



**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 Licenciada en
Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas
provenientes de la cuenca del Rio Guano.

Autora: Mishell del Rosario Cazares Silva

Tutora Académica: PhD. Ana Carolina González Romero

Tutora Metodológica: Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez

Riobamba - Ecuador

2019

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano, presentado por Mishell del Rosario Cazares Silva, dirigido por: PhD. Ana Carolina González Romero y Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final escrito del proyecto de investigación con fines de graduación 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 Flores

Presidente del Tribunal



Firma

Mgs. Yisela Ramos Campi

Miembro del Tribunal



Firma

MsC. Celio García Ramírez

Miembro del Tribunal



Firma

DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA

Yo, Ana Carolina González Romero y María del Carmen Cordovéz Martínez, Docentes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora Académica y Metodológica respectivamente del Proyecto de investigación titulado: “Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano”, propuesto por la Srta. Mishell del Rosario Cazares Silva, egresada 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 encuentra apta 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. Ana Carolina González Romero

Tutora Académica



.....
Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez

Tutora Metodológica

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, corresponde exclusivamente a: Mishell del Rosario Cazares Silva y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



Mishell Cazares Silva

020202802-3

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios autor y consumidor de todos mis anhelos, por regalarnos el hábito de vida para poder cumplir mis sueños.

A mi madre, quién ha sido mi especial sustento y motivación, ser que me impulsa a avanzar en este camino.

De manera muy especial a mis queridas tutoras PhD Ana Carolina González y Dra. María del Carmen Cordovéz y a cada uno de mis familiares, docentes, quiénes aportaron con su granito de arena para que la ejecución de esta investigación tenga éxito.

Mishell Cazares Silva

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi madre adorada Liliana Silva, mi hermana Beatriz Cazares a mi sobrino Martin y a mi abuelita Zenaida Cobo.

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

Mishell

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁG.
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	5
Objetivo General:	5
Objetivos Específicos:	5
CAPÍTULO I	
ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA	
Río Guano	6
El agua de riego en el Ecuador	8
Efectos del agua de riego contaminada	9
Bacterias patógenas aisladas en los vegetales por aguas de riegos.	9
Bacterias patógenas.....	10
<i>Escherichia coli.</i>	10
<i>Salmonella.</i>	11
<i>Shigella.</i>	11
<i>Enterobacter</i>	11
<i>Aeromonas</i>	11
<i>Pseudomonas</i>	12
<i>Plesiomonas shigelloides.</i>	12
<i>Bacillus</i>	12
Método de tinción	13
Tinciones Diferenciales	13
Tinción de Gram	13

Bacterias Gram positivas	13
Bacterias Gram Negativas	13
Estructuras Externas	14
Resistencia antimicrobiana	14
Antibióticos	15

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

Tipo de Investigación	16
Determinación de la población y muestra	16
Métodos de estudio	16
Técnicas y procedimientos:	17
Identificación del área de estudio y toma de las muestras.....	17
Materiales:	17
Equipos	17
Reactivos	18
Identificación del área de estudio y toma de las muestras.	17
Sección de los puntos geográficos para la toma de muestra.	18
Preparación de medios de cultivo.	19
Técnica de Gram	19
Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana.	20
Medición de resistencia antibiótica en bacterias patógenas	21
Análisis estadístico de datos obtenidos	22
Consideraciones éticas	22

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	31
RECOMENDACIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Descripción de Ubicación y Altitud en Cada Estación de Muestreo.....	23
Tabla 2:	Datos de Ubicación, Altitud, Temperatura / Ambiente, Temperatura/Agua, pH obtenidos de los vegetales de terrenos agrícolas circundantes del Río Guano y de acuerdo a cada estación de muestreo.....	23
Tabla 3:	Distribución porcentual de los patógenos aislados según la coloración de Gram.....	24
Tabla 4:	Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Río Guano.....	25
Tabla 5:	Distribución de especies de bacterias patógenas aisladas de acuerdo al punto geográfico y producto.....	26
Tabla 6:	Patrón de susceptibilidad y resistencia de <i>Enterobacterias</i> y <i>Enterococcus</i> encontrados en los diferentes productos agrícolas, basados en la Guía Internacional CLSI.....	28
Tabla 7:	Patrón de susceptibilidad y resistencia de la familia <i>Aeromonadaceae</i> aislada de productos agrícolas de la cuenca del río Guano.	30
Tabla 8:	Patrón de susceptibilidad y resistencia de <i>Enterococcus spp</i> aislados de productos agrícolas de la cuenca del río Guano.....	31

RESUMEN

A nivel mundial la contaminación de agua y alimentos es una problemática sanitaria emergente. Este estudio tiene como objetivo identificar bacterias de interés clínico aisladas de productos agrícolas regados con aguas del río Guano, Chimborazo, Ecuador, determinando su resistencia y susceptibilidad antimicrobiana. Trabajo de tipo descriptivo, transversal, de campo, inductivo y observacional. Se midió temperatura ambiental y altitud del sitio geográfico donde fue recolectada la muestra. Para el aislamiento e identificación de los microorganismos se utilizaron medios de cultivo como agua Peptonada, agar Sangre, McConkey e interpretación de pruebas fisiológicas y bioquímicas para la clasificación en especie, obteniéndose 16 cepas bacterianas. Para la medición de la susceptibilidad y resistencia se realizó la técnica de Kirby Bauer. La familia *Enterobacteriaceae* fue la más aislada (75%) con *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, mientras que el 18,75% correspondió con la *Aeromonadaceae* (3 cepas). La familia *Streptococcaceae* (6,25%) con el género *Enterococcus* como único Gram positivo aislado. Los aislados bacterianos determinados en este estudio presentaron de forma general buena sensibilidad frente a los antibióticos probados, excepto la Amoxicilina que presentó un 80% de resistencia y el *Enterobacter aerogenes* (cepa 3) presentó multiresistencia a Gentamicina, Kanamicina, Ácido Nalidíxico, Imipenem y Aztreonam, mostrando fenotípicamente resistencia a las cefalosporinas. Los resultados obtenidos indican que los productos estudiados constituyen un riesgo para la salud humana, por el incremento de enteropatógenos que presentan. Recomendándose socializa a las autoridades pertinentes estos resultados, con el fin de prevenir infecciones intestinales o extraintestinales por su consumo.

Palabras clave: Río Guano, Resistencia antimicrobiana, *Enterococcus*, *Enterobacterias*

ABSTRACT

At the global level, the water and food contamination is an emerging health problem. This study aims to identify bacteria of clinical interest identified from agricultural products irrigated with water from the Guano River, Chimborazo, Ecuador, determining their resistance and antimicrobial susceptibility. This is a descriptive, transversal, field, inductive and observational work. We measured the environmental temperature and altitude of the geographical site where the sample was collected. For the isolation and identification of microorganisms, culture resources such as peptonated water, blood agar, McConkey and interpretation of physiological and biochemical tests to classify the species, obtaining 16 bacterial strains. For the susceptibility measure and resistance, the Kirby Bauer technique was performed. The Enterobacteriaceae family was the most isolated (75%) with *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, while 18.75% corresponded to *Aeromonadaceae* (3 strains). The *Streptococcaceae* family (6.25%) with the genus *Enterococcus* as the only isolated positive Gram. The bacterial symptoms specified in this study are generally very sensitive to the antibiotics tested, except for Amoxicillin that presented 80% resistance and *Enterobacter aerogenes* (strain 3) presented multiresistance to Gentamicin, Kanamycin, Nalidixic Acid, Imipenem and Aztreonam. Phenotypically showing resistance to cephalosporins. The results indicate that the products studied are dangerous to human health, due to the increase in enteropathogens presented. It is recommended to socialize these results to the relevant authorities, in order to prevent intestinal or extraintestinal infections due to their consumption.

