 1999; 48: 109-124.

### Adquirida

Forma un inconveniente en el departamento de salud, se detectan mediante experimentos de sensibilidad y se pone de expreso en los fracasos terapéuticos de un paciente infectado con cepas de un microorganismo que tienen otros tiempos sensibilidad hacia un antimicrobiano.

La aparición de la resistencia en una bacteria se origina a través de mutaciones en el ADN y por la trasmisión de material genético extracromosómico originario de otros microorganismos.

En el primer caso, la resistencia se trasmite de forma vertical de generación en generación. En el segundo, el traspaso de genes se efectúa horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético movable como integrones y transposones; esto último no solo aprueba la trasmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma un microorganismo puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en relación con estos <sup>43</sup> .

### Factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia son:

- Medidas ineficientes en los centros hospitalarios para el control de infecciones
- falta de campañas educativas en la utilización y manejo de los antimicrobianos
- La colonización previa por microorganismos con resistencias múltiples.
- Procedimientos invasivos tales como cateterización y también diálisis.
- Uso de antimicrobianos tanto en agricultura como en la acuicultura. Además, se pueden encontrar microorganismos resistentes en los comestibles de origen vegetal cuando se irrigan con aguas residuales o cuando se aplican antibióticos a los cultivos a través de abonos <sup>44</sup>.

### Modo de acción de los antibióticos

Los agentes antimicrobianos que se utilizan en el tratamiento de infecciones causadas por gérmenes patógenos, deben tener, nula o poca toxicidad para los tejidos en el ser humano. Esta "toxicidad selectiva" va a depender de la acción que tenga el antimicrobiano, sobre la estructura del microorganismo, que no estén presentes, o que estos sean diferentes, de los encontradas en el ser humano. Para que el antibiótico ejerza su acción es necesario que llegue al foco infeccioso, penetre en las bacterias (por transporte activo o difusión) y alcance intracelularmente la concentración necesaria. Una vez que esté dentro de la célula el antibiótico puede ser bacteriostático si inhibe la multiplicación de forma reversible, o bactericida si tiene un efecto letal sobre el microorganismo <sup>40</sup>.

- **Antibióticos bacteriostáticos:** macrólidos, tetraciclinas, cloranfenicol.
- **Antibióticos bactericidas:** betalactámicos, aminoglicósidos, polipeptídicos, polienos(**TablaNº3**)

**Tabla N°3.-** Principales mecanismos de resistencia antibiótica

<i>Familia de antibióticos</i>	<i>Mecanismo de acción</i>	<i>Mecanismos de resistencia</i>
<b>Betalactámicos</b>	Interfiere en las últimas fases de la síntesis del peptidoglicano,	Betalactamasas: enzimas que se caracterizan por hidrolizar el enlace amida del núcleo betalactámico, inactivando de esta manera el antibiótico

	componente necesario en la formación de la pared bacteriana	
<b>Quinolonas</b>	Inhibe la acción de las topoisomerasas y de la ADN girasa bacterianas	Mutaciones puntuales que generan el cambio de aminoácidos en la enzima blanco del antibiótico  Sistemas de expulsión  Presencia de genes plasmídicos de resistencia antibiótica
<b>Tetraciclinas</b>	Se unen al ribosoma bacteriano, inhibiendo la síntesis de proteínas	Presencia de bombas de eflujo específicas para tetraciclinas
<b>Cloramfenicol</b>	Inhibidor de la biosíntesis de las proteínas, previene la elongación de la cadena de péptidos al unirse al centro de la peptidiltransferasa del ribosoma 70S	Inactivación enzimática por acetilación  Exportadores específicos de cloramfenicol
<b>Trimetoprim - Sulfametoxazol</b>	Inhibe la síntesis de la enzima dihidropteroato sintasa (sulfametoxazol) y de la enzima dihidrofolato	Presencia de genes que codifican formas mutantes de la enzima blanco

	reductasa (trimetoprim), las cuales son enzimas necesarias en la ruta del ácido fólico	
--	---	--

**Fuente:** Poirel L, Carattoli A, Bernabeu S, Bruderer T, Frei R, Nordmann P. A novel IncQ plasmid type harbouring a class 3 integron from *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(8):1594-8.

## **Tipos de mecanismos de acción de los antimicrobianos**

### **Antimicrobianos que inhiben la síntesis de pared celular**

La inhibición de la síntesis del péptidoglicano es letal para la bacteria, ya que normalmente, durante la síntesis de la pared celular, el proceso de adición de componentes se acompaña de digestión autolítica de la materia ya existente, por lo que, en presencia de un inhibidor de la síntesis, la digestión enzimática continúa, debilitándose la pared, con lo que se permite que en presencia de un medio hipotónico (con respecto al interior celular), los líquidos ingresen, hinchando la bacteria y produciendo la "lisis osmótica" de la misma. De esta forma se presenta el efecto casi nulo de los antimicrobianos, ante un absceso, el cual representa un medio hipertónico (pus con respecto al citoplasma bacteriano) que no se presta para la lisis osmótica. Entre estos tenemos las penicilinas naturales y sintéticas, las cefalosporinas, la cycloserina, bacitracina y la vancomicina <sup>41</sup>.

### **Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos**

La biosíntesis de moléculas de ARN y ADN consiste en una larga serie de reacciones catalizadas por enzimas que al igual que cualquier otro proceso es susceptible de romperse en diferentes puntos. Una inhibición en un punto de la secuencia puede bloquear las reacciones posteriores. Los antibióticos que interfieren en la síntesis de ácidos nucleicos esencialmente actúan bloqueando la síntesis de sus componentes, inhibiendo la replicación o parando la transcripción. Entre estos tenemos al ácido nalidíxico, la rifampicina, la griseo fulvina, las sulfas y el trimethoprim. El ácido nalidíxico produce bloqueo enzimático a nivel de la "gyrasi" (necesaria para la síntesis del ácido dextrorribonucleico-ADN-). La

rifampicina lo hace a nivel de la "ARN polimerasa" (enzima que normalmente inicia la síntesis de ácido ribonucleico mensajera) (ARNm) <sup>42</sup> .

### **Antimicrobianos que actúan a nivel de membrana celular**

La célula con la membrana dañada muere debido a que esta estructura es vital para todas las células ya que entre sus propiedades incluye el actuar como barrera de permeabilidad selectiva. Las sustancias que alteran esta estructura modifican la permeabilidad, permiten la salida de iones K y macromoléculas como los ácidos nucleicos y causan un efecto lítico. La organización química de la membrana celular de bacterias y humanos es muy parecida, por esta razón, los antimicrobianos que ejercen sus efectos letales sobre los microbios a este nivel, producen también efectos tóxicos importantes en los tejidos del hombre, limitando su uso terapéutico ya que la mayor parte de estos antibióticos son tóxicos para los humanos. (44)

### **Antimicrobianos que interfieren la síntesis proteica.**

Los inhibidores de la síntesis proteica reaccionan con el complejo ribosoma-mARN. Aunque las células humanas también tienen ribosomas, los ribosomas de los eucariotas son distintas a las procariontes en tamaño y estructura por lo que estos antimicrobianos que tienen una acción selectiva frente a bacterias. Antibióticos que inhiben la síntesis proteica. Entre ellos tenemos a Aminoglicósidos (estreptomina, gentamicina). Actúan uniéndose específicamente y de forma irreversible a un receptor proteico Tetraciclinas, Cloranfenicol, Macrólidos <sup>40</sup> .

## CAPÍTULO II METODOLOGÍA

### Tipo de Investigación

#### **Carácter Mixto:**

Se recopiló información que proporcionan cifras tales como el pH, la temperatura, se midió el halo que se formó al realizar el antibiograma además se realizó una descripción de las variables de estudio, buscando determinar la existencia de resistencia antimicrobiana en las bacterias patógenas aisladas del Río Guano.

