



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Informe final de investigación previo a la obtención del título de Licenciados en Ciencias de la
Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Identificación de bacterias de importancia clínica en productos agrícolas de la
cuena del río Guamote

Autora: Irene Dayana Lara Guarnizo

Tutora: Lic. Eliana Elizabeth Martínez Durán

Riobamba - Ecuador

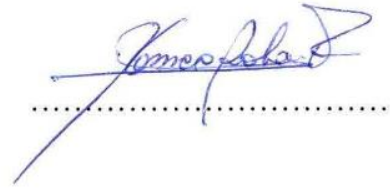
2019

Revisión del Tribunal

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Identificación de bacterias de importancia clínica en productos agrícolas de la cuenca del río Guamote; presentado por Irene Dayana Lara Guamizo, dirigido por Lic. Eliana Elizabeth Martínez Durán, una vez escuchada la defensa oral y realizado 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. Ximena Robalino

Presidente del Tribunal



Mgs. Yisela Ramos Campi

Miembro del Tribunal



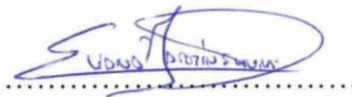
MsC. Celio García

Miembro del Tribunal



DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA

Yo, Eliana Elizabeth Martínez Durán docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de tutora del proyecto de investigación con el tema “Identificación de bacterias de importancia clínica en productos agrícolas de la cuenca del río Guamote”, presentado por la Srta. Irene Dayana Lara Guarnizo, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad de Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apta para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a la interesada en hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



Lic. Eliana Elizabeth Martínez Durán

Tutor de proyecto de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del presente proyecto de graduación, nos corresponde exclusivamente a Irene Dayana Lara Guarnizo y Eliana Elizabeth Martínez Durán. El patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.



Irene Dayana Lara Guarnizo

171848542-6

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a personas que han sido un apoyo a lo largo de mis estudios, así como con la realización de este proyecto. A mi Padre Ramiro Lara, a mi madre Sonia Guarnizo, a mis familiares y personas cercanas como Fabry, por su apoyo constante e incondicional. A los docentes de la Universidad Nacional de Chimborazo, por permitirme alcanzar los conocimientos requeridos para ejercer mi profesión. Finalmente, agradecer al Ingeniero Félix Falconí que de manera directa apporto con su conocimiento y experiencia.

Irene Dayana Lara Guarnizo

DEDICATORIA

Este proyecto está dedicado a Dios, quien me ha dado fortaleza para la realización de este sueño. Con mucho amor a mi familia quienes han formado parte indispensable en mi vida y que me han apoyado tanto, en especial a mis padres, hermano y Denisse. A ellos con mucho aprecio.

Irene Dayana Lara Guarnizo

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
General	4
Específicos	4
CAPÍTULO I.	
MARCO TEÓRICO.....	5
Productos agrícolas y su relación con el agua.....	5
Cantón Guamote.....	6
Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)	6
Bacterias beneficiosas en productos agrícolas.	7
Bacterias patógenas más comunes encontradas en productos agrícolas	7
Coliformes totales	8
Enterobacterias	8
<i>Escherichia coli</i>	8
<i>Klebsiella spp</i>	9
<i>Enterobacter</i>	9
<i>Citrobacter</i>	9
<i>Proteus</i>	9
Aeromonas spp.....	10
Pseudomonas.....	10
Cocos grampositivos	10
<i>Enterococcus spp</i>	10
Resistencia antimicrobiana.....	11
Tipos de resistencia	11
Mecanismos de resistencia	12
CAPÍTULO II.	
METODOLOGÍA	13
Tipo de investigación	13
Población.....	13
Muestra.....	13
Técnicas y procedimientos	13
Procesamiento estadístico	16
Consideraciones éticas	16

CAPÍTULO III.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
CONCLUSIONES	24
RECOMENDACIONES	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
ANEXOS.....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. Bomba de eflujo expulsando el antimicrobiano.	12
Figura N° 2: Ubicación de los puntos de muestreo de productos agrícolas del Río Guamote: Punto 1: Chipo Grande. Punto 2: Chipo Chico. Punto 3: Guamote. Punto 4: Rondador-Molino (Chakrawasi). Punto 5: Copalillo (Rondan). Punto 6: Puente de Guaninche.....	

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

Tabla N° 1. Descripción de la ubicación y altitud de cada estación de muestreo.	14
---	----

CAPÍTULO III. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Tabla N° 1. Datos de temperatura y pH obtenidos en el río Guamote conforme a cada estación de muestreo.	17
Tabla N° 2. Bacterias patógenas aisladas de productos agrícolas del río Guamote.	18
Tabla N° 3. Distribución bacteriana según la estación de muestreo y el tipo de muestra agrícola.	19
Tabla N° 4. Patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos, de las bacterias de importancia clínica aisladas de la familia Enterobacteriaceae.	20
Tabla N° 5. Patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos, de las bacterias de importancia clínica aisladas de la familia Aeromonadaceae y Pseudomonadaceae.	22

ANEXOS

Tabla N° 1: Tabla de las estaciones de muestreo con sus respectivos hallazgos bacteriológicos de cada producto agrícola.	
Tabla N° 2: Resultado del antibiograma de las bacterias gramnegativas de interés clínico conjuntamente con su interpretación según la guía del CLSI.	

ÍNDICE DE IMÁGENES

- Imagen N° 1.** Confirmación para carbapenemasa de *Citrobacter diversus* (cepa N°3). 22
- Imagen N° 2.** Confirmación de *Pseudomona aeruginosa* para BLEE
- Imagen N° 3.** **A** Toma de muestra en San Carlos – Chipo Grande. **B** Toma de muestra en Chipo Chico. **C** Toma de muestra en Guamote. **D** Toma de muestra en Chakrawasi – Rondador. **E** Toma de muestra en Copalillo – Rondan. **F** Toma de muestra en Guaninche.....
- Imagen N° 4.** **A** Toma de temperatura ambiente. **B** Toma de temperatura del agua del río Guamote. **C** Medición de Ph del agua del Río Guamote.....
- Imagen N° 5.** **A.** Siembra de las muestras de productos agrícolas en agua peptonada. **B.** Resiembra de las muestras en agua peptonada. **C.** Siembra en agar sangre y MacConkey. **D.** Siembra en agar Cled.....
- Imagen N° 6.** **A.** Crecimiento de bacterias en agar MacConkey. **B.** Sin crecimiento en agar MacConkey de muestra 6.3.1.B. **C.** Crecimiento de muestra 6.3.1.B. en agar C.L.E.D.
- Imagen N° 7.** **A.** Batería de identificación bacteriana de izquierda a derecha: agar Triple azúcar hierro (A/A), citrato (positivo), urea (positivo), MIO (Motilidad positivo, Indol negativo, Ornitina negativo), malonato (positivo). **B.** Agar Triple azúcar hierro (K/K, producción de gas y de H₂S). **C.** Comparación de dos muestras, de izquierda a derecha: MIO de muestra 6.3.1.A. (Motilidad negativo, Indol negativo, Ornitina positivo), MIO de muestra 6.2.2. (Motilidad positivo, Indol negativo, Ornitina negativo). **D.** Prueba de oxidasa de izquierda a derecha: negativo, positivo.
- Imagen N° 8.** **A-T.** Antibiograma de las 20 muestras.

RESUMEN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen uno de los problemas sanitarios más comunes que aquejan en la actualidad la salud de las personas en el mundo. Esta investigación tuvo como objetivo el identificar bacterias de importancia clínica en productos agrícolas de la cuenca del río Guamote, lo que permitió el hallazgo de bacterias patógenas para el ser humano y su resistencia antimicrobiana. El estudio es de tipo descriptivo, de cohorte transversal con un diseño de campo no experimental; se utilizó la técnica de la observación, recolección de muestras de productos agrícolas de seis puntos aledaños al río Guamote tomando en cuenta la temperatura ambiente y del agua, así como el pH y la altitud geográfica. Para el aislamiento e identificación bacteriano se usaron medios de cultivo como: Agua peptonada, agar Sangre, MacConkey, CLED; así como el uso de pruebas fisiológicas y bioquímicas para su clasificación según la especie. En cuanto a la resistencia antimicrobiana se aplicó el método de Kirby Bauer, con la ayuda de instrumentos de medida además de las fichas de observación. El aislamiento e identificación muestran 10 especies de bacterias patógenas gramnegativas: *Aeromonas sp*, *Pseudomonas aeruginosa* y enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* (dos), *Citrobacter diversus* (tres), *Citrobacter amalonicus*, *Citrobacter freundii* (tres), *Proteus mirabilis* (dos), *Enterobacter cloacae* (dos) y *Enterobacter aerogenes* (dos); no presentaron ningún mecanismo de resistencia, concluyendo que existe la presencia de bacterias de interés clínico en los productos agrícolas cercanos al río Guamote.

Palabras clave: Alimentos, Río Guamote, bacterias, patógeno, método Kirby Bauer.

ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO), foodborne diseases (ETA) nowadays are one of the most common health problems that affect people's health around the world. This research aims to identify bacteria with clinical importance in agricultural products of Guamote river basin, this allowed us to discover pathogenic bacteria for human beings and their antimicrobial resistance. This study was descriptive, cross-sectional with a not experimental field design; we used the observation technique, collection samples of agricultural products from six Guamote River adjacent points taking into account the environmental temperature, as well as the pH and altitude. We used Culture media such as: Peptonated water, Blood agar, MacConkey, CLED; as well as the use of physiological and biochemical tests for classification according to the species. As antimicrobial resistance regards, the Kirby Bauer method was applied with measuring instruments support and observation sheets. Isolation and identification showed ten gram-negative pathogenic bacteria: *Aeromonas sp*, *Pseudomona aeruginosa* and enterobacteria such as *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* (2), *Citrobacter diversus* (3), *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii* (3), *Proteus mirabilis* (2), *Entee cloecacter* (2a) (2) and *Enterobacter aerogenes* (2); they did not present any resistance mechanism, concluding that there is the presence of bacteria of clinical interest in agricultural products near Guamote River.

Keywords

Food, Guamote River, bacteria, pathogen, Kirby Bauer method.

Translation reviewed by:



MsC. Edison Damián.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen uno de los problemas sanitarios más comunes originados por la ingestión de alimentos y/o agua contaminados con agentes patógenos que causan desequilibrio en la salud de las personas en el mundo, afectando con mayor frecuencia al sector más susceptible conformado por niños, mujeres embarazadas, ancianos y personas inmunocomprometidas.

La enfermedad transmitida por alimentos además de ser un problema socioeconómico, tiene como característica primordial ocasionar síntomas gastrointestinales como náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y/o fiebre; presentando ciertas complicaciones como meningitis, shock séptico, abortos y algunos síndromes como el síndrome de Reiter, síndrome de Guillan Barré, y en determinadas ocasiones la muerte.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indicó en junio del 2015, que 842.000 personas mueren cada año como consecuencia de enfermedades producidas por la falta de lavado de manos, higiene y agua saludable ⁽¹⁾ siendo este último el causante de la contaminación de los alimentos. Las enfermedades de transmisión alimentaria constituyen un grave problema de salud pública a nivel mundial; entre sus causas más frecuentes se encuentran los patógenos bacterianos siendo notable el aumento de aquellos que presentan resistencia a los antimicrobianos, acrecentando el índice de morbilidad y/o mortalidad ⁽²⁾.

El Centro para el Control y Prevención de enfermedades (CDC) de Atlanta, reportó en 2013 un total de 19 056 casos de infecciones alimentarias, 4200 hospitalizaciones y 80 muertes en los Estados Unidos. Por otro lado, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades (ECDC) reportaron en el 2012 un total de 55 453 casos, 5118 hospitalizaciones y 41 muertes ⁽²⁾.

El Ministerio de Salud de Brasil reportó 163 425 ciudadanos afectados con 112 víctimas mortales desde el 2000 al 2013; las enteritis y otras enfermedades gastrointestinales se posicionan entre las cinco primeras fuentes de mortalidad en países latinoamericanos siendo el 70% - 80% causadas por el consumo de alimentos y aguas contaminados ⁽³⁾.