Keywords: Guano River, Antimicrobial Resistance, *Enterococcus*, *Enterobacteria*

Translation reviewed by:

MsC. Edison Damian



INTRODUCCIÓN

El elemento más frecuente que se encuentra en la tierra es el agua y según la Organización de Naciones Unidas (ONU) y la Organización Mundial para la Salud (OMS), sólo el 2,53% del total es agua dulce y la salada corresponde con el otro por ciento. A nivel de los glaciares y las nieves perpetuas se encuentran inmovilizadas las 2/3 partes del agua dulce¹.

Regionalmente se distribuye la disponibilidad del agua dulce (Anexo 1). La población crece y en consecuencia el per cápita de uso aumenta debido a que mejora el nivel de vida y si agregamos las variaciones temporales y espaciales del agua disponible podemos decir entonces que está escaseando, lo que conlleva a una crisis de la misma. Ésta se agrava por la contaminación a que se ven sometidos los recursos hídricos¹.

Se estima que diariamente se arrojan unos 2 000 000 de toneladas de desechos en las aguas como residuos industriales, químicos, desechos humanos y agrícolas (fertilizantes, pesticidas) que las contaminan y al ser utilizadas como riego afectan los productos agrícolas cosechados con las mismas, pero además al tener uso doméstico afectan al hombre, sobre todo resultan ser más afectadas las poblaciones más pobres por encontrarse expuestas a fuentes de agua contaminadas sin tener opción a otra forma de abastecimiento¹.

Existen algunos alimentos que al ser consumidos sin ningún tipo de cocción, son potencialmente peligrosos en caso de que exista contaminación, como es el consumo de frutas y hortalizas frescas que son considerados como parte importante de una dieta saludable. Sin embargo microbiológicamente se consideran productos de menor riesgo que las carnes y los productos lácteos pero pueden transmitir enfermedades en casos de estar contaminados con microorganismos causantes de infecciones gastrointestinales².

El sector agrícola siempre ha estado conectado con el uso del agua para obtener buenos resultados de las cosechas, independientemente de los nutrientes de la tierra. En este caso, prácticamente no se le da importancia si está contaminada o no para usarla, más bien los agricultores se centran en obtener suficientes productos para consumo personal como para la venta en el mercado nacional o internacional, por lo cual utilizan la primera fuente de abastecimiento de agua que tengan a su alcance³.

La estimación de las enfermedades causadas por aguas no tratadas a nivel mundial señala que por patologías gastrointestinales al año enferma una de cada 10 personas por ingerir alimentos contaminados, aproximadamente anualmente se ven afectadas unas 420.000 personas, de estas son los menores de 5 años los más vulnerables. Esta situación prevalece mayormente en África y Asia Sudoriental⁴.

Sobre este problema, la Cepal dice: “En los ríos que desembocan en algunos países de Centroamérica, cerca del 80% contaminan o afectan los productos por el uso como regadíos, ya que los ríos tienen la particularidad de concentrar los contaminantes que captan en sus cuencas, donde precisamente existen terrenos agrícolas y son altamente sensibles a la contaminación de diferentes tipos de bacterias, tanto de agua dulce como salada a causa, existen otras causas como la superpoblación y el cambio climático, que afectan a las fuentes de este recurso esencial”³.

A parte de que es necesaria para cultivar y procesar alimentos, el agua también proporciona energía a la industria con el objeto de satisfacer a una población en constante crecimiento, por lo que se vuelve importante la gestión adecuada de las aguas residuales urbanas, industriales y agrícolas. Además es importante señalar que la contaminación de estos ríos también provoca que parte de estos ecosistemas terminen desapareciendo por la pronta proliferación de algas invasoras que se nutren de todos los nutrientes que les proporcionan estos residuos⁵.

Las bacterias patógenas habitan en el ecosistema fluvial y es por ello que se les debe considerar altamente peligrosas, por ser residuales procedentes de toda la actividad humana, generando un impacto negativo al ambiente, haciendo que el uso de ésta como riego o al estar alrededor de los sembríos en la agricultura pueda ocasionar la contaminación de lo cosechado⁶.

Así como en países de América, en el Ecuador, también la contaminación del agua se da por diferentes tipos de vertidos, como aguas de fábricas, fecales y aguas blancas; donde la primera es un vertido de carga contaminante de la actividad industrial, la segunda se genera por las aguas residuales domésticas; y por último, por las llamadas aguas crudas por el proceso previo a la potabilización. Su incidencia está en que son fuente de abastecimiento para el riego y producción de diferentes cultivos agrícolas a nivel nacional⁷.

El río Guano es una subcuenca del río Chambo, es una fuente hidrológica que abastece y sirve como regadíos para los cultivos que se desarrollan dentro de esta área. Este río es la principal ruta donde se desechan las aguas residuales donde las bacterias patógenas concentradas en las mismas se alojan en los distintos vegetales y pueden servir como reservorio de infecciones a quienes consumen dichos productos agrícolas⁵. Pero además otra manera de contaminar el río es de forma indirecta, por parte de animales que transitan por el sector, ya que al depositar excrementos en esta zona, pueden llegar al río los mismos, mediante la lluvia o el viento, y se añade a esto, que los alrededores del río se ha convertido en vertedero de basura, provocando una mayor contaminación, donde se ven afectados de esta manera los cultivos. De esta forma actúan sobre las cadenas tróficas y pueden perjudicar a la salud humana por la ingestión de alimentos contaminados⁸.

Los productos que se dan en esta zona maíz, papa, haba, tomate de carne, etc., los cuales se consumen y se comercializan dentro y fuera de la provincia. Sería importante considerar, en qué condiciones patógenas se encuentra la cuenca del Río Guano y si los productos agrícolas que han sido regados por estas aguas tienen los nutrientes saludables o están contaminadas y pueden producir distintas enfermedades. La presencia de *Coliformes fecales* y de *Escherichia coli*, en aguas son indicadores de contaminación fecal, los cuales podrían indicar peligro para la salud⁹.

Al consumir el hombre productos agrícolas contaminados con bacterias y en el caso más extremo al ser estas resistentes o multirresistentes a antibióticos, se convierten por si mismos en fuente de infección de patologías diversas¹⁰.

Existen estudios realizados conocidos en busca de bacterias de importancia clínica de aguas de ríos en la provincia de Chimborazo, por lo cual nos dimos a la tarea de investigar los productos agrícolas cosechados en las inmediaciones del río Guano, donde se vierten innumerables desechos, para buscar si existe contaminación de los mismos con bacterias patógenas causantes de enfermedades intestinales y extraintestinales. En el primer grupo encontramos *Enterobacterias*, *Aeromonas*, *Vibrios*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Estafilococcus aureus*, mientras que del segundo el *Enterococcus* causante de septicemia, infección urinaria, etc., por vía endógena sobre todo si es un huésped inmunodeprimido^{11, 12, 13}.

Así de esta forma se ayuda a buscar solución y cumplir con la Constitución de la República del Ecuador en su artículo 66 que establece “el derecho a una vida digna, que asegure la salud, alimentación, nutrición y agua potable” dando cumplimiento al Plan Nacional de Desarrollo 2017 – 2021 mediante su objetivo 1 donde propone mejorar la calidad de vida de la población para vivir en hábitat seguro y saludable¹⁴.

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar las bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del río Guano.

Objetivos Específicos:

- Establecer los lugares de estudio de los vegetales agrícolas provenientes de la cuenca del río Guano.
- Identificar las bacterias patógenas aisladas de los vegetales agrícolas provenientes de la cuenca del río Guano.
- Determinar la susceptibilidad de las bacterias patógenas aisladas de los vegetales agrícolas provenientes de la cuenca del río Guano.