**De campo:** se recolectaron las muestras de los seis diferentes puntos del río Guano, se aislaron e identificaron las distintas bacterias patógenas de interés clínico y determinar su resistencia antimicrobiana.

**Descriptiva:** se recolectó información de manera conjunta sobre las diferentes variables en estudio, y se describió la existencia de la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas que puedan estar presentes en las aguas de riego del Río Guano.

**No experimental:** no se cambiaron las variables

**Corte Transversal:** se ejecutó en un lugar específico (microcuencas del Río Guano) y en un tiempo específico, durante el período de abril a Julio de 2019.

**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:** Esta comprendido por el agua del río Guano desde el sector llamado Cuatro Esquinas hasta el Barrio Cubijies.

**Muestra:** Se tomó 18 muestras de agua de 75 mililitros en 6 puntos estratégicos en el río Guano (3 muestras por cada punto), con una distancia de 42 Km aproximadamente.

#### **Técnicas y Procedimientos**

##### **Identificación del área de estudio**

En el presente trabajo se utilizó muestra de agua de seis diferentes puntos del Río Guano, el cual tiene una longitud de 459.70 Km<sup>2</sup>. En su recorrido atraviesa distintos lugares entre ellos

la parroquia rural de San Andrés, Cubijies y al cantón Guano el cual se establecieron diferentes puntos estratégicos de muestreo.

### Toma de muestra

Posteriormente se tomaron 3 muestras de agua en cada punto y se procedió a medir su altitud, pH y temperatura tanto del ambiente como del agua para ello se utilizaron frascos de plásticos estériles previamente rotulados, los recipientes se colocaron en el río y se realizó tres lavados previos a la obtención de la muestra final llenándolos las  $\frac{3}{4}$  partes, para un mejor muestreo se trabajó por triplicado, luego cada recipiente fueron embaladas para su transporte al laboratorio de microbiología en la facultad de Ciencias de la Salud de Universidad Nacional de Chimborazo para ser procesadas.

**Tabla 4.** Descripción de los diferentes puntos de la recolección de muestra

Puntos	Ubicación de Muestreo	Temperatura		pH
		Ambiente	Agua	
1	Cuatro esquinas Canal de Riego, Canal de Riego, de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda	18°	13°	7
2	Cuatro esquinas Naciente, de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda.	18°	13°	6
3	San Andrés, mirador agua Santa.	24°	15°	8
4	Antes de Guano, en la calle esmeraldas a 300 metros del puente.	22°	14°	7
5	Después de Guano a 500 metros de la calle Juan Velásquez	27°	14°	7
6	Avenida los Elenes, 100 después del puente	29°	19°	7

### Técnicas e instrumentos de recolección de datos

**Técnicas:** observación, recogida de muestras para el estudio microbiológico, siembra en medios de cultivo correspondientes.

**Instrumentos:** guía de observación, cámara fotográfica, envases y tubos estériles.



## **Procedimiento:**

La realización del Proyecto de Investigación para Titulación con el tema “Caracterización bacteriológica del agua del río Guano, 2019”, implicó el desarrollo de las siguientes actividades:

## **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, Hisopos estériles, Tubos con aditivos, 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.

## **Medios de cultivo usados para la investigación**

Para la presente investigación se utilizó agua peptonada alcalina, infusión cerebro- corazón, cistina electrolito deficiente (CLED, McConkey Himedia, Salmonella-Shigella (SS) Himedia, Tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) y Müller Hinton.

## **Aislamiento de bacterias patógenas de interés clínico presentes en las muestras**

Para el análisis de cada una de las muestras en el laboratorio se procedió a desinfectar cada una de las áreas de trabajo con alcohol al 70% se trabajó con extrema precaución y se utilizaron las barreras de bioseguridad para evitar posibles contaminaciones, tanto del analista como de las muestras a ser procesadas.

Para la técnica de aislamiento de colonias se tomó 1 ml de la muestra de agua río y se colocó en 9 ml de agua peptonada e incubamos por 24 horas a 37° C.

## **Preparación de medios de cultivo**

Para la presente investigación se seleccionaron los agares: Cistina Electrolito Deficiente (CLED), Sangre Himedia, McConkey, Salmonella-Shigella (SS), Tiosulfato Citrato Bilis

Sacarosa (TCBS) y Müller Hinton todo estos medios fueron preparados según las especificaciones del fabricante.

### **Técnica de aislamiento de colonias**

El cultivo inicial que se utilizó fue agar sangre y McConkey se sembró utilizando la técnica de arrastre o dispersión y se incubó a 37°C en posición invertida durante 24 horas. El aislamiento de las colonias se realizó a través de una resiembra en agar Sangre Himedia, McConkey Himedia, SS Himedia, usando la técnica de agotamiento donde se obtuvieron colonias puras, usando la técnica por agotamiento, y se incubó a 37°C durante 24 horas.

### **Coloración de Gram**

Es una técnica diferencial de suma importancia en la microbiología cuyo principio es el de la coloración de las bacterias según la propiedad de su pared, dando como resultados una coloración morada para las bacterias Gram positivas y la de un color rosado o rojo para las bacterias Gram negativas.

Se colocó cristal violeta por un minuto, se añadió lugol por un minuto, se decoloró con alcohol acetona durante 30 segundos, finalmente se adicionó fucsina o safranina por un minuto y se procedió a enjuagar con agua. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente para realizar su observación en un microscopio óptico a 100X con aceite de inmersión.

### **Pruebas fisiológicas y bioquímicas para identificación de género y especie**

Las bacterias Gram positivas sembradas y que crecieron en agar Sangre H, se les realizarán pruebas de catalasa, bilisesculina, hemólisis y motilidad. A las bacterias Gram negativas sembradas en el agar McConkey se les observó si presentan fermentación de lactosa y se les realizó pruebas de oxidasa, y las pruebas bioquímicas, Kligler, Ureasa, Citrato, LIA (Lisina Hierro agar), SIM (Sulfuro, Indol, Motilidad) y pruebas confirmatorias.

### **Medición de la resistencia antibiótica en las bacterias aisladas**

Después de la identificación de la bacteria se evaluó la resistencia y su sensibilidad a los diferentes antibióticos. Para aquello se utilizó la técnica de Kirby Bauer conocida también como difusión en disco (**Anexo 2**)

Para ello se utilizaron los siguientes discos de antibióticos: 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), Kanamicina, Novobiocin

**Procesamiento estadístico:**

En el análisis de los datos obtenidos tras la investigación, tanto de los microorganismos patógenos aislados como de sus mecanismos de resistencia, se llevará a cabo con un sistema estadístico descriptivo, para ello se procesarán y analizarán en el software estadístico Microsoft Excel 2013, utilizando las pruebas estadísticas media, desviación estándar, el mínimo, el máximo y valor promedio.

### CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el propósito de conocer cuales bacterias patógenas se encuentran en el río Guano, se escogieron seis sitios estratégicos para la recolección de cada una de las muestras, tomando en cuenta el recorrido del río, desde que nace hasta que se une con el río Chambo. Los puntos escogidos fueron: Cuatro esquinas en donde nace el Río Guano, la parroquia de San Andrés, el cantón Guano y el complejo turístico los Elenes.

En la tabla 5 se puntualizan los datos de altitud, pH y temperatura, observando que la temperatura del agua y del ambiente registraron entre los 13°C y 19°C en las aguas de río mientras que en el ambiente se registró una temperatura que oscila los 18° C y 29°C. El pH fue de 6 hasta 8.

**Tabla N° 5.-** Datos de altitud, temperatura del ambiente, agua y del pH obtenido en los diferentes puntos de muestreo.