Entre los patógenos bacterianos más frecuentes causantes de ETA en Estados Unidos en 2013 se encontraron, en su orden: Salmonella, Campylobacter, Shigella, Escherichia coli,

productora de toxina shiga (STEC), Vibrio, Yersinia y Listeria. En contraste con Europa, la mayoría de los brotes de 2012 fueron causados por Salmonella, toxinas bacterianas, virus y Campylobacter⁽²⁾.

En Ecuador es permanente la presencia de brotes de intoxicación alimentaria; en el año 2014 se han censado 313 casos de intoxicación por alimentos, reportados mayormente por la provincia de Cotopaxi y el grupo de edad más afectado va de 20 a 49 años de edad⁽⁴⁾.

En la provincia de Chimborazo en el año 2017 se censaron 22 747 casos de enfermedades transmitidas por agua y alimentos dando una tasa estimada de 4,452⁽⁵⁾. Se valoró la calidad del agua de distintos ríos de la provincia como el Machángara y Monjas en donde se encontraron coliformes fecales; estudios actuales realizados en las aguas del regadío del Río Chibunga determinaron la presencia de 18 bacterias patógenas con resistencia a los antimicrobianos de uso común⁽⁶⁾. Además, en el río Chambo se aislaron e identificaron once bacterias de importancia clínica con resistencia a las quinolonas y cefalosporinas⁽⁷⁾.

El presente estudio, referente a la identificación de bacterias de importancia clínica en productos agrícolas de la cuenca del río Guamote tiene como objetivo el identificar bacterias patógenas presentes en los productos agrícolas de seis distintos puntos geográficos seleccionados estratégicamente a lo largo del río Guamote obteniendo así una recopilación de datos indispensable para futuras investigaciones.

No existe un estudio preliminar que demuestre la presencia o ausencia de bacterias de interés clínico en los productos agrícolas que se cultivan a los alrededores del río Guamote, motivo suficiente para elaborar esta investigación pues, una vez realizada la identificación bacteriana y su resistencia antimicrobiana servirá para alertar a las autoridades pertinentes con el fin de evitar daños a la salud pública, mejorando así la producción de alimentos y por consiguiente su calidad de vida.

En el artículo 277 de la Constitución de la república del Ecuador, se indica el derecho de las personas a una alimentación digna, una soberanía alimentaria y a vivir en un ambiente sano⁽⁸⁾; por tanto, desde la perspectiva de un productor agrícola se debe brindar un buen tratamiento a sus productos desde el momento de su cultivo hasta su venta al consumidor, con el fin de brindar un servicio de calidad en pro de la salud y una alimentación sostenible.

En la Carta magna, el artículo 66 establece “el derecho a una vida digna, que asegure la salud, alimentación, nutrición y agua potable”, y por medio de esta ley es que se establece en el objetivo 1 del ‘Plan Nacional de Desarrollo 2017 – 2021 Toda una Vida’ tomar la responsabilidad de mejorar la calidad de la educación, salud, alimentación, agua y seguridad social de la población para tener un buen vivir ⁽⁹⁾, acarreado la disminución de problemas tanto de salud como socioeconómicos.

La contaminación bacteriana a determinar se origina en el agua del río Guamote usada como fuente de regadío para la producción agrícola que será expendida a la población en general. Se evaluará si estos productos son los portadores de las bacterias causantes de enfermedades gastrointestinales.

OBJETIVOS

General

Identificar bacterias de importancia clínica en productos agrícolas de la cuenca del río Guamote.

Específicos

- Recolectar productos agrícolas cultivados con aguas del río Guamote en diferentes puntos geográficos estratégicos para su análisis bacteriológico.
- Aislar bacterias patógenas mediante técnicas microbiológicas de productos agrícolas cultivados con aguas del río Guamote.
- Determinar mediante el método Kirby-Bauer la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas identificadas.

CAPÍTULO I.

MARCO TEÓRICO

Productos agrícolas y su relación con el agua.

El agua desde el origen del ser humano ha sido indispensable para su desarrollo. Desde la etapa del sedentarismo donde se empezó con la siembra y cosecha de alimentos al dejar la vida nómada, se la ha utilizado como materia prima en la producción agrícola, siendo ésta su principal fuente de recursos. En la actualidad, el uso inadecuado de los recursos hídricos es un potenciador para la diseminación de enfermedades transmitidas por el agua y los productos que son cultivados con la misma, usándose no solamente el río como fuente principal de agua si no sus cuencas, acequias, canales, albercas⁽¹⁰⁾.

La calidad del agua de riego incide sobre la productividad de los cultivos. Existen microorganismos patógenos como bacterias, hongos y parásitos que están contaminando estas aguas y pasan a los cultivos, de tal forma que pueden generar algún tipo de fitopatología dependiendo de la susceptibilidad del mismo a la acción del patógeno⁽¹⁰⁾, además de que al ser consumidos pueden causar enfermedades a nivel gastrointestinal tanto en animales como en humanos.

El derecho al buen vivir establece que las personas son merecedoras de una soberanía alimentaria, con el acceso a alimentos sanos y nutritivos producidos preferentemente en la localidad. Según la Ley Orgánica de Recursos Hídricos, usos y aprovechamiento del agua, en el capítulo V referente a los derechos colectivos de comunas, comunidades, pueblos y nacionalidades establece en el Art. 71, apartado C que el colectivo tiene el derecho a *“Conservar y proteger sus prácticas de manejo y gestión del agua en relación directa con el derecho a la salud y a la alimentación”*⁽¹¹⁾, por lo tanto se deben tomar medidas para precautelar y restringir actividades que alteren el ecosistema, ya que éste ha pasado de considerarse un objeto de apropiación por parte del ser humano a ser un sujeto de derechos que garantiza la existencia humana. Lo que involucra un cambio de perspectiva, al considerar los servicios públicos como un derecho social, de igual manera que los alimentos como un vehículo de valores vitales en lugar de como bienes de valor únicamente monetario.

Conjuntamente, según el Art. 79 en la sección II correspondiente a los objetivos de prevención y control de la contaminación del agua, indica en el apartado D. el objetivo de

“Controlar las actividades que puedan causar la degradación del agua y de los ecosistemas acuáticos y terrestres con ella relacionados y cuando estén degradados disponer su restauración”⁽¹¹⁾; la comunidad debe estar consciente del estado del agua y de su uso, por ende si existe contaminación ésta debe ser reportada a las autoridades pertinentes, además de tomar medidas para precautelar la fauna y flora y el equilibrio de la vida.

Cantón Guamote

Guamote formó parte de la Villa de Riobamba hasta la presidencia de Velasco Ibarra donde paso a ser un Cantón, está formada por tierras irregulares y desérticas, siendo la mayoría de su población indígena⁽¹²⁾. Se encuentra ubicado en las coordenadas 1°56'00"S 78°43'00"O, a 50 Km de Riobamba en la vía a Cuenca. Es el segundo cantón con mayor extensión territorial en la provincia de Chimborazo, con una superficie de 1.223.3 Km²⁽¹³⁾.

La actividad principal es la agricultura. Los cultivos principales son papas, alfalfa, trigo, lechuga, choclo, habas y cebada. La feria indígena del día jueves es una de las más importantes del país donde se refleja el dinamismo del comercio, resaltando las tradiciones culturales siendo notoria aún la presencia del trueque⁽¹²⁾; los productores agrícolas usan como su principal fuente de agua al río Guamote que nace de la unión entre el río Columbe y el río Chipó, desembocando con el río Cebadas para dar a la formación del río Chambo.

Entre las actividades económicas más significativas del medio rural están la industria alimentaria y la agropecuaria, que se dividen en dos subsectores: Subsector agrícola (agricultura) y pecuario (ganadería). El primero hace referencia a cultivos en general como: cultivos de granos y semillas, hortalizas, frutales, cultivo en invernaderos y viveros, y la floricultura. Al Subsector pecuario le corresponde la explotación de bovinos, porcinos, ovinos y caprinos, explotación avícola, etc⁽¹⁴⁾.

Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

La causa más común de las enfermedades transmitidas por alimentos es la presencia de bacterias patogénicas siendo las más comunes aquellas que forman parte de la familia de enterobacterias, encontrándolas con mayor frecuencia en alimentos crudos. A esto se le suma el inadecuado almacenaje y manipulación que potencia el crecimiento bacteriano⁽¹⁵⁾; para

ello se deben tomar medidas preventivas como la asepsia apropiada de los alimentos de forma general y la cocción para aquello que requieran de una mayor preparación y cuidado.

Bacterias beneficiosas en productos agrícolas.

En general hay más bacterias beneficiosas que patógenas para el ser humano. En primera instancia las bacterias beneficiosas previenen que las patógenas crezcan cuando colonizan el producto agrícola. Por tanto, si se compara entre un alimento estéril con uno que contenga una flora bacteriana natural beneficiosa, el primero tiende a ser más perjudicial.

Bacterias patógenas más comunes encontradas en productos agrícolas

De acuerdo con la OMS, los niños, mujeres embarazadas, ancianos y personas inmunodeprimidas son la población más afectada con las enfermedades transmitidas por alimentos. Este es uno de los principales problemas sanitarios más comunes que afectan al ser humano en el mundo. Sin embargo, las repercusiones que se suscitan a raíz de estas enfermedades tienen un impacto más severo, pues no solo afecta la salud sino también a un nivel socioeconómico. Este impacto negativo provoca una notable disminución en la productividad y el comercio, elevando los gastos en insumos y medicamentos en el sistema de salud⁽²⁾.

Las bacterias patógenas tienen diferentes mecanismos de acción en el ser humano como por ejemplo las toxinas que producen. Estas tienden a causar ciertas complicaciones, tal es el caso de la toxina producida por *Clostridium botulinum*, que puede llegar a generar fallas respiratorias, y la toxina shiga, producida por cepas de *Escherichia coli*, causante del síndrome hemolítico urémico⁽²⁾. Son potencialmente peligrosas porque no se requiere de una cantidad excesiva de alimentos contaminados para enfermar al individuo.

En condiciones normales, la probiota de los seres humanos y animales se encuentra en equilibrio conformado por una gran cantidad de bacterias que no son perjudiciales a la salud del huésped, sino más bien garantizan la supervivencia y el desarrollo de sí misma y del huésped. También existe en esta flora bacteriana organismos patógenos que, a pesar de estar presentes y ser peligrosos para la salud no generan ningún desequilibrio, pues no están activos pero la infección permanece latente o subclínica siendo el individuo un 'portador'. Un ejemplo a destacar son *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* que forman

parte de la flora normal, pero pueden ocasionar ciertas infecciones dependiendo del huésped⁽¹⁶⁾.

Coliformes totales

Son microorganismos indicadores de la familia *Enterobacteriaceae*, bacilos gramnegativos que no forman esporas. Se clasifican en coliformes ambientales y de origen fecal que provienen de animales de sangre caliente. Son fermentadores de la lactosa y productores de gas al ser incubados a una temperatura entre 35-37°C (95-98,6°F) de 24 a 48 horas⁽¹⁵⁾.

Los géneros que pertenecen a esta familia son: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. De todos los mencionados, la única especie que tiene como hábitat primario al tracto intestinal del ser humano y de los animales de sangre caliente, es *Escherichia coli*. Por otro lado, las demás especies se pueden encontrar en un medio expuesto como el suelo o incluso en vegetales, en consecuencia, estas bacterias tienden a ser más resistentes. Así, la presencia de coliformes ambientales no indica, necesariamente, contaminación fecal o la presencia de patógenos entéricos⁽¹⁵⁾.

Enterobacterias

La familia *Enterobacteriaceae* son bacterias gramnegativas que pueden tener la morfología de cocos o bacilos; constituye un grupo grande de bacterias de importancia biológica puesto que algunas especies son simbioses del sistema digestivo de muchos animales además del hombre que pueden llegar a ser oportunistas en el instante en el que el individuo se encuentre inmunodeprimido, no obstante se encuentran de forma universal en el suelo y la flora considerándose ubicuas⁽¹⁷⁾.