CAPÍTULO I

ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA

La contaminación global del agua según Escobar, está alrededor del 70% - 75%, esto se debe a los desechos de las actividades humanas y que son arrojados a ríos y mares, donde, se podría hablar de un 90% de contaminantes que se transportan de los ríos al mar. Por otro lado, un 70% de la población de América se ubican en las costas o cerca de ellas, especialmente en zonas urbanas, donde gran parte de los desechos se deposita simplemente en el océano, y esto trae como consecuencia, efectos críticos, como el de que agricultores las utilizan para regar sus cultivos, ya que sus terrenos suelen estar cerca de fuentes de ríos, lo que de alguna forma altera al producto agrícola haciéndolo poseedor de diferentes tipos de bacterias que se forman por la contaminación de residuos^{3, 15}.

Las fuentes fluviales que son contaminadas, sean de ríos, franjas costera y el mismo mar deberían ocupar un estudio profundo, pues su posición de fuente de abastecimiento para la agricultura, debe destacarse en tanto en calidad para su uso, debe ser una tarea de preocupación el vigilar las aguas con las que se riegan los cultivos, sin embargo, en la práctica esto aún no ocurre, se desconoce o se hace caso omiso, que esta alteración y destrucción de la calidad del agua, va en contra de nuestra salud^{3, 15}.

Los efectos en la salud humana deberían ser un hincapié, para que se tome con responsabilidad que las aguas deben contar con un tratamiento adecuado para ser utilizados, esto con respecto a zonas agrícolas del Ecuador, y con mayor razón en la provincia del Chimborazo y su cantón Guano, estos aspectos vinculados a un estudio más profundo sobre la contaminación y sus efectos negativos para el hombre^{3, 15}.

Río Guano:

Se extiende el río Guano a 30,05 km. a lo largo de los deshielos del Nevado Chimborazo, pasa luego por el centro de la ciudad de Guano y desembocando en el río Chambo. Su geomorfología es de tamaño intermedia pequeña, forma ovalada, dimensión plana y en toda su longitud cambios de su sección¹⁵.

Debido a que sus aguas pasan por el cantón Guano toma el nombre de río Guano. La microcuenca de este río forma parte de la subcuenca del río Chambo, que por su cantidad,

calidad y disponibilidad frente a los cambios climáticos, éste se considera una fuente hidrológica, limita geológicamente con el acuífero ubicado en esta subcuenca, además atraviesa este cantón de noroeste a sureste¹⁵.

En esta zona la temperatura promedio va desde 16 a 18°C; debido a su diversidad de pisos climáticos, desde el valle hasta la montaña más alta, por lo que tiene una vegetación de toda clase, incluyendo la propia de serranía¹⁵.

Estudios sobre la calidad del agua, realizados por el Ministerio de Salud a nivel nacional, demostraron que el agua del río Guano es muy mala, ya que se encontraron alta presencia de coliformes fecales, alrededor de 11.550 por cada 100 ml de agua, en la zona urbana; y en la zona alta del río, se registraron 6.300 coliformes fecales; lo que representa peligro, puesto que los niveles aceptables no deben pasar de 2.000 coliformes por cada 100 ml de agua¹⁵.

En relación a la cantidad de líquidos disueltos encontrados en el río, debido al uso de distintos fungicidas y pesticidas utilizadas por agricultores, respectivamente, estos datos revelan los graves peligros que representa esta agua para los cultivos¹⁶.

A esta contaminación se agrega además los continuos desagües de las descargas de las aguas servidas de la población que se encuentran a lo largo de la microcuenca, que también, recibe los afluentes de hilanderías y de curtiembres de la zona¹⁷.

Es el aporte de agua que se da a los cultivos para que obtengan por medio del suelo húmedo un mayor rendimiento para la producción del cultivo de alimentos, absorción de agua que es realizado por las raíces de las plantas; se convierte en una ventaja, porque cuando la lluvia no compensa las necesidades para aportar a un cultivo agrícola, el regadío asegura las cosechas, y así se mejoran las condiciones ambientales e impidiendo la falta de humedad para que no se afecte el crecimiento de los cultivos y el desarrollo de los vegetales¹¹.

Existen diferentes formas y parámetros que permiten indicar la calidad del agua del río cuando se va a utilizar en los regadíos, como es determinar su calidad realizando observaciones y análisis sencillos de parámetros como su olor, color, presencia de

espumas, temperatura del agua, entre otros parámetros, además, la fauna invertebrada si existiese en el fondo del río, son verdaderos indicadores biológicos de su estado ambiental, para definir su uso o no en la agricultura.

De manera general, la calidad del recurso hídrico establece sus posibles usos, el agua de los ríos destinada a actividades agrícolas o usos agrarios debe tener cierta calidad, ya que, se necesita para el mantenimiento de los ecosistemas, y no es aceptable, que a pesar de que se lo usa en cultivos, se siga tomando al río como fuente para arrojar todo tipo de desecho, y que no importe quien lo utilice; desde allí, su calidad está siendo afectada debido a estos vertidos de muy distintas partes y de distintas sustancias, en las que se destaca materia orgánica, inorgánica, metales pesados, pesticidas y plaguicidas¹¹.

Se considera que las aguas para el consumo humano que tienen mejor calidad son las minerales naturales, ya que desde el punto de vista bacteriológico no portan microorganismos¹⁸.

El agua de riego en el Ecuador

El agua que se utiliza para el riego de sembríos, juega un papel fundamental; en primer lugar se utiliza en un 80% para consumo y lo demás para regadíos. Las aguas del Ecuador tienen diferentes usos, porque al destinarla al riego ayuda a la producción agrícola de un terreno, por ello se dice: “La agricultura es inconcebible sin agua”^{15,18}.

Como referencia tomamos el criterio de García, que se refiere al riego como: La modalidad que influye mucho en la productividad. Además es importante el uso de sistemas hídricos, ya que garantizan el reparto equilibrado del agua en toda la población, son sistemas que cubren varias hectáreas de terreno^{15, 18}.

En el agua de riego los efectos de la contaminación son muy diversos y dependen de varios elementos contaminantes, cuyos secuelas más comunes son las afectaciones a la salud humana, donde se incrementan las enfermedades; y como no puede ser de otra manera, se afecta la salud ambiental con la correspondiente ruptura del equilibrio ecológico, la disminución, desaparición y deterioro de la calidad del agua para diferentes actividades como consumo humano y agrícola que son más comunes sus usos^{15,18}.

El agua para consumo humano, y regadío de cultivos, tiene cierta modalidad de tenencia o desigual de distribución que va también en relación a la desigualdad en la distribución de la tenencia de tierras; es decir, el 88% de los beneficiarios del riego o minifundistas, disponen de 6 y a 20% de los caudales totales disponibles; mientras que, el 1 y 4% del número de beneficiarios o hacendados, tienen de 50 a 60% de los caudales disponibles¹⁹.

Efectos del agua de riego contaminada

Dentro del rol del uso de las aguas residuales para la agricultura, en todo momento, representan uno de los mayores desafíos dentro de la actividad humana, pues la agricultura a más de garantizar un abastecimiento continuo de alimentos, debe adoptar medidas para conocer el grado de contaminación de las aguas que utiliza, ya que los efectos sanitarios van directamente para el hombre²⁰.

El uso de agua residuales para los cultivos agrícolas puede ocasionar efectos negativos al suelo, ya que a más de acumular metales pesados, se afectan los cultivos con microorganismos, el primero, afecta los cultivos dentro de su rendimiento y crecimiento, y los microorganismo, bacterias u otros patógenos contenidas en el agua, pueden actuar como cadenas tróficas, perjudicando por ingestión de estos alimentos a la salud humana^{7, 20}.

Bacterias patógenas aisladas en los vegetales por aguas de riegos.

Al cosechar vegetales con aguas contaminadas, se deberá tener en cuenta que se encuentran en ella diversos tipos de bacterias patógenas o millones de bacterias, que se sitúan en los productos cosechados y que producirán a largo o corto tiempo muchas enfermedades entéricas, una de ella puede ser la *Escherichia coli*, especie altamente adaptable al medio contaminante²⁰.