Descripción de los puntos de toma de muestras					
Puntos	Ubicación	Altitud (msnm)	Temperatura		pH
			Ambiente (°C)	Agua (°C)	
1	Cuatro esquinas Canal de Riego, Canal de Riego, de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda	3500	18°	13°	7
2	Cuatro esquinas Naciente, de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda.	3500	18°	13°	6
3	San Andrés, mirador agua Santa.	3000	24°	15°	8
4	Antes de Guano, en la calle esmeraldas a 300 metros del puente.	2740	22°	14°	7
5	Después de Guano a 500 metros de la calle Juan Velásquez	2700	27°	14°	7
6	Avenida los Elenes, 100 después del puente	2200	29°	19°	7

La temperatura es uno de los factores ambientales indispensables para el crecimiento bacteriano y pueden provocar la conservación o la muerte de los microorganismos. Las

temperaturas bajas inducen la degeneración, tanto la membrana plasmática como el citoplasma que pierde su fluidez deteniendo o disminuyendo el transporte de nutrientes del medio externo y parando las reacciones enzimáticas. Por el contrario, las temperaturas demasiado elevadas, inactivan los sistemas enzimáticos desnaturalizando las proteínas y provocando un daño en la pared celular produciendo una lisis térmica.

La mayoría de las bacterias que son mesófitas tienen una temperatura óptima de crecimiento a 37°C, con rangos que oscilan entre los 30°C y 45°C, mientras que los microorganismos que son capaces de crecer por debajo de 5°C y con temperaturas máximas de 20°C se llaman psicrófilas. <sup>1</sup>.

Las bacterias patógenas al hombre son mesófilas y la mayoría de ellas crecen mejor a una temperatura cercana a las del cuerpo humano. La temperatura del agua del río Guano osciló entre los 13°C en la naciente hasta los 19°C en el punto del complejo recreacional los Elenes, por lo que es probable que no haya crecimiento de la bacteria patógenas a esta temperatura y que el río sea solo un vehículo utilizado por estos microorganismos para llegar a su destino final que son los humanos.

El pH es un factor importante para el crecimiento microbiano es la concentración de iones hidrógeno. En general, los ambientes para un óptimo crecimiento tienen un pH comprendido entre 5 y 9, la mayoría de los microorganismos crecen dentro de esos valores siendo así microorganismos neutrófilos <sup>45</sup>.

Al realizar la coloración Gram de cada una de las colonias aisladas, todas resultaron ser Gram Negativas, no se identificó bacterias Gram positivas Según Bergey [Bergey's Manual of Systematic Bacteriology] confirma que más del 80% de bacterias descritas en el manual que se pueden aislar en agua, son bacterias gram negativas y en su mayoría son entéricas, provenientes del tracto gastrointestinal de animales y humanos, denominadas bacterias fecales, cuya capacidad de sobrevivir y reproducirse en el agua es restringida dado el estrés fisiológico que presenta el medio acuoso <sup>46</sup>.

En la Tabla N° 6 se presentan las bacterias patógenas aisladas tanto en el río como en las aguas de regadío del Río Guano, observándose la presencia de 2 familias, Enterobacteriaceae con 7 especies diferentes (87.5%) y Pseudomonadaceae con 2 correspondiente a (12.5%).

**Tabla N°6:** Bacterias patógenas aisladas en las aguas de regadío del Rio Guano

<b>Bacterias Aisladas</b>		<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
<b>Familia</b>	<b>Especie</b>		
<b>Enterobacterias</b>	<i>Escherichia coli</i>	3	87.5
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	
	<i>Proteus mirabilis</i>	1	
	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	2	
	<i>Citrobacter diversus</i>	1	
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	
<b>Pseudomonadaseae</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	12.5
Total		<b>13</b>	<b>100%</b>

Información disponible en la Comisión Permanente de Revisión Anual de Normas de Calidad de Agua de Uso y Consumo Humano (COPERANCAUCH), evidencia que la contaminación más frecuente es producida por Enterobacterias, debido al arrastre por lluvias de materia orgánica proveniente de las prácticas agropecuarias, industrias farmacéuticas, efluentes domésticos, e industriales con descargas no habilitadas o difusas <sup>47</sup> .

En un trabajo llevado a cabo en aguas termales en la provincia de Chimborazo, Ecuador, se encontró *pseudomonas aeruginosa* <sup>48</sup> , al igual que esta investigación. La presencia de esta bacteria en las aguas de riego del rio Guano podría ser consecuencia de la descarga de desechos de origen animal o humanos

En la Tabla N° 7 se presenta la distribución de las bacterias patógenas aisladas de acuerdo al punto geográfico, encontrándose que en el sector de Cuatro esquinas/canal de riego, San Andrés y después del cantón Guano fueron encontradas 3 especies, representando el (20%) mientras que en Cuatro esquinas / nacimiento, antes de cantón Guano y en el complejo turístico Los Elenes se encontró 2 especies que representa el 13.3%.

**Tabla N°7.** Distribución de las bacterias aisladas según la ubicación geográfica de cada punto de muestreo

Puntos de muestreo	Bacterias Aisladas								Frecuencia (n)	Porcentaje (%)	Temperatura	
	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>C. amalonaticus</i>	<i>C. diversus</i>	<i>P. shigelloides</i>	<i>P. aeruginosa</i>				
Cuatro esquinas Canal de Riego, Canal de Riego, de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda		1			1				2	15.4	18°	13°
Cuatro esquinas Naciente, de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda.	2								2	15.4	18°	13°
San Andrés, mirador agua Santa.	1							1	2	15.4	24°	15°
Antes de Guano, en la calle esmeraldas a 300 metros del puente.					1		1		2	15.4	22°	14°
Después de Guano a 500 metros de la calle Juan Velásquez				1		1		1	3	23	27°	14°
Avenida los Elenes, 100 después del puente		1						1	2	15.4	29°	19°
<b>TOTAL</b>									13	100		

Después del cantón Guano fue el sector donde mayor cantidad de bacterias se pudo aislar con un porcentaje de 23% y en los demás lugares se encontró un 2 bacterias correspondiente a 15.4% investigaciones previas han demostrado que el río Guano es uno de los ríos más contaminados de la provincia de Chimborazo (21) (22)

Diferentes investigaciones han podido demostrar la contaminación bacteriana en vegetales debido a la utilización de aguas de riego contaminadas con heces humanas o de animales, el

uso de estiércol como abono orgánico, la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* El desconocimiento de la presencia de estos contaminantes han provocado una mala manipulación tanto en el momento del cultivo, al momento de la cosecha y en el lavado de las verduras, lo que resulta perjudicial tanto para el productor como para el consumidor (19) (20).

En la Tabla N° 8 se presenta el patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos de bacterias patógenas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, observándose que *Citrobacter amalonaticus* (cepa3) es resistente a 4 antibióticos, *Enterobacter aerogenes* presento 3 resistencia , *Escherichia coli* (cepa1) y *Citrobacter diversus* presento 2 resistencias *Escherichia coli*(cepa3) *Escherichia coli*(cepa4), *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* fueron resistentes a un antibiótico.