Escherichia coli

Es el microorganismo más prevalente de las enterobacterias siendo un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, móvil productor de indol y gas que fermenta la lactosa produciendo usualmente una coloración rosácea (ácida) en agar MacConkey. La presencia de esta bacteria es un indicar de una posible contaminación fecal en agua y alimentos, dando la sospecha de la posible presencia de patógenos⁽²⁾. Esta bacteria está asociada a ciertas patologías que incluyen infecciones entéricas (que son las más comunes), Infecciones del

tracto urinario (ITU), infecciones del sistema nervioso central, infecciones respiratorias entre otras ⁽¹⁸⁾.

Klebsiella spp

Es una bacteria gramnegativa encapsulada, de forma bacilar con motilidad e indol negativo, fermentadora de glucosa y lactosa, anaerobia facultativa ⁽¹⁹⁾. Por lo general produce colonias mucoides debido a la producción abundante de una cápsula de polisacárido; en tanto a patologías, las diferentes especies de *Klebsiella* pueden protagonizar varios estados infecciosos como faringitis, infecciones del tracto digestivo, del tracto urinario, entre otros siendo más habitual la infección del tracto respiratorio. Cabe señalar a la *Klebsiella pneumoniae* como el segundo patógeno gramnegativo después de *E. coli* en causar bacteriemia. ⁽¹⁷⁾.

Enterobacter

Es un género de bacterias móviles gramnegativas bacilares, fermentadoras de glucosa y lactosa, anaeróbicas facultativas que no forman esporas. Hay dos tipos de enterobacterias de importancia clínica: *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*. Éste último se puede encontrar en ambientes terrestres y acuáticos ⁽²⁰⁾. Se ha detectado una alta resistencia a los antibióticos debido a su capacidad de mutar y baja exigencia nutricional; han sido asociadas a diversas patologías entre ellas la sepsis neonatal, infecciones gastrointestinales, de vías respiratorias, del tracto urinario y abdominal ⁽²¹⁾.

Citrobacter

Son bacterias gramnegativas a la tinción Gram, móviles anaerobio facultativo además de que poseen la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono. Presentes en el tracto intestinal de animales y humanos además del suelo y el agua; *Citrobacter freundii* es una especie de este género productora de H₂S que puede causar confusión con *Salmonella*, se la ha asociado con patologías como meningitis neonatal, osteomielitis y absceso cerebral ⁽²²⁾.

Proteus

El género *Proteus* se compone de cinco especies: *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri*, *P. morgani* y *P. rettgeri* siendo el primero la excepción al dar indol negativo; es un bacilo

gramnegativo, ornitina positivo y productor de ureasa que hidroliza la urea alcalinizando la orina llevando a la formación de cálculos, anaerobio facultativo de colonias redondeadas. Forman parte de la flora fecal normal, es considerado ubicuo pudiendo encontrarse a menudo en heridas superficiales, supuraciones y esputo. Cabe destacar que se lo encuentra especialmente en pacientes que han sido tratados agresivamente con antibióticos, produce infecciones profundas en el tracto urinario, enteritis, otitis, entre otras ⁽²³⁾.

Aeromonas spp.

Son bacilos gramnegativos anaerobios facultativos, fermentadores de la glucosa, no esporulados que se desarrollan especialmente en ambientes acuáticos a pesar de poder crecer en cualquier tipo de entorno. Antiguamente se incluía en la familia Vibrionaceae pero pasó a formar parte de Aeromonadaceae ⁽²⁾; ocasiona gastroenteritis debido a ciertas cepas que son enterotoxigénicas.

Pseudomonas

Es un género de bacilos gramnegativos pertenecientes a la familia Pseudomonadaceae, no fermentadores de lactosa y glucosa, aerobios estrictos con un considerable grupo de especies siendo la más común la *Pseudomona aeruginosa*. Son conocidos por la capacidad de desarrollarse en cualquier entorno y de ser oportunistas ⁽²⁴⁾ causando infecciones de la piel y tejidos blandos, infecciones de las vías aéreas, bacteriemia, entre otros ⁽²⁵⁾.

Cocos grampositivos

Enterococcus spp

Los enterococos son cocos grampositivos a la tinción Gram, típicamente dispuestos en parejas y en cadenas cortas que pueden ser confundidos con *Streptococcus* debido a sus características físicas. Las especies que comúnmente son aisladas y que tienen una relevancia clínica son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* que son comensales en el ser humano residiendo principalmente en el tracto digestivo y general; causan infecciones nosocomiales como endocarditis, infecciones urinarias, abscesos abdominales, entre otras ⁽²⁶⁾.

Resistencia antimicrobiana

Desde la década de los 50 los antibióticos han sido de ayuda para el control y prevención de enfermedades tanto en animales como en humanos, sin embargo, se observó que como cualquier especie viviente evolucionó para subsistir al medio desarrollando mecanismos de defensa ante cualquier tipo de amenaza ⁽²⁷⁾.

La resistencia a los antimicrobianos (farmacoresistencia) es producida al generarse una mutación en las bacterias, virus y parásitos en respuesta al uso inadecuado de fármacos; es preciso mencionar el hecho de que los microorganismos son los que se vuelven resistentes mas no los seres humanos y animales ⁽²⁸⁾. Al ver de forma retrospectiva el mecanismo de acción de las bacterias se ha ido detectando su resistencia, como ejemplo, en los años 60 fue la resistencia a la penicilina y desde los 70 apareció la multiresistencia a las ampicilinas ⁽²⁷⁾. Actualmente no se aboga por el uso de una profilaxis antibiótica puesto que en los últimos años ha ido en ascenso la mortalidad, el gasto por parte del estado (y del individuo afectado) en medicamentos y una estancia prolongada en los hospitales debido a la resistencia a los antimicrobianos.

Tipos de resistencia

Resistencia natural o intrínseca

Es un carácter constante y permanente de cepas de la misma especie que no se relaciona a la dosificación del antimicrobiano, determinado genéticamente. Se menciona el ejemplo de *Klebsiella pneumoniae* que presenta una resistencia a las penicilinas debido a la producción natural de beta lactamasas ⁽²⁹⁾.

Resistencia adquirida

Es un carácter adquirido por una cepa de una especie bacteriana según su variabilidad genética, sea por mutación o adquisición de genes de resistencia evolucionando dependiendo de la utilización de los antibióticos ⁽²⁹⁾.

Mecanismos de resistencia

Existen diversos mecanismos generados por las bacterias sea de forma natural o adquirida para producir resistencia hacia los antimicrobianos, entre los principales mecanismos de resistencia se encuentran:

-Producción de enzimas cuya finalidad es la modificación o destrucción de la estructura química del fármaco activo. Como ejemplo, la producción de β -lactamasas destruyen la estructura química mientras que las fenilasas o acetilasas la modifican ⁽¹⁶⁾

-Alteración en la permeabilidad de los microorganismos al antimicrobiano empleado, debido a cambios en ciertos receptores bacterianos específicos para los fármacos o por causa de un cambio en la membrana externa de la bacteria ⁽¹⁶⁾

-Modificación del sitio de acción estructural en donde actúa el antibiótico, por mutaciones de las unidades ribosomales, de la pared o membrana celular de la bacteria ⁽²⁹⁾.

-Formación de vías metabólicas alternas para desviar la reacción del fármaco usando lo que le proporcione el medio en el que se encuentre, como vitaminas ⁽²⁹⁾.

-Aplicación de bombas de eflujo cuya finalidad es la internación y expulsión de los antimicrobianos mediado por proteínas ⁽¹⁶⁾.

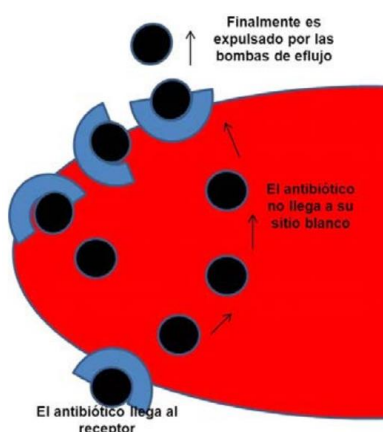


Figura N° 1. Bomba de eflujo expulsando el antimicrobiano.

Fuente: Pérez HJ, Robles A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Revista Médica. [Online] 2013. [Citado 17 de Agosto de 2019]; 4(3). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2013/md133i.pdf>

CAPÍTULO II.

METODOLOGÍA

Tipo de investigación

- **Según el nivel y enfoque:** de nivel *Descriptivo* porque se recolectó información sobre los tipos de bacterias de importancia clínica que se encuentran en los productos agrícolas de la cuenca del río Guamote, describiéndose su resistencia antimicrobiana. *Enfoque mixto*, se describieron y cuantificaron las variables de estudio con categorías de análisis, buscando identificar las bacterias de importancia clínica.
- **Según el diseño:** *de campo*, pues se tomaron muestras de productos agrícolas de seis puntos aledaños al río Guamote. *No experimental* debido a que se tomaron en cuenta las condiciones existentes más no se alteró ninguna variable.
- **Cohorte:** es transversal ya que indica que la toma de datos se efectuó en seis estaciones de muestreo determinadas (sembríos aledaños al río Guamote) en el periodo de abril a julio 2019.

Población

El universo se constituyó por las bacterias aisladas de los productos agrícolas obtenidos de los seis puntos de la cuenca del Río Guamote.

Muestra

De acuerdo al criterio de inclusión, se procedió a seleccionar las bacterias de importancia clínica encontradas, excluyendo aquellas que no representan un impacto negativo en el ser humano.

Técnicas y procedimientos

Técnicas.

Observación, análisis microbiológico.

Instrumentos.

Guía de observación, reporte de laboratorio, registro de resultados, base de datos obtenidos.

Procedimientos.

Identificación del área de estudio y toma de muestra

Se procedió con la toma de muestra de productos agrícolas en los seis puntos geográficos seleccionados a lo largo del río Guamote para su análisis microbiológico. Inicia en la unión entre el río Columbe y el río Chipó, terminando al unirse con el río Chambo; el recorrido del río lo hace atravesando varias comunidades como ‘San Carlos’, ‘Chipó Chico’, ‘Chipó Grande’, ‘El Cecel’, ‘Chakrawasi’, ‘El Rondador’, ‘El Molino’, ‘Copalillo’, ‘Rondán’, entre otras. (Ver tabla N°1. Anexo N° 1, Figura N° 2)

Toma de muestra

Para la preparación de la toma de muestra se inicia con la identificación de los factores medio ambientales. Por tanto, se determina las variables de altitud, temperatura ambiente, temperatura del agua y pH. La toma de muestras se realizó con asepsia, usando guantes de manejo como barrera de seguridad. En el caso de tubérculos, se removió la tierra adherida para facilitar su transporte; cabe recalcar que se tomó tres muestras de cada punto de interés; las muestras tomadas se almacenaron en recipientes plásticos y se asignó su respectiva codificación. El transporte fue bajo las normas del sistema triple embalaje al Laboratorio de Titulación, Facultad de Ciencias de la Salud, UNACH donde se realizó el respectivo análisis microbiológico.

Tabla N° 1. Descripción de la ubicación y altitud de cada estación de muestreo.

Puntos	Estaciones de muestreo	Ubicación	Altitud (msnm)
Punto 1	Chipó Grande	A 200m de Carretera Panamericana.	3.189
Punto 2	Chipó Chico	A 175m de Carretera Panamericana. Troncal de la sierra.	3.157
Punto 3	Guamote	A 128m de Carretera Panamericana. Centro de Guamote.	3.025
Punto 4	Rondador-Molino (Chakrawasi)	A 505m de Carretera Panamericana.	2.962
Punto 5	Copalillo (Rondán)	A 160m de Carretera Panamericana.	2.913
Punto 6	Puente de Guaninche	Vía Riobamba – Macas	2.855

Fuente: Datos obtenidos mediante el uso de altímetro.