Los microorganismos al formar parte de un huésped, en este caso un ser humano, le ocasionan efectos que provocan muchas enfermedades, como las infecciones a nivel digestivo^{13, 21}.

El proceso de contaminación se da porque, transmitidas al ser humano o animales, se ubican en el tracto gastrointestinal, cuyo desecho es vertido a los sistemas de aguas, donde se juntan con residuos de aguas usadas, domésticas, urbanas, residuos líquidos industriales y mineros del hábitat de cada individuo²².

En referencia al grupo denominado coliformes se relaciona a las especies de la familia *Enterobacteriaceae*, determinados serotipos virulentos ocasionan en el humano diarreas agudas. Otro género diferente pero significativo en tipos de investigaciones, es el que pertenece al género *Vibrio*, que se aloja en el humano al consumir aguas contaminadas, con las consecuentes diarreas agudas, acuosas y profusas, que muchas veces son las responsables de altas tasas de mortalidad²².

Bacterias patógenas

Millones de bacterias se encuentran presentes en el ambiente, muchas de ellas juegan roles importantes, y en casos hasta vitales, son especies altamente adaptadas a sus medios. Su nicho ecológico donde habitan naturalmente puede cambiarlo, adaptarlo y formar parte de un huésped como el ser humano, lo que ocasiona efectos perjudiciales provocándole enfermedades ya que a estos microorganismos se los señalan como patógenos²².

Un efecto patógeno, como las que las bacterias envían al ser humano, producen diferentes enfermedades infecciosas, como enfermedades digestivas, ya que se alojan estas bacterias en el tracto gastrointestinal de animales y humanos; y ciertamente son patógenos que son vertidos a los sistemas de aguas cloacales, y hallan en él su hábitat²³

Son varias las bacterias que se desarrollan en las aguas contaminadas y se alojan en su interior, por lo que hacen de su hábitat ya que se adaptan a cualquier medio que les pueda sostener y multiplicar; pero también en zonas superficiales pueden adaptarse, y es un hábitat necesario para ellas ya que contienen oxígeno suficiente, en ella se encuentran especies denominadas *Pseudomonas*, que son otros microorganismos de importancia clínica²³.

Escherichia coli. son bacilos Gram negativos, presentan motilidad positiva, permiten la fermentación de la lactosa la cual produce coloraciones ácidas a un tono rosado, en agar MacConkey, produce indol y gas, se identifica con patologías como gastroenteritis, infecciones extra intestinales, del tracto urinario, meningitis, sepsis, etc.¹³.

Salmonella.

Este género denominado *Salmonella*, es de la familia *Enterobacteriaceae*. bacilos Gram negativos móviles, frecuentemente puede producir enfermedad bacteriana que afecta el aparato intestinal. En la bacteria *Salmonella* casi todos sus miembros son potencialmente patógenos, son liberados por medio de las heces. Al consumir agua o alimentos contaminados es la mayor frecuencia con la que se infectan los hombres y animales¹³.

Shigella.

La *Shigella* es causante de shigelosis, enfermedad infecciosa diarreica provocada por estirpe de bacterias con forma de bacilo, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son Gram negativas¹³.

Estas bacterias se desechan a través de las heces. Las bacterias tienen un grado de contagio, ya que a partir de una persona infectada se contaminan agua o alimentos, o directamente contagia a otra persona. Una mínima cantidad de bacterias *Shigella* llevada a la boca es suficiente para experimentar tales síntomas. Se presenta esta enfermedad comúnmente en centros educativos y centros de cuidado infantil. Se la conoce también a la *Shigelosis* como la diarrea del viajero, debido al agua o alimentos contaminados que un viajero puede traspasar o adquirir¹³.

Enterobacter

Es un género *Enterobacter* que representa tres principales especies de importancia, como: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter zakazaki*²⁰.

Son bacterias fermentadoras de lactosa, móviles, sus cápsulas producen colonias mucoides, generalmente asociadas a determinadas patologías como neumonía, infecciones del tracto urinario e infecciones de heridas¹³.

Aeromonas

Esta bacteria tiene la forma de un bacilo, es Gram-negativa, anaerobia facultativa, morfológicamente es parecida a los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. La enfermedad que produce es gastroenteral o extraintestinal, pues se ha consumido alimentos contaminados, este microorganismo patógeno tiene como reservorio el agua, y los

humanos se contagian, muchas veces sin saberlo, al consumir productos contaminados o beber agua de piletas, lagos y ríos, etc.¹³.

Pseudomonas

Representa al género de bacilos rectos o ligeramente curvados, son Gram negativos delgadas, aerobios, no fermentadores de lactosa y móviles. Tanto las bacterias *Pseudomonas*, como la *Pseudomonas aeruginosa*, generalmente están presentes en el suelo y el agua. Necesitan para crecer estas bacterias áreas húmedas; por ello se instalan en fregaderos, lavabos, piscinas y jacuzzis, hasta en soluciones antisépticas caducadas o inactivadas, por eso es necesario que en fregaderos, lavados, piscinas y jacuzzis sean adecuadamente cloradas, también estas bacterias se encuentran presentes en axilas y áreas genitales de personas sanas. Infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*, enfermedades que van desde infecciones externas leves y hasta gravemente mortales¹³.

Plesiomonas shigelloides

La bacteria *Plesiomonas shigelloides*, es un microorganismo Gram negativo, es un agente que causa gastroenteritis e infección extraintestinal, comúnmente la septicemia y la meningitis; la mortalidad asociada con estas infecciones extraintestinales es muy alta; pero raras veces causan infecciones sistémicas en personas inmune deficientes; cirrosis hepática y diabetes; los síntomas van desde fiebre, escalofríos, dolor abdominal, náusea, heces acuosas, diarrea tipo disentería y hasta vómito²⁴.

Bacillus

Son bacterias que producen esporas especialmente resistentes a condiciones adversas, miden de 4 a 10 micrones. Aunque la mayoría de *Bacillus* son inofensivas, algunas son patógenas para los humanos y animales como el *Bacillus anthracis* que causa el ántrax. Pueden causar envenenamiento a través de alimentos contaminados, con vómito después de 1 a 5 horas de su ingestión, otras cepas causan diarrea después de 10 a 15 horas²⁴.

Entre las bacterias que producen con frecuencia infecciones gastroentéricas se encuentran la *Enterobacterias* y otras (Anexo 2)

Método de tinción

Para observar ciertas características de la muestra podemos realizar tinciones diferenciales, como la tinción de Gram, es decir son diversas técnicas dentro de un examen microscópico directo con la muestra clínica para demostrar la presencia de microorganismos²⁵.

Tinciones Diferenciales

Se puede utilizar diversas tinciones diferenciales, que sirven para teñir cada tipo de microorganismo o componente del material celular²⁵.

Tinción de Gram

Conocida y utilizada en forma generalizada, ayuda al fundamento de la clasificación fenotípica de las bacterias^{13, 25}.

Bacterias Gram positivas

La bacteria Gram positiva posee pared celular gruesa formada de varias capas y principalmente por peptidoglucano (150 a 500 Å), rodeando la membrana citoplásmica, ésta es lo suficientemente porosa como para permitir la difusión de los metabolitos a la membrana plasmática. Como Gram positiva posee también otros componentes, como ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos generalmente denominados “polisacáridos C”. Estas moléculas son antígenos que favorecen la fijación a otras bacterias y a receptores específicos localizados o adheridos en la superficie de las células^{13, 25}.

Bacterias Gram Negativas

Poseen paredes celulares Gram negativas más complejas, su pared celular Gram negativa contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplásmica, una delgada capa de peptidoglucano con un 5% a 10% del peso de la pared celular, no contiene ácidos teicoicos ni lipoteicoicos, en la parte externa de la capa de peptidoglucano se halla la membrana externa, la cual es exclusiva de las bacterias Gram negativas^{13, 25}.