**Tabla N° 8:** Patrón de susceptibilidad y resistencia de bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*.

Ubicación	Bacteria	CN	K	CT	TE	CIP	AN	SXT	CRO	CAZ	IPM	ATM	AZM	AX	FOX
Cuatro esquinas, Canal de Riego de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	-- --	S	S
Cuatro esquinas Naciente, de la entrada a Calshi, 500 metros a la izquierda.	<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	-- --
San Andrés, mirador agua Santa.	<i>Escherichia coli (cepa1)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
Antes de Guano, en la calle esmeraldas a	<i>Escherichia coli(cepa2)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S



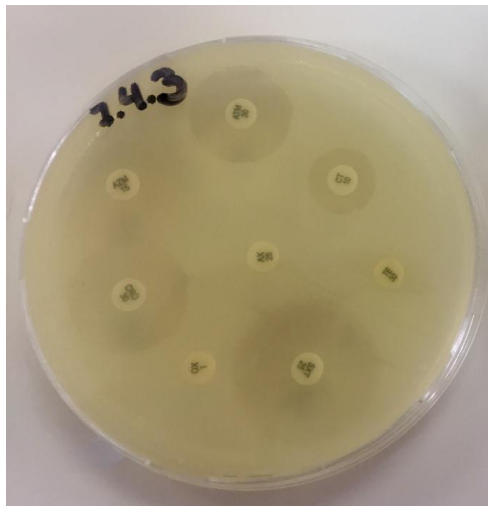
300 metros del puente.															
Después de Guano a 500 metros de la calle Juan Velásquez	<i>Escherichia coli(cepa3)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Avenida los Elenes, 100 después del puente	<i>Citrobacter amalonaticus (cepa3)</i>	S	I	S	R	S	S	S	I	R	S	I	R	R	--
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	--	--	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	--
San Andrés, mirador agua Santa.	<i>Proteus mirabilis</i>	I	I	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	I	--
	<i>Citrobacter diversus</i>	S	I	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	R	--
Antes de Guano, en la calle esmeraldas a 300 metros del puente.	<i>Enterobacter cloacae</i>	S	S	S	S	S	--	S	S	S	S	S	S	S	--

R: Resistente S: Sensible I: Intermedio , CN: gentamicina, K:kanamicina, CT:colistin, TE:tetraciclina, CIP:ciprofloxacina,AN: ácido nalidixico, SXT:trimetropin, CRO:ceftriazona, CAZ: ceftazidime, IPM: imipenem, ATM:aztrenam, AZM:azitromicina, AX:amoxicilina, AMC: amoxicilina/ácido clavulánico, FOX: cefoxitin

*Citrobacter amalonaticus*, anteriormente llamado *Levinea amalonatica*, se estudió y describió por primera vez en 1971 después de ser aislado de varias muestras humanas de pacientes hospitalizados, especialmente en las heces. Es una bacteria que por lo general se encuentra en el medio ambiente como peces, leche cruda, salas de ordeño de granja, carne de salchicha, papas crudas, queso, alimentos congelados listos para el horno, productos de confitería, en los humanos es una bacteria oportunista, implicada en numerosos procesos infecciosos. Se ha aislado esporádicamente en muestras fecales, de orina, de heridas y respiratorias (*Citrobacter amalonaticus* human urinary tract infections, Marseille, France. V. Garcia, C. Abat, V. Moal and J.-M. Rolain. *New Microbe and New Infect* 2016; 11: 1–5). En esta investigación se encontró una cepa de *Citrobacter amalonaticus* que

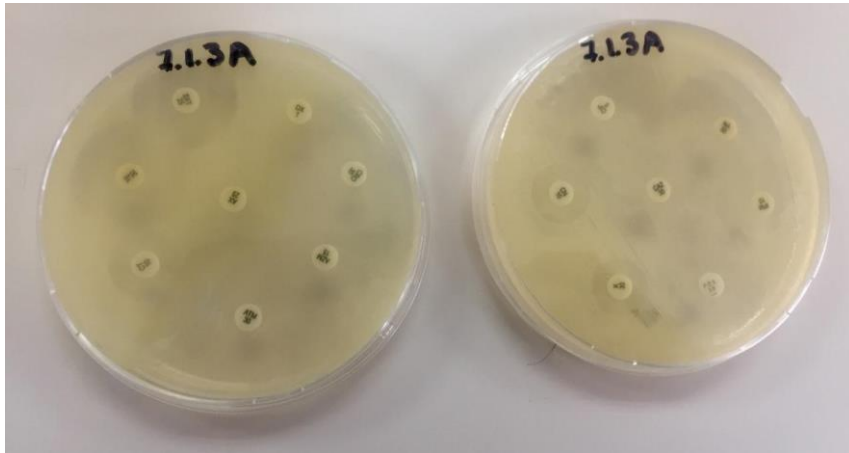
resultó ser resistente a la tetraciclina y a tres antibióticos de la familia de los betalactámicos (Imagen 1).

Estudios realizados previamente, en bagres cultivados, señalan que cincuenta y dos cepas de *Citrobacter* spp, entre ellas *Citrobacter amalonaticus* resultaron ser resistentes a la tetraciclina. El uso generalizado de antibióticos como oxitetraciclina y sulfadimetoxina -ormetoprim puede dar como resultado la selección de resistencia a la tetraciclina y sulfonamida y en bacterias que causan infecciones y enfermedades en el bagre y comensales. La resistencia a los medicamentos en los ecosistemas acuícolas puede resultar en la transferencia de determinantes de resistencia a la tetraciclina y sulfonamida para bacterias en ecosistemas clínicos y otros (Nawaz, M., Khan, A. A., Khan, S., Sung, K., & Steele, R. (2008). Isolation and characterization of tetracycline-resistant *Citrobacter* spp. from catfish. *Food Microbiology*, 25(1), 85–91. doi:10.1016/j.fm.2007.07.008).

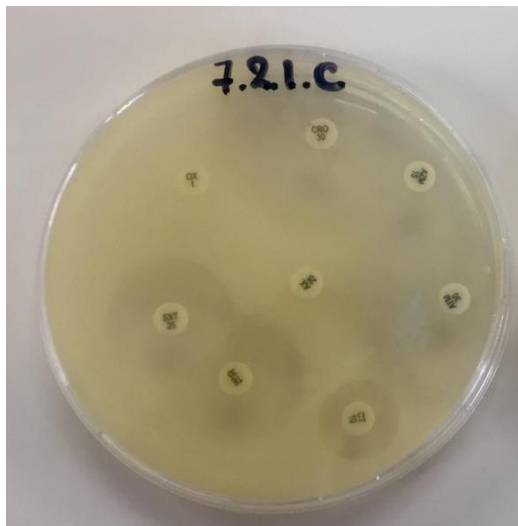


**Imagen 1** Antibiograma de *Citrobacter amalonaticus* (*cepa3*)

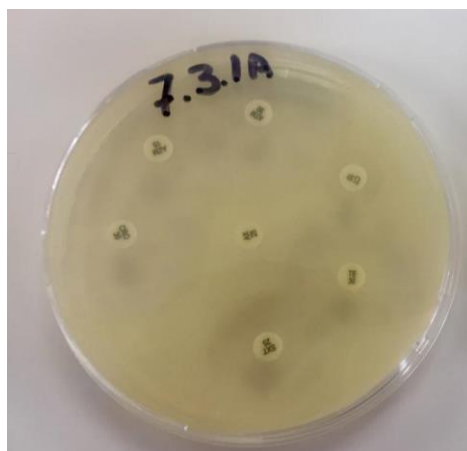
*Enterobacter aerogenes* presento resistencia a la gentamicina, kanamicina y amoxicilina (**Imagen 2**), *Escherichia coli* (*cepa1*) tiene una resistencia a la amoxicilina y cefoxitin, (**Imagen 3**), *Escherichia coli* (*cepa3*) (**Imagen 4**) y *Escherichia coli* (*cepa4*) tiene mostraron resistencia a la amoxicilina (**Imagen 5**).



**Imagen 2** Antibiograma de *Enterobacter aerogenes* resistencia a gentamicina, kanamicina y amoxicilina.



**Imagen 3** Antibiograma de *Escherichia coli* (cepa1) resistente a amoxicilina y cefocitina



**Imagen 4.** Antibiograma de *Escherichia coli* (cepa3) resistente a amoxicilina



**Imagen 5.** Antibiograma de *Escherichia coli* (cepa4) resistente a amoxicilina.

En la Tabla N° 9 se presenta el patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos de bacterias patógenas pertenecientes a la familia *Pseudomonadaseae*, observándose que *Pseudomonas aeruginosa* (cepa 1) presenta una resistencia a kanamicina

**Tabla N°9:** Patrón de susceptibilidad y resistencia de bacterias pertenecientes a la familia *Pseudomonadaseae*

Ubicación	Especie	CN	K	CT	CIP	CAZ	IPM	ATM
San Andrés, mirador agua Santa.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 1)	S	R	S	S	S	S	S
Después de Guano a 500 metros de la calle Juan Velásquez	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 2)	S	S	S	S	S	S	I

CN: gentamicina, K: kanamicina, CT: colistin, CIP: ciprofloxacina, CAZ: ceftazidime, IPM: imipenem, Y ATM: aztrenam

*Pseudomonas aeruginosa*, patógeno gramnegativo versátil y oportunista debido a su gran adaptabilidad fisiológica, potencial metabólico y mecanismos de virulencia, es causa

frecuente a escala mundial de severas infecciones en pacientes hospitalizados, es capaz de infectar prácticamente todas las localizaciones del organismo humano y desarrollar entonces a partir de la infección, la diseminación hemática, septicemia y lesiones focales en diversos tejidos <sup>29</sup> .