Aislamiento de bacterias patógenas presentes en las muestras

La manipulación de las muestras fue con el mayor de los cuidados usando la cámara de flujo laminar, previamente desinfectada, con luz ultravioleta durante 20 minutos para evitar tener contaminación al momento del análisis.

Técnica de aislamiento de colonias

Se inició colocando 25g del centro del producto agrícola triturado en frascos estériles con el medio de enriquecimiento agua peptonada; posteriormente se colocó 1mL del crecimiento de los frascos, después de 24 horas de incubación A 37°C, a tubos de ensayo con 9mL de agua peptonada. Cultivándose 24 horas después en agar Sangre y MacConkey por la técnica de agotamiento; aislándose las colonias a través de la resiembra en agar cistina lactosa deficiente en electrolitos (CLED) para aquellas muestras que presentaban el velo característico del *Proteus*, y en Agar MacConkey incubándose a 37°C en posición invertida durante 24 horas.

Técnica de la tinción Gram

La tinción Gram es indispensable para la diferenciación de bacterias según las propiedades de la pared celular, su forma y disposición. Se colocó una gota de suero fisiológico en la placa porta objetos limpia y previamente codificada, realizándose un frotis de la colonia pura con un palillo estéril; una vez seca se la fijó sometiéndola al calor aproximadamente tres veces. Para la coloración se procedió con el protocolo establecido por Hans Gram: cubrir con violeta de genciana por un minuto, añadir solución yodada por un minuto para el contraste, decolorar con alcohol cetona durante 15 segundos aproximadamente, finalmente adicionar safranina o fucsina básica por un minuto. Cabe señalar que ulterior a la adición de cada reactivo se enjuagó con agua. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente realizándose su observación al microscopio óptico a 100x con aceite de inmersión observándose aquellas que son grampositivas de color azul oscuro o violeta y las gramnegativas de color rojo o rosa.

Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias aisladas.

En las muestras de productos agrícolas se aislaron bacterias gramnegativas. Las cuales fueron sometidas a diferentes pruebas bioquímicas de metabolismo de proteínas y

carbohidratos que incluyen: Kliger (agar triple azúcar hierro), Ureasa, Citrato, LIA (Lisina Hierro Agar), MIO (Motilidad, Indol, Ornitina) y Malonato. En aquellas muestras que presentaron fermentación a la Lactosa en el Kliger se les realizó la prueba de oxidasa.

Medición de resistencia antibiótica en bacterias aisladas.

Una vez identificadas las bacterias, se evaluó la resistencia y sensibilidad a los antibióticos. La técnica que se usó fue la de Kirby-Bauer (difusión en disco).

Para ello se utilizaron discos de: Gentamicina (CN), kanamicina (K), Colistín (CT), Tetraciclina (TE), Ciprofloxacina (CIP), Ácido Nalidíxico (NA), Trimetropin (SXT), Ceftriazone (CRO), Ceftazidima (CAZ), Imipenem (IMP), Aztreonam (AZM), Amoxicilina (AX), Cefoxitin (FOX), Oxacilina (OX) y Cefotaxime (CTX).

Para la aplicación de la técnica se preparó una dilución de NaCl al 0,9% con cada bacteria identificada comparándola con la turbidez del 0,5 del patrón McFarland. Se embebió un hisopo estéril en la suspensión bacteriana y se procedió a su siembra en agar Müller Hinton en tres direcciones con un ángulo de 60° cubriendo totalmente el agar. Los discos de sensibilidad fueron colocados en el medio a 15 mm del borde y a 20mm entre cada disco. Una vez incubadas a 37°C por 24 horas de forma invertida, se procedió con la lectura de los resultados según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) que valora los halos de susceptibilidad y resistencia en: Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R).

Procesamiento estadístico

Se realizarán tablas descriptivas de los resultados obtenidos con frecuencia y porcentaje mediante la aplicación de hojas de cálculo aplicando el sistema operativo Microsoft Office.

Consideraciones éticas

El presente proyecto de investigación no contó con un comité de bioética ya que las muestras de estudio fueron de origen vegetal (productos agrícolas del sector a analizar) y no humano, siendo realizado conforme a los valores de ética académico-científico en donde se aplicará la honestidad intelectual al momento de obtener la información requerida dando así un desarrollo favorable a la investigación.

CAPÍTULO III.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla N° 1. Datos de temperatura y pH obtenidos en el río Guamote conforme a cada estación de muestreo.

Estaciones de muestreo	Temperatura ambiente (°C)	Temperatura del agua (°C)	Ph Agua	Bacterias	
				Gram -	Gram +
1. <i>Chipo Grande</i>	12	13.5	7	3	0
2. <i>Chipo Chico</i>	8	13	7	3	0
3. <i>Guamote</i>	15	16	8	4	0
4. <i>Rondador-Molino (Chakrawasi)</i>	15	12	8	4	0
5. <i>Copalillo (Rondan)</i>	18	14	7	3	0
6. <i>Puente de Guaninche</i>	13	13	8	3	0
Total:				20	0

Fuente: Datos obtenidos a través de tiras de pH, termómetro digital y tinción Gram.

Análisis

Se seleccionaron seis puntos estratégicos considerando la longitud del río Guamote y las zonas agrícolas aledañas al mismo para la toma de las muestras, cada sitio con una distancia aproximada de 5km entre punto y punto. Las estaciones seleccionadas fueron: Chipo Grande, Chipo Chico, Guamote, Rondador-Molino (Chakrawasi), Copalillo (Rondan) y Puente de Guaninche. Los datos de temperatura y pH de cada sitio de muestreo se describen en la tabla N° 2, observando que el pH fue de 7 y 8 en igual proporción. La temperatura ambiente se encontró entre 8°C y 18°C mientras que la temperatura del agua osciló entre 12°C y 16°C.

Discusión

El crecimiento bacteriano se ve influenciado por factores ambientales tanto químicos como físicos. En cuanto a bacterias de interés clínico, se desarrollan a una temperatura próxima a los 37°C pues a altas temperaturas (>65°C) existe una desnaturalización en su estructura, mientras que a menor temperatura (<5°C) su crecimiento se suspende o retarda. Altamirano *et al*⁽³⁰⁾ indica que un pH neutro o alcalino es indispensable para la disponibilidad de los nutrientes de los productos agrícolas, el agua al ser de un pH neutro tiende a ser susceptible a la contaminación bacteriana y por ende a ser un portador potencial al entrar en contacto con el suelo y los productos cultivados.

Tabla N° 2. Bacterias patógenas aisladas de productos agrícolas del río Guamote.

Hallazgo Bacteriano		Frecuencia	Porcentaje
Familia	Especie	(n)	(%)
Enterobacteriaceae	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	80
	<i>Klebsiella oxytoca</i> (2)		
	<i>Citrobacter diversus</i> (3)		
	<i>Citrobacter amalonaticus</i>		
	<i>Citrobacter freundii</i> (3)		
	<i>Proteus mirabilis</i> (2)		
	<i>Enterobacter cloacae</i> (2)		
	<i>Enterobacter aerogenes</i> (2)		
Aeromonadaceae	<i>Aeromonas sp</i> (3)	3	15
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	5
Total		20	100

Fuente: Datos obtenidos a través de pruebas microbiológicas y bioquímicas.

Análisis

En la tabla N° 2 se mencionan las bacterias de interés clínico encontradas en los productos agrícolas del Río Guamote. Se aislaron e identificaron 20 especies de bacterias patógenas gramnegativas mediante pruebas fisiológicas y bioquímicas, siendo 16 de la familia *Enterobacteriaceae* (80%), 3 de la familia *Aeromonadaceae* (15%) y 1 de la familia *Pseudomonadaceae* (5%).

Discusión

Barba Tapia⁽⁴⁾ y Soto Varela *et al*⁽²⁾, corroboran los resultados obtenidos pues describen la presencia de agentes patógenos tales como bacterias entéricas, virus y parásitos como protozoarios y helmintos en agua y alimentos. Los patógenos predominantes aislados en este trabajo pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* (80%) los mismos que son asociados a cuadros clínicos de gastroenteritis de igual forma que los encontrados en menor proporción de la familia *Aeromonadaceae* y *Pseudomonadaceae* con un 15% y 5% respectivamente.

Tabla N° 3. Distribución bacteriana según la estación de muestreo y el tipo de muestra agrícola.

Estación de muestreo	Producto agrícola	Bacterias patógenas										Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Aeromonas sp</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Chipo Grande	Choclo		1									3	15
	Habas		1										
	Papa chaucha			1									
Chipo Chico	Lechuga crespa									1		3	15
	Lechuga crespa									1			
	Lechuga crespa									1			
Guamote	Papa chaucha										1	4	20
	Papa chaucha	1											
	Papa chaucha			1									
Rondador-Molino (Chakrawasi)	Hoja de nabo							1				4	20
	Hoja de nabo								1				
	Hoja de nabo							1					
Copalillo (Rondan)	Alfalfa				1							3	15
	Alfalfa					1							
	Alfalfa						1						
Puente de Guaninche	Cebolla					1						3	15
	Cebolla			1									
	Cebolla					1							
Total											20	100	

Fuente: Datos obtenidos a través de pruebas microbiológicas y bioquímicas.

Análisis

En la tabla N° 3 se detalla la distribución bacteriana según la locación en la que fue realizada la toma de muestra y el tipo de producto agrícola del que fueron aisladas, observándose la presencia de mayor variedad de especies en el sector de Guamote con 4 bacterias (20%), en Rondador-Molino (Chakrawasi) se aislaron 4 patógenos (20%). En cuanto a los demás puntos de muestreo se identificaron hasta 3 patógenos de especie distinta (15%) con excepción de Chipó Chico donde se encontraron en las 3 muestras la misma especie de bacteria siendo diferente cepa.

Discusión

La zona principal donde se expenden productos agrícolas es Guamote, lugar donde es notable el mayor número de especies patógenas encontradas con el 20%, seguido de Rondador-Molino (Chakrawasi) que tiene el mismo porcentaje, sin embargo, presenta dos especies iguales más son distinta cepa. En el sector de Guamote es notable la contaminación del río donde se advierte gran cantidad de desperdicios pues este se encuentra situado junto a la carretera Panamericana, lo que influye directamente con la producción agrícola ya que es la principal fuente de agua que usan los agricultores para sus cultivos concordando con lo indicado por Altamirano *et al*⁽³¹⁾; al realizar la observación del sector se notó una cantidad considerable de actividades ganaderas y humanas próximas a los cultivos y fuentes de agua que como lo indica el Gad Guamote⁽¹⁴⁾ es común en el sector, los mismos que son un factor para el incremento de contaminación microbiana; la pobreza, es un factor a tomar en cuenta pues se relaciona con la falta de un manejo adecuado de los cultivos y la ganadería. En cada estación de muestreo se notó la presencia de viviendas, aunque escasas poseían ganado ovino y porcino en su mayoría.

Tabla N° 4. Patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos, de las bacterias de importancia clínica aisladas de la familia Enterobacteriaceae.

Microorganismo	GN	K	TE	CIP	NA	SXT	CRO	CAZ	IPM	ATM	AZM	AX	AMC	FOX	CTX
<i>Klebsiella oxytoca</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R*		S
<i>Klebsiella oxytoca</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S		S
<i>Citrobacter diversus</i>	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		S	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	I	S	I	S	I	S	I	S	S	S	R	R*		S
<i>Citrobacter diversus</i>	S	S	S	S	S	S	R	S	S	I	R	S		R	
<i>Proteus mirabilis</i>	S	R	S	I	S	S	S	I	S	S	S	R*		S	
<i>Enterobacter cloacae</i>	I	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	R			

<i>Enterobacter aerogenes</i>	I	I	S	S	S	I	S	S	R	S	S	R			
<i>Enterobacter aerogenes</i>	I	R	S	S	S	I	S	S	R	I	S	R		S	
<i>Enterobacter cloacae</i>	I	R	S	I	I	S	I	I	I	S	S	S		R	
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	S	I	S	S	S	I	S	S	R	S	S	R			
<i>Citrobacter freundii</i>	S	R	S	R	I	I	S	I	I	S	S	R			
<i>Proteus mirabilis</i>	I	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S			
<i>Citrobacter freundii</i>	S	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	I			
<i>Citrobacter diversus</i>	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R*			
<i>Citrobacter freundii</i>	R	S	R	I	I	R	I	S	S	S	S	R*			

GN: gentamicina; K: Kanamicina; TE: tetraciclín, CIP: ciprofloxacín; NA: Ácido nalidíxico; SXT: trimetoprim-sulfametoxazole; CRO: Ceftriazone; CAZ: ceftazidima; IPM: imipenem; ATM: aztreonam; AZM: azitromicina; AX: amoxicilina; AMC: amoxicilina/ác. Clavulánico; FOX: cefoxitin; OX: Oxacilina; CTX: cefotaxime. R*: Resistencia natural.