En el caso de las especies bacterianas Gram negativas patógenas, muchos de los factores de virulencia líricos (por ejemplo, colagenasas, hialuronidasas, proteasas y betalactamasa) se encuentran en el espacio periplásmico^{13, 25}.

Las zonas de adhesión proporcionan una vía membranosa para el paso de los componentes recién sintetizados de la membrana externa hacia esta²⁵.

Estructuras Externas

Algunas bacterias (Gram positivas o Gram negativas) están rodeadas por capas laxas de proteínas o polisacáridos denominadas cápsulas. Cuando la adhesión es muy débil y el grosor o la densidad no son uniformes, se habla de capa de limo (*Slimelayer*). Las cápsulas y la capa de limo se conocen también como glucocálix²⁵.

Resistencia antimicrobiana

Bacterias potencialmente patógenas se liberan continuamente en las aguas, donde muchas de ellas tienen genes de resistencia a antibióticos que se insertan en reservorios genéticos móviles como los plásmidos que son de muy fácil propagación entre los grupos bacterianos, que hacen del agua y del humano su hábitat²⁶.

El factor agua constituye una ruta principal por la cual se introducen genes de resistencia bacteriana, por lo que hoy en día es común encontrar aislamientos bacterianos con niveles de resistencia tales como: los multidrogosresistentes (resistente a 2 o más antibióticos), extremadamente resistentes (resistente a 3 o más antibióticos), y aún es más perturbador, encontrar aislamientos panresistentes, los que muchas veces son literalmente intratables con los regímenes farmacológicos vigentes, razón que conlleva a incluir terapias combinadas²⁶.

Según Alós, el conjunto de problemas que comprende tal resistencia a antibióticos se relaciona en diversos aspectos con la contaminación de las aguas. Entender esta resistencia en el medio ambiente puede facilitar también la comprensión de la resistencia a antibióticos, y cómo estos, pueden ser inmunes en el organismo humano. Los elementos que intervienen en la resistencia están codificados en los cromosomas de bacterias, estos genes les permiten sobrevivir en los hábitats ricos en aguas mayormente contaminadas; a lo que se puede producir una transferencia de genes que pueden propagar la resistencia de forma eficiente entre las poblaciones bacterianas²⁶.

Tenemos un ejemplo, como los genes BLEE CTX-M, muy extendidas en la actualidad, han pasado del cromosoma de especies ambientales del género *Kluyvera* a plásmidos bien

adaptados en *E. coli*, y los que tienen un proceso de la bien denominada genética de la resistencia²⁶.

Antibióticos

Se conoce que las bacterias han demostrado a muchos agentes o anticuerpos, una considerable capacidad para desarrollar resistencia o sensibilidad a ciertos fármacos²⁷.

Los antibióticos no representan un método de restablecimiento para toda infección, pero a más de constituir una defensa importante contra las enfermedades infecciosas, es preciso decir que la resistencia o sensibilidad a antibióticos en un gran número de casos no es predecible²⁷.

Un reflejo del efecto de los antibióticos frente a microorganismos se ven influidos por una variedad de factores relacionados entre sí, entre los que se encuentran las propiedades farmacocinéticas del fármaco²⁷.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

Tipo de Investigación:

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

De campo: Se recolectaron las muestras de los diferentes puntos aledaños del río Guano, se aisló e identificó a las bacterias patógenas y su resistencia antimicrobiana, de los diferentes productos agrícolas.

No experimental: no se manipularon las variables, es decir que no se alteran las condiciones existentes.

Corte Transversal: Se ejecutó y se delimitó en el río Guano, específicamente durante el período de abril a julio del año 2019.

Carácter Cualitativo: Se realizó una descripción de las variables de estudio con categorías de análisis, se buscó determinar la existencia y resistencia antimicrobiana en las bacterias patógenas aisladas del río Guano.

Determinación de la población y muestra

Población: 18 colonias de bacterias presentes en los productos agrícolas aledaños al río Guano.

Muestra: Se tomaron en cuenta las 16 cepas bacterianas aisladas en productos agrícolas aledañas al río Guano.

Métodos de estudio

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

Técnicas e instrumentos:

Técnicas: Observación.

Instrumentos: Ficha de observación, (Anexo 3), Cámara fotográfica.

Procedimiento

Identificación de área de estudio.

Para el presente estudio se localizaron diferentes puntos geográficos para la recogida de los productos agrícolas encontrados como Cuatro Esquinas, San Andrés, entrada y salida a Guano, puntos cercanos a la cuenca del río Guano y que pertenecen a la provincia de Chimborazo, cantón Guano.

Son productos regados por del río Guano, cuyos cultivos se encuentran a 500m, de la microcuenca del río, que se localiza en la Provincia de Chimborazo y se extiende a 30,05 km. a lo largo de los deshielos del Nevado Chimborazo, pasando por el centro de la ciudad de Guano y desembocan en el río Chambo¹⁵.

Materiales:

Para realizar el estudio de los vegetales utilizamos los siguientes materiales: Fundas estériles con seguridad; marcador para codificar e identificar las fundas según el punto donde fue recolectado el vegetal.

Para la práctica se necesitó de diferentes tipos de agar, cajas petri, tubos de vidrio, toallas absorbentes, dermatográfico, bisturí, pesa, vasos de precipitación, bandejas de plástico, estufa, frasco de vidrios estériles, algodón, tinción de Gram, hisopos, discos de antibióticos, asas de platino, mechero, placas de vidrio, probetas, Erlenmeyer de 500 y 1000mL Boeco, de 50, 100 y 200 mL Boeco, regla.

Equipos: Estufa bacteriológica Memmert, Autoclave Tuttnauer, Microscopio, Refrigeradora, Balanza analítica, Plancha de calentamiento Cimarec, Computador portátil, Cámara fotográfica.

Reactivos: Agua destilada, agua oxigenada, suero fisiológico, colorantes cristal violeta, lugol, safranina, decolorante Alcohol-cetona, Agar Sangre Himedia, Agar McConkey Himedia, Agar SSHimedia, Agar TCBS Difco™, Agar Urea Himedia, Agar Citrato de Simmons Himedia, Agar SIMHimedia, Agar LIADifco™, Agar Kliger Difco™, Discos Antibiograma Thermoscientific, tiras de oxidasa, Aceite de inmersión, Alcohol.

Selección de los puntos geográficos para la toma de muestra.

Se seleccionó para el estudio:

- **Primero y segundo punto:** Muestras de habas y papas fueron recogidas en Cuatro Esquinas se tomó tres muestras diferentes para realizar el estudio.
- **Tercer punto:** La muestra del maíz se recolectó en San Andrés y también se recogieron tres muestras.
- **Cuarto punto:** Se recogió las muestras de papas en la entrada del Cantón Guano se tomó dos muestras diferentes, y finalmente.
- **Quinto punto:** Fueron tomados dos muestras de tomate de carne en la salida del Cantón Guano, cada producto se encontró a una distancia de 200 m.

Cabe indicar que un mismo producto (habas, o papas) se recogieron en un mismo terreno a un metro de distancia para su estudio.

Preparación de medios de cultivo.

Para la presente investigación se seleccionó los agares: Sangre Himedia, McConkey, y Müller Hinton Difco™; que se prepararon según instrucciones específicas de la casa comercial (Anexo 4)

Todos los medios de cultivo fueron autoclavados a 15 libras de presión, 15 minutos a 121°C, se esperó que se enfriaran hasta una temperatura entre 45-50°C y se vierte en las placas Petri estériles a una altura de 4 a 5mm. Finalmente se dejó solidificar el medio de cultivo y las placas se almacenaron en fundas de plástico a una temperatura de 2 – 8 °C.