Su hábitat es básicamente el medio ambiente, pero en ocasiones pueden encontrarse en el tubo digestivo de seres humanos, es por esto por lo que se las agrupa entre las enterobacterias, este género se relaciona con diarrea enterotóxica.

En este trabajo de investigación hemos encontrado que es resistente al antibiótico kanamicina, perteneciente a la familia de los aminoglicósidos. *Pseudomonas aeruginosa* exhibe muchos mecanismos de resistencia, incluyendo enzimas que modifican a los antimicrobianos como  $\beta$ -lactamasas y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, la adquisición plásmidos que codifican para genes de resistencia, permeabilidad limitada para los antimicrobianos y la posibilidad de generar una bomba dependiente de energía que expulsa al antimicrobiano fuera de la bacteria <sup>49</sup>

## CONCLUSIONES

- Se establecieron seis puntos estratégicos a lo largo del Río Guano para realizar la toma de muestra. Los lugares elegidos fueron Cuatro esquinas (canal de riego), Cuatro esquinas (naciente), San Andrés, antes del ingreso al cantón Guano, después de la Salida del cantón Guano, Complejo turístico los Elenes. Se obtuvo información sobre la altitud, pH, y temperatura tanto del agua como del ambiente.
- Se identificaron 15 bacterias patógenas y de interés clínico, originarios de cada estación de muestreo del Río Guano en donde el 80% de la población bacteriana pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* con 12 especies diferentes y *Pseudomonadaceae* correspondiente a (20%), todas gramnegativas y aisladas mediante pruebas bioquímicas y fisiológicas obteniendo: *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* (4), *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter amalonaticus*(3), *Citrobacter diversus*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas aeruginosa*(3).
- Los resultados obtenidos a cerca de la resistencia antimicrobiana nos muestran que la mayoría de las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* fueron resistentes a la amoxicilina y a la tetraciclina. *P. aeruginosa* resultó ser resistente a la kanamicina, la mayoría de estos antibióticos de uso médicos, lo cual confirman que realmente existen bacterias patógenas del interés clínico que podría dar lugar a infecciones no solo a las personas cercanas al río sino a toda la población que consumen los vegetales que son cultivados con estas aguas.

## **RECOMENDACIONES**

- Es importante realizar la medición de pH, temperatura del agua y del ambiente antes de realizar a investigaciones relacionados al estudio bacteriano de origen hídrico para tener un mayor conocimiento de las condiciones en las cuales crecen las bacterias.
- Antes de realizar la siembra e identificación de las bacterias es importante colocar la muestra en agua peptonada como medio de enriquecimiento líquido no selectivo ya que es útil en la recuperación de bacterias que fueron dañadas, maltratadas ya sea en su recolección o transporte.
- Es necesario realizar resiembras para la conservación de cepas frescas y colonias aisladas antes de efectuar el antibiograma con el fin de obtener resultados confiables y de calidad al ejecutar las pruebas de sensibilidad.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Sanchez F, Marin R, Garcia M. Principales medios de la Biosfera. In Puig R, editor. Enciclopedia estudiantil Lexus. Tercera ed. España: Garfos S.A Arte sobre el papel Barcelona; 2012. p. 209-210.
2. Andueza FD. Microbiología del agua. In Microbiología del agua; 2014; San José de Costa Rica. p. 23.
3. María Apello, Paula Araujo. Microbiología de agua. [Internet].; 2015 [citado 2019 Mayo 13. Disponible en: [https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02\\_Capitulo\\_02.pdf](https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf).
4. Echevarria Z, Quilca I. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. Revista Medica Heredia. 2013 Jun; 9(2).
5. Cesar D. Cambio Global Impacto de la actividad humana sobre el sistema tierra. Segunda ed. Madrid: CSIC; 2006.
6. C C. Saneamiento y aguas residuales. Organizacion mundial de la salud. 2017 Febrero; 15(10).
7. Andrea Campaña, Ekaterina Gualoto, Viviana Chiluisa-Utreras. 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. 2017 Febrero ; 2(305-10).
8. Troya Carlos[1], Herrera Diego[1], Guevara Alicia, Obregón Miguel, Gaus David, Larcos Dann, Sánchez Xavier. Monitoreo local de resistencia a los antibióticos en Escherichia coli en una zona rural de Ecuador: más allá del modelo biomédico. Practica Familiar Rural. 2016 Marzo; 1(1).
9. Sandra Villagómez Estrada, María Logacho Pilataxi, Christian Vinueza Burgos. Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de Salmonella enterica



aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas. 2017 Mayo; 38(1).

10. Yesenia RG. Estudio microbiológico de las aguas termales del balneario turístico Yanaacu ubicado en el cantón La Troncal perteneciente a la provincia de Cañar. In Yesenia RG.. Riobamba: ESPOCH; 2015. p. 126.
11. Orozco J, Molina J. Resistencia antimicrobiana en bacterias de interés clínico aisladas en el río Chambo. In Resistencia antimicrobiana en bacterias de interés clínico aisladas en el río Chambo. Riobamba: UNACH; 2018. p. 49.
12. Cevallos C. Caracterización de la calidad hídrica de la microcuenca del río Guano ESPOCH, editor. Riobamba; 2015.
13. Constitución de la República del Ecuador. Ediciones Legales. [Internet].; 2008 [citado 2019 Mayo 14. disponible en: <http://www.pucesi.edu.ec/webs/wp-content/uploads/2018/03/Constituci%C3%B3n-de-la-República-2008.pdf>.
14. Desarrollo SndPy. Senplades Toda una vida. [Internet].; 2017-2021 [citado 2019 Mayo 14. Disponible en: [http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL\\_0K.compressed1.pdf](http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL_0K.compressed1.pdf).
15. Guillén N, Sánchez C. The importance of the value of water. The Paraguayan case. 2nd ed. Paraguay: ERSSAN; 2016.
16. Octavio F. Tipos de agua y su importancia para la vida. KERCHAK. 2014 Abril; 4(2).
17. Pulido S, Miranda V, Guzmán G, Molano E. Origen y Características de las aguas residuales. PTAR-Uniminuto. 2013 Julio; 1(2).
18. Fernández A. El agua un recurso esencial. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal; 2014 Diciembre.
19. Hernández C, Hernández M, Cháidez C, Rendón G. Scielo Detección de Salmonella y coliformes fecales en agua de uso agrícola para la producción de melón. [Internet].; 2010 [citado 2019 06 22; Disponible en:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0568-25172008000100009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172008000100009).