Fuente: Datos obtenidos mediante el uso del método de Kirby Bauer y la guía International Clinical & Laboratory Standards Institute.

Análisis

Se describe en la tabla N° 4 el patrón de susceptibilidad y resistencia de los patógenos aislados pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae a los antimicrobianos con el uso de la guía International Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI), observándose la ausencia de mecanismos de resistencia en todas las bacterias.

Discusión

Ciertas enterobacterias, así como bacilos gramnegativos no fermentadores presentan de forma natural el gen AmpC que son serin-betalactamasas que da una resistencia a la amoxicilina o a la amoxicilina/ácido clavulánico como la primera cepa de *Proteus mirabilis* y *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, o la tercera cepa de *Citrobacter diversus* aisladas en este estudio; Molina J *et al*⁽⁷⁾ indica en su investigación a *Citrobacter freundii* con resistencia natural a la amoxicilina/ácido clavulánico al igual que la última cepa de la misma bacteria encontrada en este estudio resistente a la amoxicilina. Cabe destacar que esta última tenía características para ser una carbapenemasa (**imagen 1**) realizándose la confirmación correspondiente dando como resultado negativo.

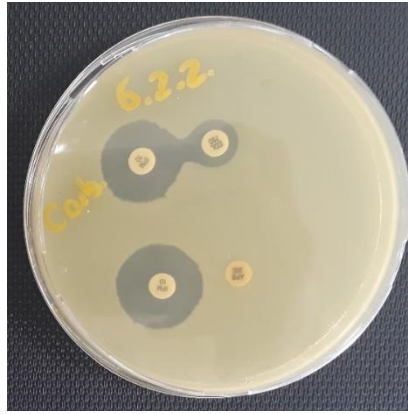


Imagen N° 1. Confirmación para carbapenemasa de *Citrobacter diversus* (cepa N°3).

Tabla N° 5. Patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos, de las bacterias de importancia clínica aisladas de la familia Aeromonadaceae y Pseudomonadaceae.

Microorganismo	GN	K	TE	CIP	NA	SXT	CRO	CAZ	IPM	ATM	AZM	AX	FOX
<i>Aeromonas sp</i>	S	S	S	I	S	I	S	S	R	S	S	R	S
<i>Aeromonas sp</i>	S	I	S	I	S	I	S	S	R	S	S	R	S
<i>Aeromonas sp</i>	I	R	S	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S	S		I				I	S	R			

GN: gentamicina; K: Kanamicina; TE: tetraciclín, CIP: ciprofloxacín; NA: Ácido nalidíxico; SXT: trimetoprim-sulfametoxazole; CRO: Ceftriazone; CAZ: ceftazidima; IPM: imipenem; ATM: aztreonam; AZM: azitromicina; AX: amoxicilina; FOX: cefoxitin.

Fuente: Datos obtenidos mediante el uso del método de Kirby Bauer y la guía International Clinical & Laboratory Standards Institute.

Análisis

Se describe en la tabla N° 5 el patrón de susceptibilidad y resistencia de las bacterias aisladas pertenecientes a la familia *Aeromonadaceae* y *Pseudomonadaceae* en los diferentes puntos de muestreo, observándose resistencia al imipenem y a la amoxicilina en todas las cepas de *Aeromonas sp*.

Discusión

Los resultados obtenidos muestran que *Pseudomonas aeruginosa* presenta resistencia únicamente al aztreonam a diferencia de lo que indican Marcillo Valencia *et al*⁽⁶⁾ en su estudio sobre bacterias encontradas en el agua del río Chibunga sobre la misma especie de microorganismo, el mismo que presentó fenotípicamente mecanismos de resistencia contra las quinolonas en contraste con la cepa encontrada en el presente estudio. Con lo que al

antimicrobiano Colistin se refiere, todas las bacterias analizadas mostraron sensibilidad. Se realizó una confirmación de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* (**imagen 2**) para descartar la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), identificándose la ausencia del mecanismo de resistencia.

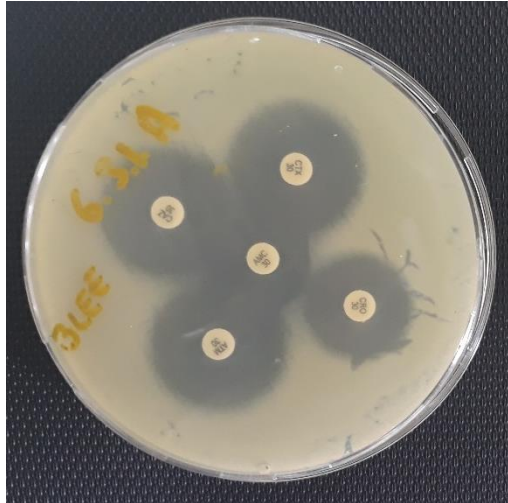


Imagen N° 2. Confirmación de *Pseudomona aeruginosa* para BLEE

Otro resultado a destacar es la sensibilidad de la primera cepa de *Aeromonas sp* a 9/13 antibióticos, y las dos siguientes a 8/13 antibióticos evaluados.

CONCLUSIONES

1. Se establecieron seis estaciones de muestreo de aproximadamente cinco km de distancia entre punto y punto a lo largo del río Guamote, considerándose la distancia al río siendo estos lugares: Chipo Grande, Chipo Chico, Guamote, Rondador-Molino (Chakrawasi), Copalillo (Rondan) y Puente de Guaninche donde se une el río Guamote con el río Cebadas, recolectándose siete tipos de productos agrícolas, entre ellos: choclo, habas, papa chaucha, lechuga crespita, hoja de nabo, alfalfa y cebolla.
2. Se recolectaron dieciocho muestras, aislándose e identificándose veinte bacterias de importancia clínica donde se destaca el 20% de patógenos aislados en Guamote y en Rondador-Molino (Chakrawasi); fueron identificados por medio de pruebas fisiológicas y bioquímicas para gramnegativas, dando como resultado: *Aeromonas sp*, *Pseudomonas aeruginosa* y enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* (dos), *Citrobacter diversus* (tres), *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii* (tres), *Proteus mirabilis* (dos), *Enterobacter cloacae* (dos) y *Enterobacter aerogenes* (dos).
3. Se determinó la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas identificadas mediante el método Kirby-Bauer, descartando sospechas de posibles mecanismos de resistencia, notándose la resistencia natural AmpC de ciertas enterobacterias y de bacterias gramnegativas que no tiene relevancia a nivel clínico.

RECOMENDACIONES

1. En los productos agrícolas cultivados en la cercanía al río Guamote se encontraron bacterias de importancia clínica siendo alarmante pues Guamote como tal tiene a la agricultura como su principal actividad de economía; se sugiere mayor interés hacia los sectores rurales por parte del Ministerio de Salud Pública y el Ministerio del Ambiente, además de las autoridades del cantón pertinentes pues a pesar de poseer agua potable según lo indica el municipio de Guamote, es notable el déficit de depuración del agua.
2. Se recomienda la sensibilización de los habitantes del lugar, así como de los turistas, informando sobre la contaminación existente en los productos agrícolas cultivados a lo largo del río Guamote que se debe al manejo erróneo de desechos humanos además de la distribución inadecuada de los cultivos con la ganadería.
3. Incentivar a la realización de investigaciones similares en sectores rurales donde la agricultura sea primordial para el desarrollo de la economía de la población para obtener resultados que corroboren los obtenidos en la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2018 [cited 2019 mayo 12. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>.
2. Estrada D, Soto Z, Pérez L. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Científica Salud Uninorte*. 2016; 32(1).
3. Rodríguez T, Barreto G, Sodrés M, Mar G, Berlot J, Martínez S, et al. Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 2015.
4. Barba F. Brote de intoxicación alimentaria en el distrito 07D04 Balsas, Marcabelí, Piñas. *Salud Humana*. 2017; 1: p. 34.
5. Tableau Software, Incorporated y sus licenciantes. Tableau public. [Online].; 2018 [cited 2019 Mayo 13. Available from:
<https://public.tableau.com/profile/vvicentee80#!/vizhome/ETAS-2014/ANUARIO>.
6. Mur k, Marcillo L, Guillen M. Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del río Chibunga. Proyecto de Investigación. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo; 2018.
7. Molina J, Orozco J, Guillen M. Detección de resistencia antimicrobiana en bacterias de interés clínico aisladas en el Río Chambo. Noviembre 2018 - enero 2019. Proyecto de Investigación. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo; 2019.
8. Flores C. “La Contaminación Agrícola por el uso de Agroquímicos y su Consecuencia Jurídica en relación a la Soberanía Alimentaria y al Derecho al Buen Vivir en la Comunidad de San Joaquín de la Parroquia Cuellaje, del Cantón Cotacachi xProvincia de Imbabura. Cotacachi.; 2016.
9. Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo -Senplades. Plan nacional de Desarrollo Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021-Toda una Vida Quito; 2017.
10. Quimbayo M, Corrales L, Sánchez L. Microorganismos potencialmente fitopatógenos en aguas de riego proveniente de la cuenca media del río Bogotá. NOVA. 2018.
11. Asamblea Nacional. [Online].; 2014 [cited 2019 Junio 06. Available from:
https://www.etapa.net.ec/Portals/0/TRANSPARENCIA/Literal-a2/LEY-ORGANICA-DE-RECURSOS-HIDRICOS_-USOS-Y-APROVECHAMIENTO-DEL-AGUA.pdf.

- 12 Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Chimborazo. Canton Guamote/ Gobierno Provincial de Chimborazo. [Online].; 2016 [cited 2019 Mayo 12. Available from: <http://www.chimborazo.gob.ec/chimborazo/?p=377>.
- 13 Montoya D. “Generación de geoinformación para la gestión del territorio a nivel nacional, escala 1:25.000”. ; 2013.
- 14 GAD Guamote. Guamote GAD Municipal. [Online].; 2019 [cited 2019 Mayo 12. Available from: <https://www.gadguamote.gob.ec/guamote/componente-econ%C3%B3mico.html>.
- 15 Organización Panamericana de la Salud. paho.org. [Online].; 2015 [cited 2019 Junio 12. Available from: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es.
- 16 Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Mietzner T. Microbiología Médica: McGRAW-HILL Interamericana Editores; 2011.
- 17 García A, Rodríguez M. Enterobacterias. 2010; 10(51).
- 18 Ochoa T, Mercado E, Durand D, Rivera F, Rivera F, Mosquito F, et al. Frecuencia y patotipos de *Escherichia coli* diarrogénica en niños peruanos con y sin diarrea. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*. 2011; 28(1).
- 19 Toro E, Lina M, Correa C, Cataño J. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*. 2010; 23(3): p. 241.
- 20 Davin-Regli A, Pagès J. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*. 2015 Mayo 18; 6(392).
- 21 Rodríguez R, Oteo J, Álvarez P, Zamora M, Martínez J, Pallarés A, et al. Brote de *Enterobacter cloacae* complex multirresistente productor de CTX-M-9 en una unidad de cuidados intensivos. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*. 2015 Junio 29; 34(4): p. 238.
- 22 Hamdi S, Rousseau G, Labrie S, Kourda R, Tremblay D, Moineau S, et al. Caracterización de cinco fagos de Podoviridae que infectan a *Citrobacter freundii*. *Frontier in Microbiology*. 2016 Junio 29.