Toma de muestra

Las muestras se recolectaron en bolsas estériles de plástico individualmente para cada producto, donde se identificó la muestra y el nombre del sector donde se recogió.(Anexo 5,6).Una vez tomadas se transportaron al laboratorio de la Universidad Nacional de Chimborazo, al Laboratorio de Investigación de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico, colocándolos en bandejas de plástico cada vegetal, donde se calcula el peso establecido de 25g haciendo pedazos pequeños para mezclar con 225 ml de Agua Peptonada para enriquecimiento(Anexo 7,8).

Posteriormente se incubó por 24 h a 37°C; al cumplirse este tiempo, se hizo resiembra de este enriquecimiento, se tomó 1mL y se añadió a 9ml de Agua Peptonada en tubos y se dejó nuevamente a 37°C/24 horas; al cumplirse el tiempo establecido se resembró 0,05ml de esta Agua Peptonada en agar Sangre y agar MacConkey, se estirió por agotamiento para obtener colonias puras e incubó nuevamente a 37°C/24h para luego observar las colonias sospechosas de bacterias de importancia clínica.(Anexo 9).

A las colonias sospechosas se les realizó la coloración de Gram para ver tinción, morfología y disposición y poder identificar las bacterias Gram positivas de las Gram negativas.

Técnica de Gram

1. Realizar un frotis fino del material de estudio y dejarlo secar al aire
2. Fijar el material al portaobjetos pasándolo tres o cuatro veces a través de la llama de un mechero Bunsen, de manera que el material no se lave durante la tinción.
3. Colocar el frotis en un soporte para tinción y recubrir la superficie con solución de cristal violeta.
4. Luego de 1 minuto de exposición al colorante lavar con agua destilada
5. Cubrir el frotis con solución yodada de Gram durante 1 minuto. Nuevamente, lavar con agua
6. Sujetar el frotis entre el pulgar y el dedo índice e impregne la superficie con unas gotas de decolorante alcohol-acetona, hasta que el lavado deje de tener color violeta.
7. Lavar con agua corriente y luego cubrir la superficie con la tinción de safranina durante 1 minuto.
8. Lavar con agua corriente

9. Colocar el frotis en posición vertical en el soporte para tinción, para permitir que el exceso de agua drene y el frotis se seque al ambiente
10. Examinar el frotis teñido bajo el objetivo de $100\times$ (de inmersión) del microscopio óptico. Las bacterias Gram positivas se tiñen de azul oscuro; las bacterias Gram negativas aparecen de color rosa o rojo²⁴.

Luego se realizaron las pruebas fisiológicas y bioquímicas para diferenciar en género y especie de las bacterias y para medir la susceptibilidad y resistencia antimicrobiana se empleó el método por difusión en agar Kirby Bauer.

Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana.

Para la identificación de las bacterias patógenas aisladas de las muestras de los vegetales regadas con agua del río Guano, se utilizaron diversas pruebas fisiológicas y bioquímicas, además de la coloración de Gram a partir de cultivos puros. (Anexo 10).

En las bacterias Gram negativas crecidas en el agar McConkey se le realizaron pruebas bioquímicas para llegar a género y especie como Kligler, Urea, Citrato, Motilidad-Indol-Ornitina (MIO), Malonato; y LIA (Lisina-Hierro-agar) (Anexo 11).

El agar Kligler para observar si fermentaban la lactosa o la glucosa, la presencia de SH_2 y si tenían producción de gas o no. Se utilizó la urea para ver la producción de ureasa, el agar Citrato como fuente de energía, como fuente de carbono y nitrógeno se utilizó el caldo Malonato. Para observar la motilidad bacteriana, la producción de indol y la actividad enzimática ornitina descarboxilasa y la desaminación o descarboxilación de la lisina se probó con el medio MIO y el LIA respectivamente²⁴.

En el caso de las bacterias no fermentadoras de la lactosa ni la glucosa (BNF) se les realizó la prueba de la oxidasa para ver si producían esta enzima. En las que eran oxidasas positivas se observó la presencia de hemólisis en agar sangre, crecimiento a temperaturas de 37°C y a 42°C , más la producción de pigmento²⁴.

Para colonias de bacterias Gram positivas aisladas en agar Sangre se observó si existía la presencia de α , β , o γ hemólisis, además se le realizó la prueba de catalasa, bilis esculina y crecimiento en CINa al 6,5%.

Medición de resistencia antibiótica en bacterias patógenas

Identificadas cada una de las bacterias aisladas, se procede luego a evaluar la resistencia y susceptibilidad a diferentes antibióticos. Se utilizó el ensayo de difusión en agar Kirby-Bauer, prueba esencialmente cualitativa que determina si un microorganismo es sensible, intermedio o resistente a los antimicrobianos probados²⁸.

Se utilizaron los siguientes antibióticos: Kanamicina (K), Acido nalidixico (AN), Imipenem (IPM), Azitromicina (AZM), Amoxicilina (AZ), Oxacilina (OX), Ceftazidima (CAZ), Aztreonam (ATM), Ciprofloxacino (CIP), Gentamicina (GE), Trimetoprim-Sulfametoxazol (SXT), Colistin (CT), Tetraciclina (TE), Vancomicina (VA), Penicilina (P), Eritromicina (E), Clindamicina (DA) (Anexo 12).

Previa preparación según el fabricante del medio de cultivo Muller Hinton para la realización del antibiograma. En la aplicación de la técnica se tocó la superficie de 3-5 colonias de la cepa estudiada a partir de un cultivo puro en Ag Nutriente, realizando una dilución en NaCl 0,9%, hasta alcanzar una turbidez igual al tubo 0,5 del patrón de McFarland correspondiendo aproximadamente a $1,5 \times 10^8$ UFC/ ml. Luego se introdujo un hisopo estéril en el tubo de cultivo, eliminando el sobrante apretando el hisopo contra las paredes del tubo con movimientos rotatorios, se sembró en la placa de Ag Muller Hinton, estriando en 3 direcciones de manera que quedara uniformemente distribuido en un ángulo de 60°. Seguidamente se colocaron los discos para antibiograma con pinza estéril a 15mm del borde y 20mm de equidistancia, presionándolos con delicadeza, tapando la placa de Petri y se dejó reposar durante 15 minutos y se incubó a 37°C por 18-24h. Pasado este tiempo se realizó la lectura de las placas midiendo con regla milimetrada los halos de inhibición de cada muestra realizada para categorizar si el antibiótico probado era sensible, intermedio o resistente según los lineamientos que exige el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, cuyas siglas en inglés son “CLSI”²⁸.

Análisis estadístico de datos obtenidos

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

Consideraciones éticas:

No existen conflictos bioéticos por cuanto las muestras son de origen vegetal.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se seleccionaron cinco puntos para la toma de muestra de los productos agrícolas que se cultivan con agua de regadío del río Guano. Los puntos seleccionados corresponden a: Cuatro Esquinas y Cuatro Esquinas nacimiento (1° y 2° punto), San Andrés (3° punto), Entrada de Guano (4° punto) y Salida de Guano (5° punto) Tabla 2.

En la Tabla 1 se presentan los datos de ubicación, altitud, temperatura ambiente y crecimiento bacteriano.

Tabla 1: Productos agrícolas circundantes al río Guano, según ubicación, altitud y temperatura ambiente.

Punto	Ubicación	Producto	Altitud	Temperatura/ Ambiente	Crecimiento bacteriano	
					G-	G+
Punto 1	Cuatro Esquinas	Habas	3500	18°	6	0
Punto 2	Cuatro Esquinas Naciente	Papas	3500	18°	4	0
Punto 3	San Andrés	Maíz	3000	24°	3	0
Punto 4	Entrada de Guano	Papas	2740	22°	1	0
Punto 5	Salida de Guano	Tomate de carne	2700	27°	1	1
TOTAL					15	1

Se observa que según la relación altitud/ temperatura ambiente con respecto al crecimiento bacteriano hubo mayor aislamientos (10/15 cepas) de bacterias Gram negativas donde existió más altitud y menos temperatura, contrario a lo descrito en las bibliografías revisadas donde se comenta que a mayor altitud menos temperatura y menos O₂, mientras que a menor altitud mayor temperatura y más O₂.