20. Rivera M, Rodríguez C, López J. Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. [Internet].; 2010 [citado 2019 06 22. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342009000100009](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000100009).
21. Jaramillo R. El principal sistema hidrográfico lo constituye el río Chambo y sus afluentes el Guamote, Chibunga, Guano, Sicalpa, San Juan y Blanco. El Chambo nace en la cordillera Central, cruza el territorio de Sur a Norte y al unirse con el Patate forma el Pastaza. El Universo. 2014 Apr: p. 10-12.
22. Guano G. Estudio y Plan de Mitigación sobre la Contaminación. Primera ed. Conton Guano: Imprenta Gutemberg; 2009.
23. Caicedo LI, Marcillo K. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN BACTERIAS PATÓGENAS. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo, Ciencias de la salud; 2018.
24. Román F, Gaybor A . Boletín semestral de la Central Ecuatoriana de Servicios Agrícolas. CESA. 2013 Mayo; 2(25).
25. Dávila C, Sebastián M. Repositorio Institucional de la Universidad de Cuenca. [Internet]. Cuenca; 2015 [citado 2019 06 22. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/21650>.
26. Devos P, Garrity G, Jones G. Manual of Systematic Bacteriology. Tercera Edicion ed. Whitman WB, editor. London New York: Springer; 2009.
27. Bartham J. Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for quality and human health. 2nd ed. Londres Reino Unido: IWA Publishing; 2010.

28. Estupiñán M, Ávila S, López Y, Martínez S. Scielo. [Internet].; 2016 [citado 2019 06 24]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v15n27/1794-2470-nova-15-27-00025.pdf>.
29. Esnard S, Moya A, Cedré B, Valmaseda T, Navarro Y, Sierra G. Scielo. [Internet].; 2013 [citado 2019 06 24]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v13n1/vac01104.pdf>.
30. Tobón S, Cadavid R, Builes L. Scielo Pathogens and microbiological indicators of the quality of water for human consumption. [Internet].; 2017 [citado 2019 06 24]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnsp/v35n2/0120-386X-rfnsp-35-02-00236.pdf>.
31. Apella M, Araujo P. Solar Safe Water. [Internet].; 2015 [citado 2019 06 24]. Disponible en:  
[https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02\\_Capitulo\\_02.pdf](https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf).
32. Vásquez G, Castro G, González I, Pérez R, Castro T. Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua. o. El Hombre y su Ambiente, UAM-X. 2014 Aug; 2(1).
33. García O, Rodríguez H, Rodríguez H. Scielo. [Internet].; 2017 [citado 2019 08 26]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552017000400006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552017000400006).
34. López C, Vegas L, Paloma L. Centro Nacional de Epidemiología. [Internet].; 2016 [citado 2019 06 24]. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-sistema-informacion-microbiologica/pdf\\_2016/SIM\\_2015.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-sistema-informacion-microbiologica/pdf_2016/SIM_2015.pdf).
35. Barreto M, Castillo M, Retamal P. Infectología al Día Salmonella enterica: una revisión de la trilogía agente hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. [Internet].; 2016 [citado 2019 06 24]. Disponible en: [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_11.pdf](https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_11.pdf).

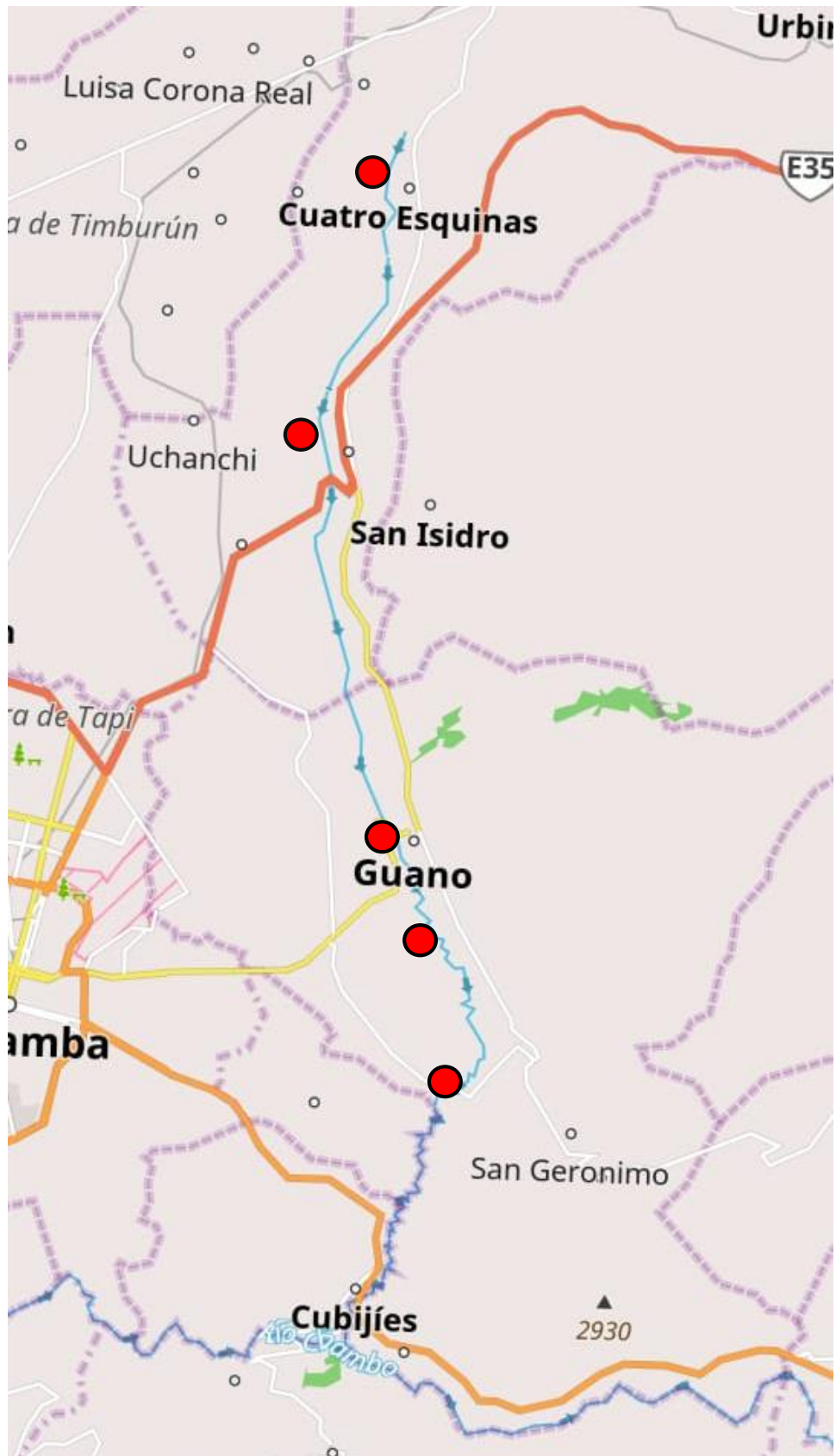
36. Cantón R, Paz S. Control de Calidad SEIMC. [Internet].; 2014 [citado 2019 Junio 23. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Ppenneri.pdf>.
37. Treviño M, Navarro D, Barbeito G. Revista de España Quimioter Proteus mirabilis productor de AmpC plasmídica en el Área Sanitaria de Santiago de Compostela. [Internet].; 2014 [citado 2019 Junio 23. Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/25/2/trevino.pdf>.
38. Valdés M. Microbial resistance in the current context and the importance of knowledge and application in antimicrobial policy. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2017 Junio; 13(3).
39. Hajime I, Sprenger M. Qué es la resistencia a los antimicrobianos. [Internet].; 2017 [citado 2019 Mayo 21. Disponible en: <http://www.who.int/features/qa/75/es/>.
40. Morales M. BINASS Antimicrobianos una revision sobre mecanismos de accion y desarrollo e resistencias. [Internet].; 2016 [citado 2019 Junio 25. Disponible en: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/amc/v28n2/art3.pdf>.
41. Claudia T, Mónica P, Andrés S. Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula. scielo. 2017 Agosto; 35(4).
42. Chandra, H, Bishnoi P, Yadav A, Patni B, Mishra A. Antimicrobial resistance and the alternative resources with special. scielo. 2017 Junio; 2(6).
43. Jawetz M, Melnick A. Microbiología Médica. . 2011. p 219, 339-341. In Fraga JdL, editor. Microbiología Médica. 25th ed. Mexico DC: Mc Graw Hill; 2011. p. 219,339-341.
44. Ang JY, Ezike E, Asmar BI. Antibacterial resistance. In Pediat J, editor. Antibacterial resistance. Indian: Asmar BI; 2004. p. 71: 229-239.
45. Rocío J, Valdés S, Olalde V, Juárez R. Efecto del pH y temperatura sobre el crecimiento y actividad antagonica de Bacillus subtilis sobre Rhizoctonia solani. Scielo. 2018 Agosto; 6(2).