- 23 Bush L, Schimidit C, Pérez M. Infecciones por Proteeae. Merck y los Manuales Merck.
. 2016 Mayo.
- 24 Winsor G, Griffiths E, Raymond L, Dhillon B, Shae J, Brinkman F. Enhanced
. annotations and features for comparing thousands of Pseudomonas genomes in the
Pseudomonas genome database. Nucleic Acids Research. 2016 Noviembre 17; 44: p.
646.
- 25 Bush L, Pérez M. Infecciones por Pseudomonas y patógenos relacionados. Merck y los
. Manuales Merck. 2016 Mayo.
- 26 Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Enterococcus y otros cocos grampositivos.
. Microbiología médica. 7th ed.: Elsevier; 2014.
- 27 Cota-Rubio E, Hurtado-Ayala L, Alcántara-Jurad L. Resistencia a antibióticos de cepas
. bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humano. Revista
Iberoamericana de Ciencias. 2014 Mayo; N° 1(1).
- 28 Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del
. conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Revista Habanera de Ciencias
Médicas. 2017;; p. 402-419.
- 29 Pérez H, Robles A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana.
. Revista Médica. ; 4(3).
- 30 Medeiros a, Missagia b, Brandão l, Callisto M, Barbosa F, Rosa S. Water quality and
. diversity of yeasts from tropical lakes and rivers from the Rio Doce basin in
Southeastern Brazil. Brazilian Journal of Microbiology. 2012.
- 31 Altamirano A, Beltrán M. La estructura de la comercialización, financiamiento y
. transporte de los principales productos agrícolas y su rentabilidad para los agricultores
del cantón Guamote. Revista PUCE. 2016;(103).

ANEXOS

ANEXO N° 1

**Localización de las estaciones para la
toma de muestras de productos agrícolas
del Río Guamote.**

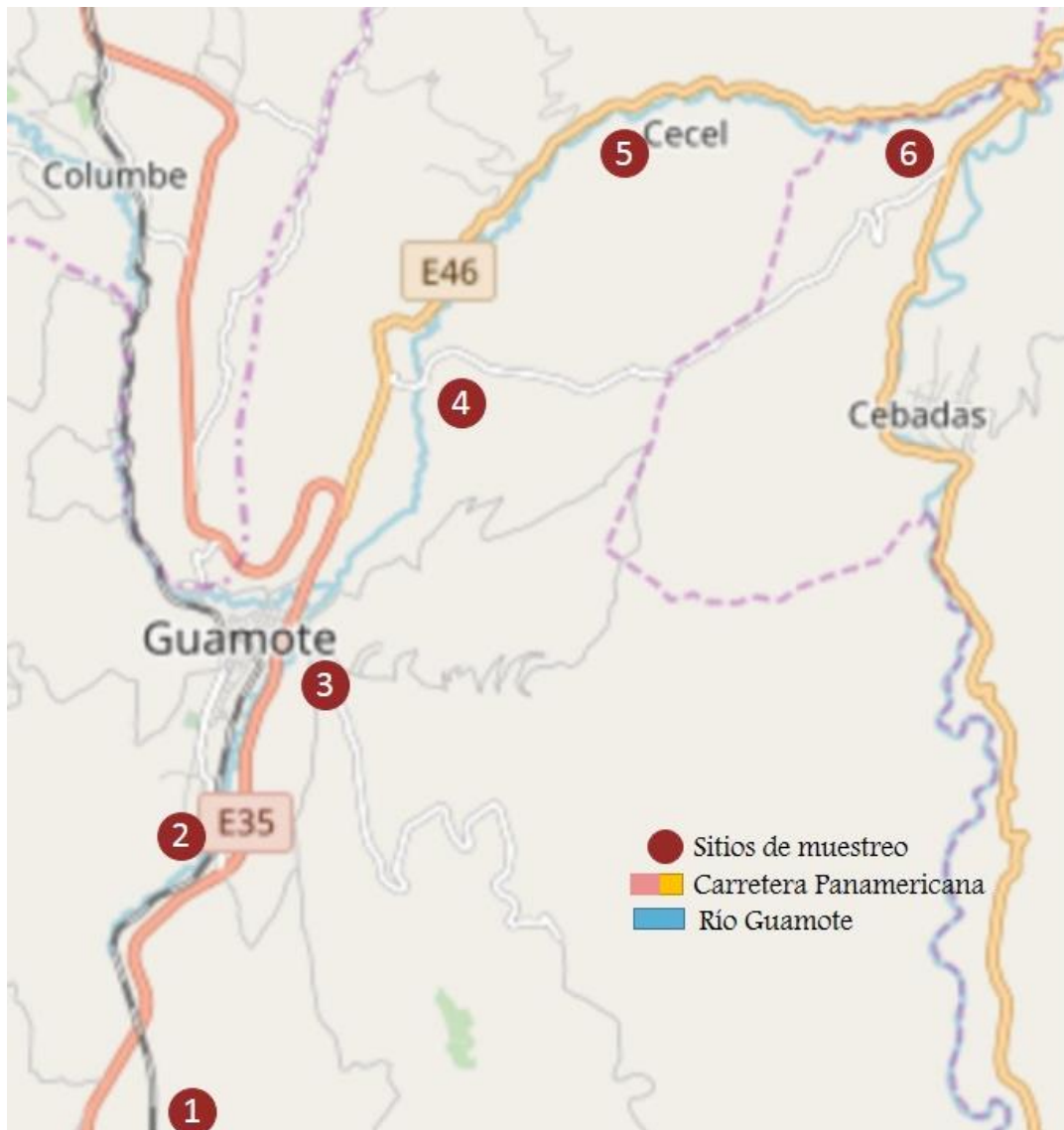


Figura N° 2: Ubicación de los puntos de muestreo de productos agrícolas del Río Guamote: Punto 1: Chipo Grande. Punto 2: Chipo Chico. Punto 3: Guamote. Punto 4: Rondador-Molino (Chakrawasi). Punto 5: Copalillo (Rondan). Punto 6: Puente de Guaninche.

Fuente: UbicaEcuador.com

<https://www.ubica.ec/explore/ciu/guamote/#!/?q&query=r%C3%ADo&qtype=q&reflat=-1.9661667298513326&reflng=-78.39363098144531&ref=Referencia>

ANEXO N° 2

Fichas de Observación de la Toma de muestra

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: _____

Nombre del estudiante: _____

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:

Estudiante

Tutor

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: 6.1

Nombre del estudiante: Irene Lara Fecha: 09/07/2019

Muestra: Agua Producto Agrícola:

Muestra tomada en (lugar): Rio Guamote. Chipo Grande

Temperatura: Medio Ambiente 12°C Agua

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: Viviendas colindantes: Si

Otra fuente que se considere contaminación: Cuál:

Realizado por:



Irene Lara
Estudiante



Lic. Eliana Martínez
Tutora

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**

N° de muestra: 6.2

Nombre del estudiante: Irene Lara Fecha: 09/07/2019

Muestra: Agua Producto Agrícola:

Muestra tomada en (lugar): Rio Guamoto - Chipo Chico

Temperatura: Medio Ambiente 3°C Agua

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: Viviendas colindantes: Si

Otra fuente que se considere contaminación: Cuál:

Realizado por:



Irene Lara
Estudiante



Lic. Eliana Martínez
Tutora

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: 6.3.

Nombre del estudiante: Irene Lara Fecha: 09/07/2019

Muestra: Agua Producto Agrícola: X

Muestra tomada en (lugar): Rio Guamote - Guamote

Temperatura: Medio Ambiente 15°C Agua

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: Si Viviendas colindantes: Si

Otra fuente que se considere contaminación: Si Cuál:

Tuñas, desechos comunes.

Realizado por:



Irene Lara

Estudiante



Lic. Eliana Martínez

Tutora

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: 64.

Nombre del estudiante: Irene Lara. Fecha: 09/07/2019

Muestra: Agua Producto Agrícola:

Muestra tomada en (lugar): Rio Gamote - Rondador - Tlalino (Chakrawasí)

Temperatura: Medio Ambiente 15°C Agua

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: Si Viviendas colindantes: Si

Otra fuente que se considere contaminación: Cuál:

Realizado por:



Irene Lara

Estudiante



Lic. Eliana Martínez

Tutora

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"

N° de muestra: 65.

Nombre del estudiante: Irene Lara Fecha: 09/07/2019

Muestra: Agua Producto Agrícola: x

Muestra tomada en (lugar): Rto Guarate - Copalillo (Banda)

Temperatura: Medio Ambiente 18°C Agua

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: Si Viviendas colindantes: Si

Otra fuente que se considere contaminación: Cuál:

Realizado por:



Irene Lara
Estudiante



Lic. Eliana Martínez
Tutora

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"

N° de muestra: 6.6

Nombre del estudiante: Irene Lara Fecha: 09/07/2019

Muestra: Agua Producto Agrícola: X

Muestra tomada en (lugar): Rio Guanote- Puente de Guaninche.

Temperatura: Medio Ambiente 13°C Agua

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: Viviendas colindantes: SI

Otra fuente que se considere contaminación: Cuál:

Realizado por:



Irene Lara
Estudiante



Lic. Eliana Martínez
Tutora

ANEXO N° 3

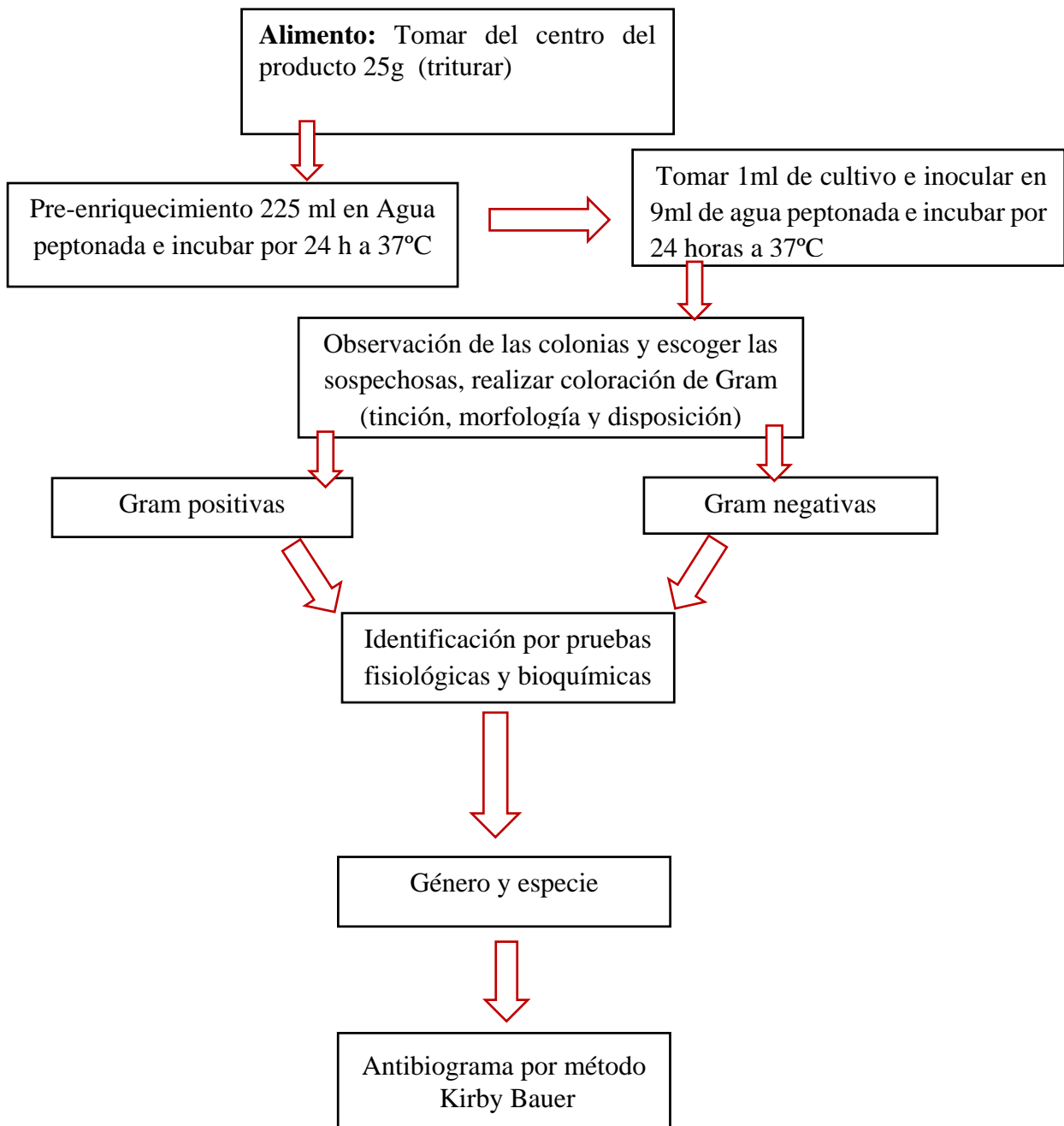
Protocolos para trabajar con muestras de productos agrícolas

PROTOCOLOS PARA TRABAJAR

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”

Toma de muestra de los productos agrícolas en las cercanías (500m a 1Km) de los puntos de muestras de las aguas del río Guamote.