Datos que se remontan a estudios desde el siglo XIX en París por Miquel, el cual estudió los microorganismos del aire determinando no solamente la cantidad de ellos, sino también los factores ambientales y la posibilidad de transmisión por el aire de enfermedades contagiosas. Con los análisis que realizó desde el tejado del Panteón de París (82 m) demostró que a medida que aumenta la altitud, disminuye el número de microorganismos²⁹.

De la Rosa planteó en sus investigaciones que algunas bacterias presentan un descenso de la fluidez de la membrana que ocasiona que se detengan los procesos de transporte de nutrientes, trae consigo la modificación en la velocidad de crecimiento lo que provoca cambios que pueden ocasionar la muerte del microorganismo cuando éste se encuentra a mayor altitud y menos temperatura³⁰.

De los 5 puntos geográficos muestreados se obtuvieron 16 cepas bacterianas que mediante la coloración de Gram se logró clasificarlas en Gram positiva o Gram negativa (Tabla 2) (Anexo 11).

Tabla 3: Distribución porcentual de los patógenos aislados según la coloración de Gram.

Coloración Gram	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Gram negativas	15	93,75
Gram positivas	1	6,25
Total	16	100%

La mayoría de los patógenos aislados según la tinción de Gram, fueron Gram negativos representando el 93,75%, mientras que se aisló sólo un 6,25% como Gram positivo.

Bush y Solis^{31, 32} confirman nuestra investigación, ya que plantean que las bacterias patógenas halladas en los productos agrícolas cultivados con agua de ríos contaminados en gran parte son de tipo Gram negativas, que habitan el intestino del hombre y los animales y traducen una contaminación fecal cuando se encuentran en aguas y alimentos, pero pueden ser perjudiciales provocando infecciones gastroentéricas (Anexo 2).

De acuerdo a Saavedra, este autor, manifiesta que las bacterias Gram positivas no son frecuentes en aguas, pero existen algunos géneros como el *Enterococcus* que es indicador de contaminación fecal, aunque no produce cuadros entéricos, si es productor de infecciones urinarias y sepsis^{13, 19}.

Tabla 3: Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Río Guano.

Hallazgo Bacteriano		Frecuencia	Porcentaje
Familia	Género y especie	(n)	(%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i> (2)	12	75,00 %
	<i>Enterobacter cloacae</i> (3)		
	<i>Citrobacter diversus</i> (3)		
	<i>Hafnia alvei</i> (1)		
	<i>Enterobacter aerogenes</i> (3)		
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas spp</i> (3)	3	18,75%
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Enterococcus spp.</i> (1)	1	6,25 %
TOTAL		16	100%

En la Tabla 3 se presentan las bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Río Guano, observándose que la familia *Enterobacteriaceae* fue la de mayor aislamiento con un 75%, seguida de la *Aeromonadaceae* y *Streptococcaceae* con un 18,75% y un 6,25% respectivamente.

Muchas bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, se asocian a problemas gastrointestinales, mientras la *Aeromonas spp* también puede ser causante de cuadros diarreicos aparte de otras infecciones extraintestinales.

La presencia del *Enterococcus spp* en agua o alimentos traduce una contaminación fecal, pero a pesar de esto, no se relaciona con afecciones gastrointestinales más bien con cuadros septicémicos, infección urinaria sobre todo en la mujer embarazada, infecciones nosocomiales y otras, por este motivo aunque fue una sola cepa la obtenida en la presente investigación hay que darle importancia, pues una persona con un sistema inmunológico deficiente puede adquirir una infección por vía endógena desde su intestino.

Los estudios realizados por Maligan y colaboradores reafirman que las bacterias que transmiten enfermedades provenientes de vegetales contaminados son la mayoría de las *Enterobacterias* tales como *E. coli*, *Salmonella spp*, *Salmonella typhi*, *Shigellaspp*, *P. shigelloidesy* como no *Enterobacterias* mencionan los vibrios y *Aeromonas*³³.

Tabla 4: Distribución de bacterias patógenas aisladas según el punto geográfico y el producto agrícola estudiado.

	Producto Agrícola	Bacteria aislada	Nº de Cepas	Nº de muestras	Frecuencia (n)	%
Punto 1 Cuatro Esquinas	Habas	<i>C. amalonaticus</i>	1	3	6	37,50
		<i>E. cloacae</i>	2			
		<i>C. diversus</i>	1			
		<i>H. alvei</i>	1			
		<i>Aeromonas spp</i>	1			
Punto 2 Cuatro Esquinas	Papa	<i>C. amalonaticus</i>	1	3	4	25,00
		<i>C. diversus</i>	1			
		<i>E. aerogenes</i>	1			
		<i>Aeromonas spp</i>	1			
Punto 3 San Andrés	Choclo	<i>E. aerogenes</i>	1	3	3	18,75
		<i>Aeromonas spp</i>	1			
		<i>E. cloacae</i>	1			
Punto 4 Entrada a Guano	Papa	<i>C. diversus</i>	1(2)	2	1	6,25
Punto 5 Después de Guano	Tomate de carne	<i>Enterococcus spp.</i>	1	2	2	12,50
		<i>E. aerogenes</i>	1			
TOTAL			16		16	100

En el presente estudio existió mayor crecimiento de bacterias de importancia clínica en las habas y papas en Cuatro esquina, con 37,50 % y 25 % respectivamente, estudiándose 3 muestras por cada punto. Bacterias Gram negativas que provienen del intestino tanto de animales como del hombre, bien sea la presencia de animales en los cultivos o fecalismo al aire libre por las personas, esto contaminan el suelo y el agua y por ende a los productos agrícolas como se ve demostrado aquí.

Entre las bacterias aisladas se encuentran 2 cepas de *Enterobacter cloacae*, las cuales se consideran diferentes pues al realizar el antibiograma tienen patrones de sensibilidad y resistencia que difieren. Mientras que en las papas recogidas a la entrada a Guano donde se tomaron dos muestras fueron aislados 2 cepas de *C. diversus* pero se cuantificaron como una sola cepa por tener patrones de resistencia y sensibilidad iguales.

Rodríguez y colaboradores en Bolivia estudiaron vegetales y también encontraron mayormente *Enterobacterias* como en el presente estudio, teniendo coincidencias además de que los productores regaron sus plantaciones con aguas de sistemas de riego lo que podría favorecer a la contaminación bacteriana³⁴.

Según Corrales debe existir una alerta con respecto a los productos agrícolas que se riegan con agua contaminada de ríos, pues pueden ser microorganismos potencialmente fitopatógenos portadores de enfermedades los que estén presentes en ellas, como la ¹⁰, presencia de *Enterobacter*, *Citrobacter*, etc.³⁵.

El *Enterococcus spp* como la única cepa aislada de este género, no deja tener importancia a pesar de no provocar diarrea, pues está estrechamente relacionado con factores de riesgo como son el uso de catéter, inmunodepresión, el uso irracional de antibióticos de amplio espectro, la Diabetes Mellitus, enfermedades debilitantes, infecciones por *Clostridium difficile*, diálisis peritoneal, hemodiálisis, estadía hospitalaria prolongada, trasplantes renales, pueden invadir por vía endógena o exógena y producir infecciones o diseminarse como patógeno nosocomial¹³.

Para obtener el patrón de resistencia y sensibilidad antimicrobiana de las bacterias patógenas aisladas en los productos agrícolas cultivados con aguas del río Guano, se procedió mediante el Documento M100 de las CLSI 2019²⁸, quedando demostrado en la Tabla 5,6 y 7.

Tabla 5: Patrón de susceptibilidad y resistencia de *Enterobacterias* aisladas de los productos agrícolas de la cuenca del río Guano.