46. Ríos S, Agudelo R, Gutiérrez A. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad de agua para consumo Humano. *Fac. Nac. Salud Pública*. 2017 Mayo; 35(2).
47. Petcheneshky T. Directrices sanitarias para enteropatógenos y microorganismos oportunistas en agua ambiente. *Dirección Nacional de Determinantes de la Salud*. 2016; 125(2).
48. Félix Andueza, Ana Albuja, Paola Arguelles, Sandra Escobar, Carlos Espinoza, Judith Araque, Gerardo Medina. Antimicrobial resistance in strains *Pseudomonas aeruginosa* isolated from thermal waters at Chimborazo, Ecuador. *Real Academia Nacional de Farmacia*. 2015 Febrero ; 81(2).
49. Paz V, Mordani S, Martínez A., *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista Chilena Infectol*. 2019 Mar 02;; p. 180-189.

# Anexos

# **Anexo N° 1**

## **Puntos de Muestreo**



**Figura 1.** Ubicación de OsmAnd Mapas y Navegación fuera de línea los diferentes puntos muestreo en la microcuenca del Rio Guano.

**Fuente:** OsmAnd Maps



# **Anexo N°2**

## **Tablas de Resultados**

**Tabla N° 12:** Patrón de susceptibilidad y resistencia de bacterias Gram negativas

Bacteria	CN		K		CT		TE		CIP		AN		SXT		CRO		CAZ		IPM		ATM		AZM		AX		FOX	
	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int	n	Int
Escherichia coli (cepa1)	21	S	19	S	14	S	23	S	34	S	28	S	22	S	34	S	28	S	23	S	36	S	22	S	0	R	14	R
Escherichia coli(cepa2)	15	S	18	S	11	S	15	S	21	S	15	S	16	S	23	S	24	S	23	S	21	S	13	S	18	S	--	--
Escherichia coli(cepa3)	19	S	20	S	13	S	29	S	46	S	44	S	23	S	32	S	34	S	36	S	34	S	20	S	0	R	--	--
Escherichia coli(cepa4)	17	S	18	S	14	S	29	S	30	S	24	S	24	S	28	S	28	S	30	S	31	S	16	S	22	S	--	--
Enterobacter aerogenes	9	R	8	R	15	S	25	S	32	S	30	S	23	S	34	S	28	S	22	I	42	S	23	S	0	R	21	S
Enterobacter cloacae	24	S	24	S	12	S	15	S	38	S	--	--	21	S	24	S	28	S	28	S	24	S	16	S	18	S	--	--
Proteus mirabilis	14	I	16	I	14	S	23	S	24	I	0	R	25	S	28	S	25	S	26	S	28	S	16	S	13	I	--	--
Citrobacter amalonaticus-C1	19	S	18	S	13	S	14	I	29	S	26	S	19	S	31	S	27	S	29	S	32	S	--	--	21	S	--	--
Citrobacter amalonaticus -C2	21	S	20	S	16	S	24	S	36	S	32	S	21	S	38	S	30	S	26	S	34	S	24	S	0	S	--	--
Citrobacter amalonaticus -C3	18	S	17	I	13	S	0	R	30	S	22	S	24	S	21	I	16	R	29	S	19	I	11	R	0	R	--	--
Citrobacter diversus	18	S	16	I	13	S	0	R	26	S	18	I	22	S	27	S	25	S	26	S	30	S	14	S	1	R	--	--

CN: gentamicina, K:kanamicina, CT:colistin, TE:tetraciclina, CIP:ciprofloxacina,AN: ácido nalidixico, SXT:trimetropin, CRO:ceftriazona, CAZ: ceftazidime, IPM: imipenem, ATM:aztreonam, AZM:azitromicina, AX:amoxicilina, AMC: amoxicilina/ácido clavulánico, FOX: cefoxitin

# **Anexo N° 3**

## **Evidencias Fotográficas**



**Imagen 1** Cuatro esquinas, punto de muestreo nacimiento del Rio Guano

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”**



**Imagen 2** Cuatro esquinas, punto de muestreo canal de riego

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”**



**Imagen 3** Toma de muestra Parroquia San Andrés

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”**



**Imagen 4** Cantón Guano, punto de muestreo antes de la ciudad

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”**





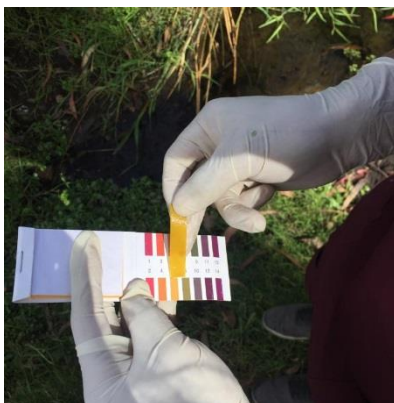
**Imagen 5** Cantón Guano, punto de muestreo despues de la ciudad

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”**



**Imagen 6** Cantón Guano, punto de muestreo después del complejo turístico los Elenes

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”**



**Imagen 7** Medición del pH

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Río Guano 2019”**



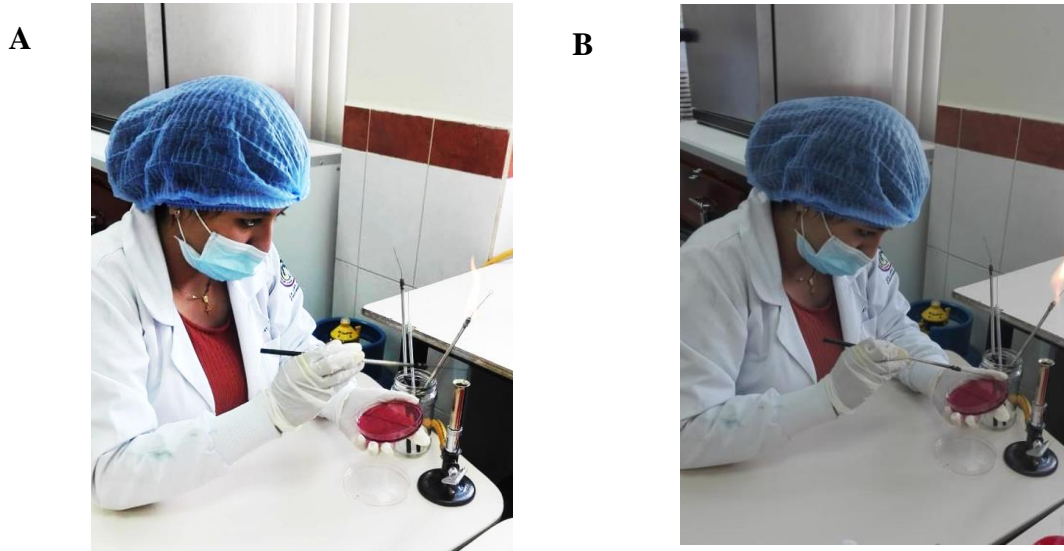
**Imagen 8** Medición de la temperatura del agua del río