Recolectar en bolsas estériles los productos agrícolas.



ANEXO N° 4

Tabla de las estaciones de muestreo con sus respectivos hallazgos bacteriológicos de cada producto agrícola.

Tabla N° 1: Tabla de las estaciones de muestreo con sus respectivos hallazgos bacteriológicos de cada producto agrícola.

Estación de muestreo	N° de muestra	T° A (°C)	Altitud (msnm)	Producto agrícola	Microorganismo
Chipo Grande	6.1.1	12	3.189	Choclo	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	6.1.2	12	3.189	Habas	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	6.1.3	12	3.189	Papa chaucha	<i>Citrobacter diversus</i>
Chipo Chico	6.2.1	8	3.157	Lechuga crespa	<i>Aeromonas sp</i>
	6.2.2	8	3.157	Lechuga crespa	<i>Aeromonas sp</i>
	6.2.3	8	3.157	Lechuga crespa	<i>Aeromonas sp</i>
Guamote	6.3.1.A	15	3.025	Papa chaucha	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	6.3.1.B	15	3.025		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	6.3.2	15	3.025	Papa chaucha	<i>Citrobacter diversus</i>
	6.3.3	15	3.025	Papa chaucha	<i>Proteus mirabilis</i>
Rondador-Molino (Chakrawasi)	6.4.1	15	2.962	Hoja de nabo	<i>Enterobacter cloacae</i>
	6.4.2	15	2.962	Hoja de nabo	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	6.4.3.A	15	2.962	Hoja de nabo	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	6.4.3.B	15	2.962		<i>Enterobacter cloacae</i>
Copalillo (Rondan)	6.5.1	18	2.913	Alfalfa	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
	6.5.2	18	2.913	Alfalfa	<i>Citrobacter freundii</i>
	6.5.3	18	2.913	Alfalfa	<i>Proteus mirabilis</i>
Puente de Guaninche	6.6.1	13	2.855	Cebolla	<i>Citrobacter freundii</i>
	6.6.2	13	2.855	Cebolla	<i>Citrobacter diversus</i>
	6.6.3	13	2.855	Cebolla	<i>Citrobacter freundii</i>

Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.

ANEXO N° 5

**Interpretación del diámetro de la zona de
inhibición para Enterobacteriaceae y
*Pseudomonas aeruginosa***

ANEXO N° 6

**Resultado del antibiograma de las
bacterias gramnegativas de interés clínico
conjuntamente con su interpretación
según la guía del CLSI.**

Tabla N° 2: Resultado del antibiograma de las bacterias gramnegativas de interés clínico conjuntamente con su interpretación según la guía del CLSI.

Parte 1.

Código	Microorganismo	GN		K		CT		TE		CIP		AN		SXT		CRO	
		mm	Int	mm	Int	mm	Int	mm	Int	mm	Int	mm	Int	mm	Int	mm	Int
6.1.1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	21	S	20	S	12	S	18	S	37	S	28	S	21	S	28	S
6.1.2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	>15	S	>18	S	14	S	21	S	>26	S	>19	S	27	S	32	S
6.1.3	<i>Citrobacter diversus</i>	20	S	10	R	13	S	20	S	30	S	23	S	28	S	29	S
6.2.1	<i>Aeromonas sp</i>	18	S	18	S	11	S	18	S	25	I	24	S	15	I	35	S
6.2.2	<i>Aeromonas sp</i>	18	S	18	I	12	S	20	S	25	I	24	S	15	I	29	S
6.2.3	<i>Aeromonas sp</i>	13	I	13	R	12	S	20	S	25	I	25	S	16	S	34	S
6.3.1.A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	S	18	S	12	S			19	I						
6.3.1.B	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	S	16	I	11	S	18	S	23	I	22	S	12	I	21	S
6.3.2	<i>Citrobacter diversus</i>	20	S	20	S	11	S	20	S	28	S	22	S	18	S	18	R
6.3.3	<i>Proteus mirabilis</i>	16	S	11	R	13	S	19	S	25	I	20	S	21	S	25	S
6.4.1	<i>Enterobacter cloacae</i>	14	I	22	S	13	S	19	S	24	I	17	I	21	S	23	S
6.4.2	<i>Enterobacter aerogenes</i>	12	I	14	I	11	S	20	S	30	S	29	S	15	I	30	S
6.4.3.A	<i>Enterobacter aerogenes</i>	13	I	13	R	11	S	21	S	30	S	29	S	15	I	28	S
6.4.3.B	<i>Enterobacter cloacae</i>	14	I	11	R	12	S	21	S	22	I	18	I	22	S	22	I
6.5.1	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	18	S	17	I	12	S	21	S	27	S	28	S	15	I	28	S
6.5.2	<i>Citrobacter freundii</i>	16	S	11	R	12	S	17	S	20	R	16	I	21	I	23	S
6.5.3	<i>Proteus mirabilis</i>	13	I	10	R	9	S	0	R	29	S	26	S	18	S	28	S
6.6.1	<i>Citrobacter freundii</i>	17	S	12	R	12	S	17	S	21	R	17	I	20	S	24	S
6.6.2	<i>Citrobacter diversus</i>	0	R	13	R	13	S	0	R	21	R	25	S	0	R	24	S
6.6.3	<i>Citrobacter freundii</i>	0	R	25	S	12	S	0	R	22	I	15	I	0	R	21	I

GN: gentamicina; K: Kanamicina; CT: colistin; TE: tetraciclín, CIP: ciprofloxacín; NA: Ácido nalidíxico; SXT: trimetoprim-sulfametoxazole; CRO: Ceftriazone; R*: Resistencia natural.

Parte 2.

Código	Microorganismo	CAZ		IPM		ATM		AZM		AX		AMC		FOX		CTX	
		mm	Int	mm	Int	mm	Int	mm	Int	Mm	Int	mm	Int	mm	Int	mm	Int
6.1.1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	26	S	34	S	31	S	14	S	9	R	13	R*			31	S
6.1.2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	33	S	>23	S	>21	S	20	S	14	I	18	S			39	S
6.1.3	<i>Citrobacter diversus</i>	27	S	31	S	33	S	18	S	17	S			22	S		
6.2.1	<i>Aeromonas sp</i>	23	S	18	R	29	S	18	S	0	R			25	S		
6.2.2	<i>Aeromonas sp</i>	24	S	18	R	32	S	18	S	0	R			26	S		
6.2.3	<i>Aeromonas sp</i>	22	S	17	R	30	S	19	S	0	R			21	S		
6.3.1.A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	I	25	S	14	R										
6.3.1.B	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	I	25	S	28	S	18	S	0	R	0	R*			29	S
6.3.2	<i>Citrobacter diversus</i>	25	S	28	S	20	I	12	R	20	S			0	R		
6.3.3	<i>Proteus mirabilis</i>	19	I	23	S	28	S	15	S	13	R*			20	S		
6.4.1	<i>Enterobacter cloacae</i>	22	S	26	S	28	S	14	S	0	R						
6.4.2	<i>Enterobacter aerogenes</i>	23	S	18	R	28	S	18	S	0	R						
6.4.3.A	<i>Enterobacter aerogenes</i>	21	S	17	R	19	I	18	S	0	R			22	S		
6.4.3.B	<i>Enterobacter cloacae</i>	19	I	22	I	23	S	13	S	17	S			8	R		
6.5.1	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	23	S	18	R	30	S	19	S	0	R						
6.5.2	<i>Citrobacter freundii</i>	19	I	22	I	25	S	14	S	12	R						
6.5.3	<i>Proteus mirabilis</i>	29	S	50	S	11	R	9	R	20	S						
6.6.1	<i>Citrobacter freundii</i>	21	S	23	S	26	S	13	S	16	I						
6.6.2	<i>Citrobacter diversus</i>	23	S	25	S	26	S	13	S	0	R*						
6.6.3	<i>Citrobacter freundii</i>	22	S	24	S	25	S	13	S	0	R*						

CAZ: ceftazidima; IPM: imipenem; ATM: aztreonam; AZM: azitromicina; AX: amoxicilina; FOX: cefoxitin; OX: Oxacilina; CTX: cefotaxime. R*: Resistencia natural.

Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.

ANEXO N° 7

Evidencias fotográficas.



Imagen N° 3. A) Toma de muestra en San Carlos – Chipo Grande. B) Toma de muestra en Chipo Chico. C) Toma de muestra en Guamote. D) Toma de muestra en Chakrawasi – Rondador. E) Toma de muestra en Copalillo – Rondan. F) Toma de muestra en Guaninche.
Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.



Imagen N° 4. A) Toma de temperatura ambiente. B) Toma de temperatura del agua del río Guamote. C) Medición de Ph del agua del Río Guamote.
Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.

A**B****C****D**

Imagen N° 5. A. Siembra de las muestras de productos agrícolas en agua peptonada. **B.** Resiembra de las muestras en agua peptonada. **C.** Siembra en agar sangre y MacConkey. **D.** Siembra en agar Cled.

Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.

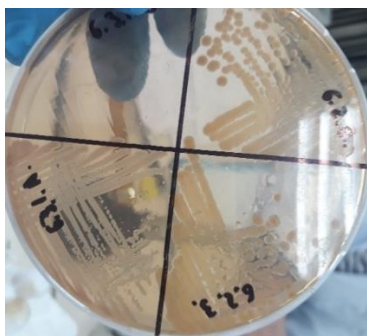
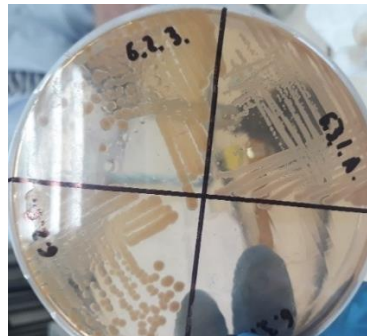
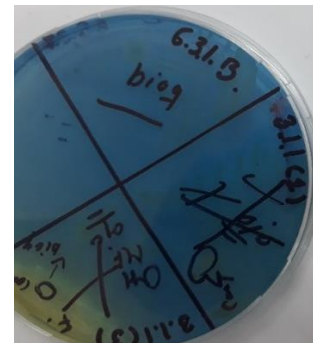
A**B****C**

Imagen N° 6. A. Crecimiento de bacterias en agar MacConkey. **B.** Sin crecimiento en agar MacConkey de muestra 6.3.1.B. **C.** Crecimiento de muestra 6.3.1.B. en agar C.L.E.D.

Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.

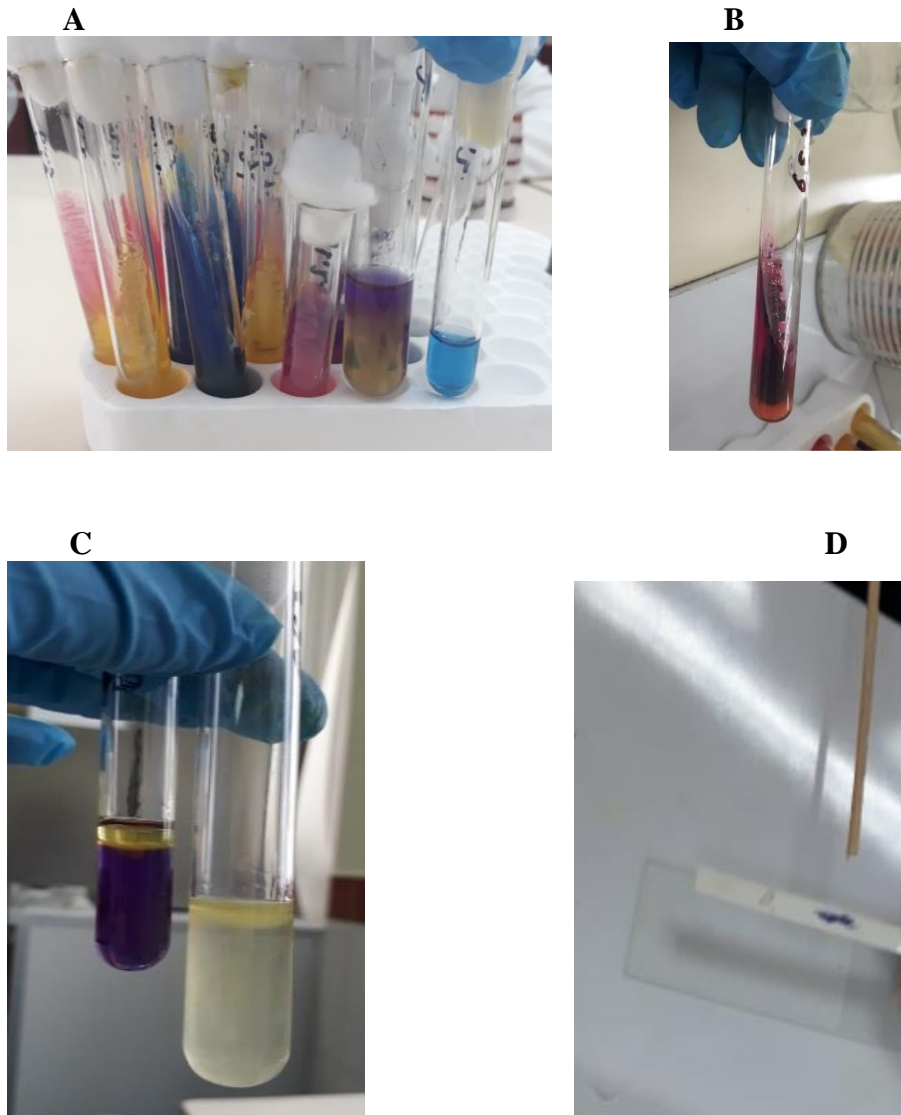


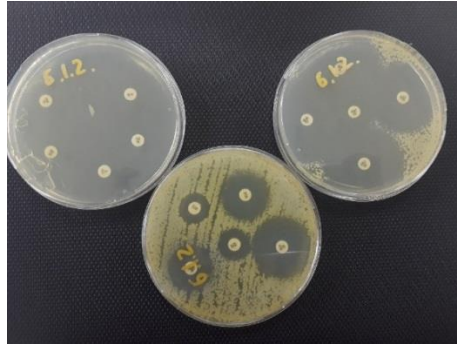
Imagen N° 7. **A.** Batería de identificación bacteriana de izquierda a derecha: agar Triple azúcar hierro (A/A), citrato (positivo), urea (positivo), MIO (Motilidad positivo, Indol negativo, Ornitina negativo), malonato (positivo). **B.** Agar Triple azúcar hierro (K/K, producción de gas y de H₂S). **C.** Comparación de dos muestras, de izquierda a derecha: MIO de muestra 6.3.1.A. (Motilidad negativo, Indol negativo, Ornitina positivo), MIO de muestra 6.2.2. (Motilidad positivo, Indol negativo, Ornitina negativo). **D.** Prueba de oxidasa de izquierda a derecha: negativo, positivo.

Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.

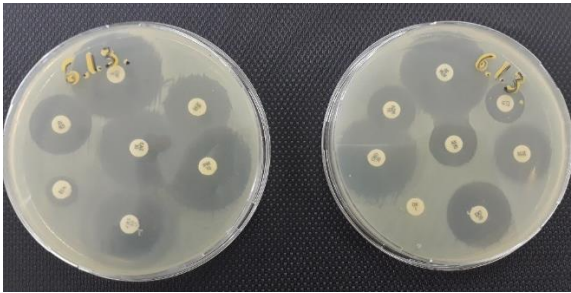
A



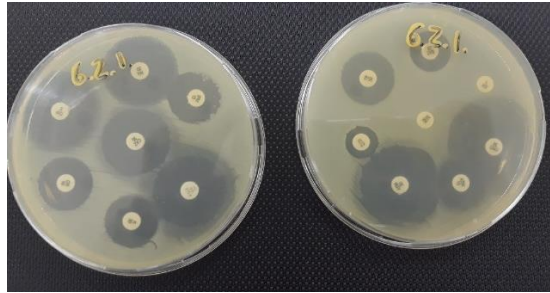
B



C



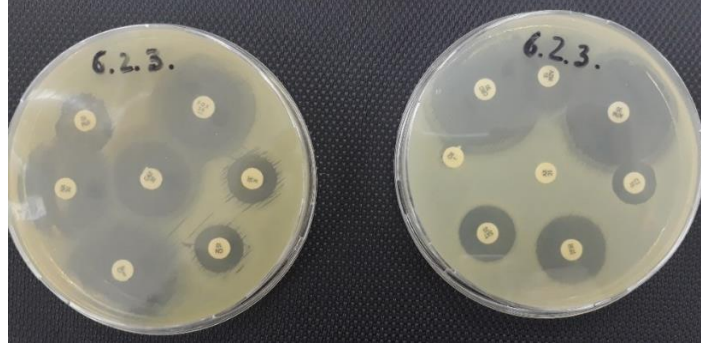
D



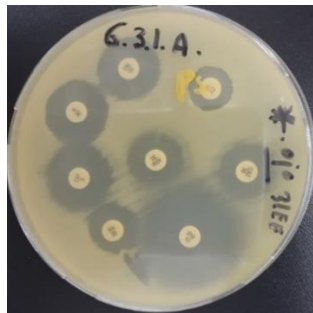
E



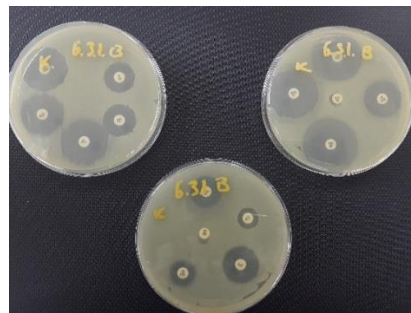
F



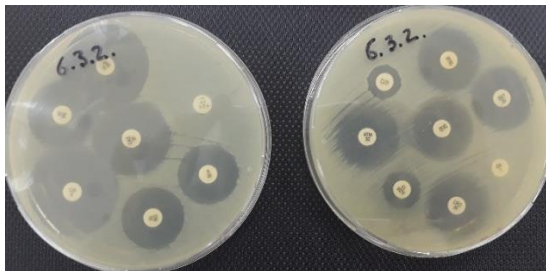
G



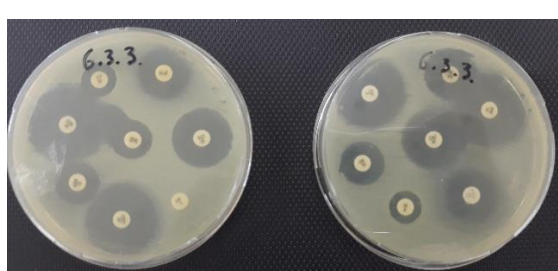
H



I



J



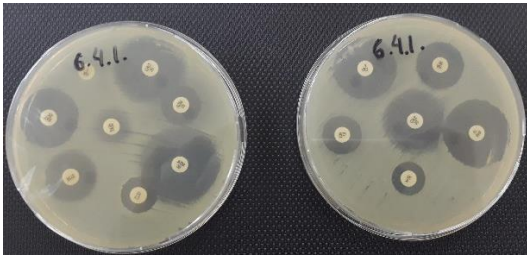
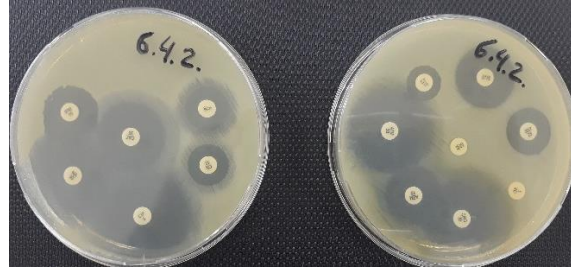
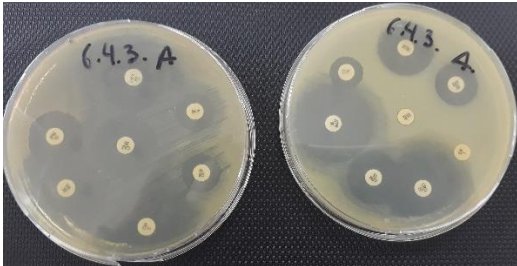
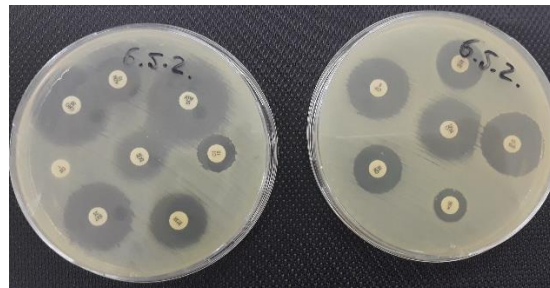
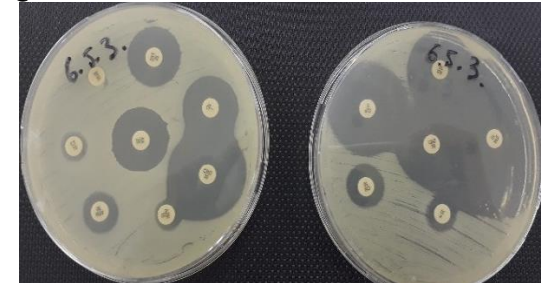
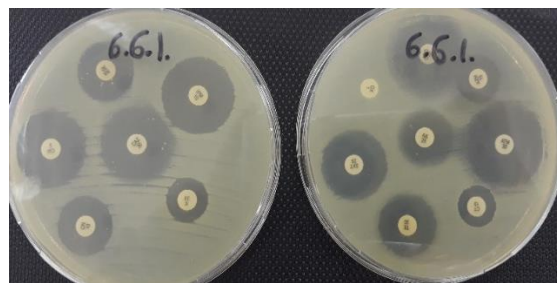
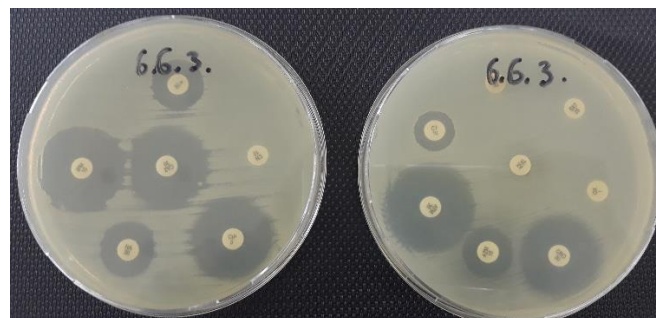
K**L****M****N****O****P****Q****R****S****T**

Imagen N° 8. A-T. Antibiograma de las 20 muestras.

Elaborado por: Lara Guarnizo Irene Dayana.