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Río Guano 2019”**



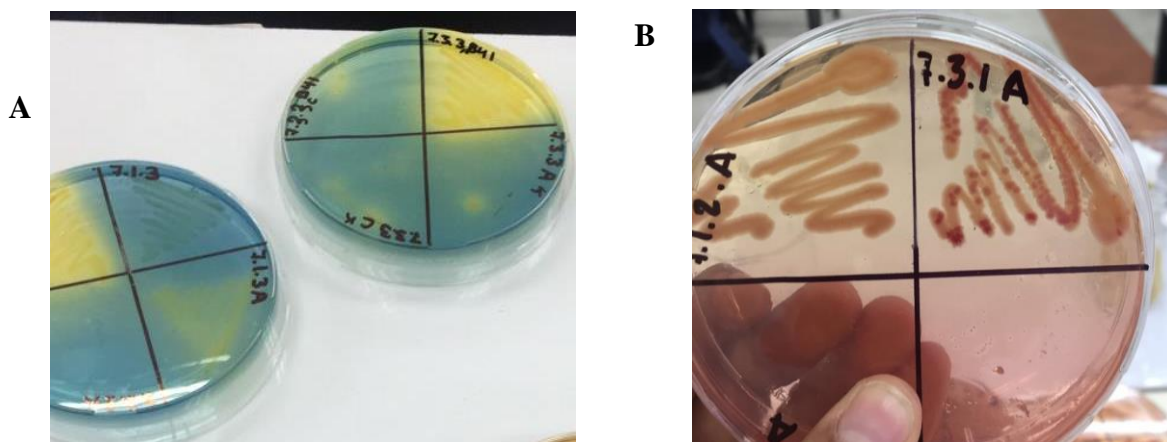
**Imagen 9** Utilización del agua peptonada como medio de enriquecimiento en las muestras que fueron recolectadas

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Río Guano 2019”**



**Imagen 10 A.-** Siembra de las muestras en agar Sangre.**B.-** Siembra de las muestras en agar MacConkey

**Fuente:** Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”



Colonias pequeñas de color amarillo en agar CLED después de 24 horas de incubación a 37°C. **B)** Colonias fermentadoras de lactosa y no fermentadoras de lactosa en

**Fuente:** Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”





**Imagen 12.** Resiembra de las cepas en agar MacConkey y CLED para la obtención de cepas puras.

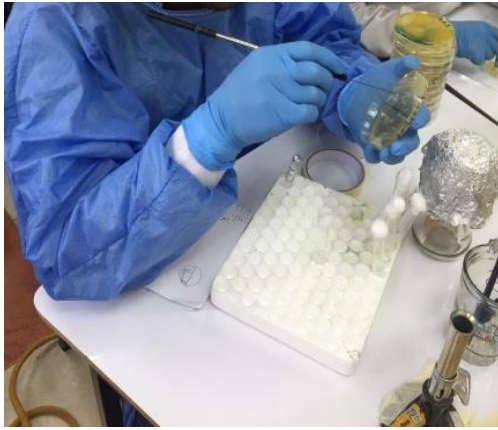
**Fuente:** Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”



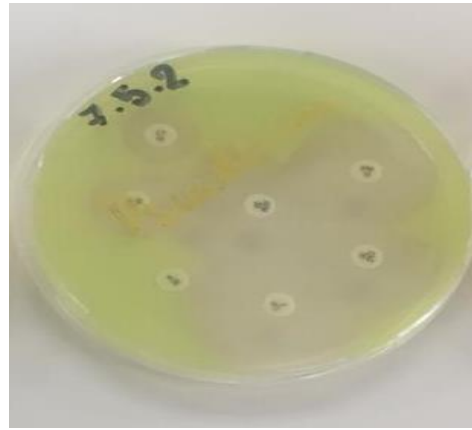
**Imagen 13.** Resultados de las pruebas bioquímicas de las muestras para su posterior identificación.

**Fuente:** Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”

**A**



**B**



**Imagen 14. A.-** Realización del antibiograma por la técnica de Kirby Bauer conocida también como difusión en disco. **B.-** Resultados obtenidos en al antibiograma en una muestra de *Pseudomonas aeruginosa* a las 24 horas

**Fuente: Nogales E., Vela J., Proyecto “Caracterización bacteriológica del agua del Rio Guano 2019”**

**Anexo N°4:**  
Aprobación del Título del  
Proyecto de Investigación



DECANATO FACULTAD  
DE CIENCIAS DE LA SALUD



Riobamba, 14 de mayo de 2019  
Oficio No. 0490-RD-FCS-2019

Señores  
NOGALES QUISHPE EVELYN VALERIA  
VELA PADILLA JOHNATHAN DAVID  
**ESTUDIANTE DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNACH  
En su despacho. –

De mi consideración:

Cumplo con el deber de informar la resolución de Decanato de fecha: martes 14 de mayo de 2019.

**RESOLUCIÓN No. 0490-D-FCS-14-05-2019:** Aprobar el tema, perfil y Miembros de Tribunales de la carrera de Laboratorio Clínico (Of. No. 287-CLCH-FCS-2019. Aprobación Comisión de Carrera y CID de la Facultad), de acuerdo al siguiente detalle:

ESTUDIANTE(S)	TEMA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO	TEMA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN REVISADO Y/O REFORMADO POR LA COMISIÓN Y CID	ÁREA DEL CONOCIMIENTO Y LÍNEA DE INVESTIGACIÓN	TRIBUNAL APROBADO ART. 173 TRABAJO ESCRITO	TRIBUNAL APROBADO ART. 174 SUSTENTACIÓN	INFORME DE LA COMISIÓN DE CARRERA	FECHA DE COHORTE	
							INICIO DE ESTUDIOS	FIN DE ESTUDIOS
Nogales Quishpe Evelyn Valeria Vela Padilla Johnathan David	Susceptibilidad y resistencia antimicrobiana de bacterias de importancia clínica aisladas de aguas del Río Guano Abril - Julio 2019	Caracterización bacteriológica del agua del río Guano, 2019	Área de conocimiento: Ciencias Línea de investigación: Ciencias de la vida Descripción: Microbiología	<b>TUTOR:</b> Ph.D. Morella Lucía Guillén Ferraro	Preside: Mgs. Aída Mercedes Balladares Salto  Miembro MsC. Félix Atair Falconí Ontaneda  Miembro Lic. Eliana Elizabeth Martínez Durán	<b>APROBADO</b>	Marzo - agosto 2015  Marzo - Agosto 2015	Octubre 2018 - marzo 2019  Octubre 2018 - Marzo 2019

Particular que informo para los fines pertinentes.

Atentamente,

Dr. Gonzalo Bonilla P.  
**DECANO DE LA FACULTAD**  
**CIENCIAS DE LA SALUD - UNACH**

Elaboración de Resoluciones Decanato: 14-05-2019: MsC. Ligia Viteri  
Transcripción Resoluciones Decanato: 14-05-2019: Jenny Castelo  
Revisado y Aprobado: Dr. Gonzalo Bonilla

**Anexo N°5:**  
**Ficha de Observación**

## FICHA DE OBSERVACIÓN DE LA TOMA DE MUESTRA

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:** Impacto sobre la salud humana ocasionado por la contaminación bacteriana de las aguas de riego utilizadas en la agricultura en la provincia de Chimborazo, Ecuador”

Nº de muestra: \_\_\_\_\_

Nombres de los estudiantes: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Muestra: Agua \_\_\_\_ Producto Agrícola \_\_\_\_ Río: \_\_\_\_\_

Muestra tomada en (lugar): \_\_\_\_\_

Temperatura: Medio Ambiente \_\_\_\_\_ Agua \_\_\_\_\_ (sólo para agua)

PH: \_\_\_\_\_ (sólo para agua)

### **Observación:**

Presencia de animales en los cultivos: \_\_\_\_\_

Viviendas colindantes: \_\_\_\_\_

Otra fuente que se considere contaminación: \_\_\_\_\_ Cuál: \_\_\_\_\_

Realizado por:

\_\_\_\_\_  
Evelyn Nogales

\_\_\_\_\_  
Johnathan Vela

**Estudiantes**

\_\_\_\_\_  
PhD. Morella Guillen Ferraro

**Tutor**