MUESTRA	GN	K	TE	CIP	AN	SXT	CRO	CAZ	IPM	ATM	AZM	AX	CT
<i>Hafnia alvei</i>	S	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	-
<i>Enterobacter cloacae</i> (cepa 1)	R	I	S	S	S	S	I	S	I	S	S	R	S
<i>Enterobacter cloacae</i> (cepa 2)	S	S	S	I	S	S	S	S	I	S	S	R	S
<i>Enterobacter cloacae</i> (cepa 3)	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>Citrobacter diversus</i> (cepa 1)	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S
<i>Citrobacter diversus</i> (cepa 2)	S	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S
<i>Citrobacter diversus</i> (cepa 3)	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
<i>Enterobacter aerogenes</i> (cepa 1)	I	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
<i>Enterobacter aerogenes</i> (cepa 2)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
<i>Enterobacter aerogenes</i> (cepa 3)	R	R	S	I	R	S	S	S	R	R	S	S	R
<i>Citrobacter amalonaticus</i> (cepa 1)	S	I	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S
<i>Citrobacter amalonaticus</i> (cepa 2)	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S
Sensible (%)	75	33,3	100	100	91,6	100	100	100	25	91,6	91,6	15,6	91,66
Intermedio (%)	8,33	41,6	0	16,6	0	0	0	0	50	0	0	8,33	0
Resistente (%)	16,6	25	0	0	8,3	0	0	0	25	8,3	8,3	75	8,33

GE: gentamicina; K: kanamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacino; AN: ácido nalidíxico; SXT: Sulphamethoxazole/Trimethoprim CRO: ceftriaxone; CAZ: ceftazidime; IPM: imipenem; ATM: aztreonam; AZM: azitromicina; AX: amoxicilina; AMC: amoxicilina/clavulánico; CXT: cefotaxima; CT: colistín

En la tabla 5 se muestra el patrón de susceptibilidad y resistencia de las cepas de enterobacterias aisladas, la mayoría presentan gran sensibilidad a los antimicrobianos utilizados. Los aislados obtenidos tienen un 100% de sensibilidad para Tetraciclina, Ciprofloxacina, Sulphamethoxazole/ Trimethoprim, ceftriaxone, ceftazidime y al colistín un 91,66%.

Para la amoxicilina existe un 75% de resistencia, esto se explica porque muchos microorganismos Gram negativos son productores de β -lactamasa y por lo tanto son resistentes a este antibiótico, a diferencia de las bacterias Gram positivas que gran parte de ellas son β -lactamasa negativas, lo que se confirma en las CLSI²⁸.

En Nigeria, en las muestras de vegetales estudiados aislaron *Citrobacter diversus* y *Enterobactercloacae*, con alto porcentaje de resistencia a la ampicilina y amoxicilina³⁶, coincidiendo con el presente estudio donde estos dos géneros de *Enterobacterias* presentan resistencia a la amoxicilina y por ende a la ampicilina, a pesar de no haberse probado éste, puesto que los resultados de uno predicen los resultados del otro antibiótico, según las CLSI²⁸.

La cepa 3 de *Enterobacter aerogenes* marca una multiresistencia, con presencia fenotípica de resistencia a las quinolonas por mutaciones en las topoisomerasa genes *gyrA*, lo cual traduce que en caso de una infección intestinal o extraintestinal no se debe usar como tratamiento las fluoroquinolonas (Ciprofloxacina, Levofloxacina, Moxifloxacina), debido a que el microorganismo posiblemente presenta una mutación en la ADN girasa (gen *gyrA*) y puede hacerse totalmente resistente durante la terapia.

El agua constituye una de las rutas de transmisión de genes de resistencia bacteriana, por lo que es común encontrar aislamientos multidrogoresistentes, que cuando son causantes de sepsis en cualquier parte del organismo son difíciles de tratar, presentándose patologías con cuadros clínicos cada vez más graves²⁶.

En la familia *Aeromonadaceae* existió buena sensibilidad para casi todos los antibióticos enfrentados con las 3 cepas estudiadas, pero al ser una bacteria Gram negativa se comportó de forma similar a las *Enterobacterias* con un 100% de resistencia a la amoxicilina. Demostrado lo anterior en la Tabla 6.

Tabla 6: Patrón de susceptibilidad y resistencia de la familia *Aeromonadaceae* aislada de productos agrícolas de la cuenca del río Guano.

MUESTRA	GN	K	TE	CIP	AN	SXT	CRO	CAZ	IPM	ATM	AZM	AX	CT
<i>Aeromonas</i> <i>spp.</i> (cepa 1)	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S
<i>Aeromonas</i> <i>spp.</i> (cepa 2)	S	I	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S
<i>Aeromonas</i> <i>spp.</i> (cepa 3)	I	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
Sensible (%)	66,6	33,3	100	100	100	100	100	100	0	100	100	0	100
Intermedio %)	33,3	33,3	0	0	0	0	0	0	66,6	0	0	0	0
Resistente %)	0	33,3	0	0	0	0	0	0	33,3	0	0	100	0

GE: gentamicina; K: kanamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacino; AN: ácido nalidíxico; SXT: Sulphamethoxazole/Trimethoprim CRO: ceftriaxone; CAZ: ceftazidime; IPM: imipenem; ATM: aztreonam; AZM: azitromicina; AX: amoxicilina; CT: colistin

El género *Aeromonas* es causa de cuadros clínicos de diarrea acuosa, se encuentra en el intestino del hombre y animales, igual que las *Enterobacterias* y las deposiciones de estos pueden contaminar el agua y los alimentos, produciendo entonces esta sintomatología que está relacionada con la producción de enterotoxinas, las que se han encontrado en personas enfermas. Además se han aislado en infecciones extraintestinales relacionadas frecuentemente con heridas ocurridas por traumas o aquellas que hayan estado en contacto con el agua contaminada, otras como la septicemia que se presenta asociada a pacientes inmunocomprometidos y menos frecuente la otitis, conjuntivitis, peritonitis, colecistitis, endocarditis, meningitis y osteomielitis¹³.

El patrón de sensibilidad y resistencia antimicrobiana del *Enterococcus spp* aislado en esta investigación refleja que el 60% fue sensible para la vancomicina, amoxicilina; penicilina y presentó resistencia a la tetraciclina y ciprofloxacina (Tabla 7).

Tabla 7: Patrón de susceptibilidad y resistencia de *Enterococcus spp.* aislado de productos agrícolas de la cuenca del río Guano.

MUESTRA	TE	CIP	VA	AX	P
<i>Enterococcuspp.</i>	R	R	S	S	S

TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacino; V: vancomicina; AX: amoxicilina; P: penicilina

La única cepa aislada de *Enterococcus* hay que tenerla en cuenta como patógeno importante pues son microorganismos comensales que no fabrican ninguna toxina potente pero presentan adhesinas de superficie que facilitan su unión a las células del tejido colonizado, secretan además enzimas proteolíticas como proteasa y gelatinasa, citolisinas (enzimas extracelulares con actividad hemolítica, capaces evitar la fagocitosis, producir también bactericinas que inhiben a otras bacterias competidoras¹³.

Estos factores de virulencia que presenta le da características de ser agresivo en cuanto a las enfermedades que produce y su mayor trascendencia es que se hace resistente a los antibióticos usados con mayor frecuencia pero a la vez ha adquirido y transfiere genes de resistencia a otras cepas o bacterias capaces de diseminarse ampliamente a nivel hospitalario¹³.

En la bibliografía consultada no se encontraron aislamientos de esta bacteria en alimentos pero se describe su presencia en aguas albañales y en otras como resultado de la contaminación con heces de animales en el agua, la vegetación y en superficies del entorno ambiental, lo que significa que los alimentos puedan contaminarse con éste y de esta forma se coloniza el intestino del hombre y de esta forma por vía endógena es capaz de producir endocarditis, infecciones del aparato urinario, bacteriemia, infecciones de heridas e infecciones nosocomiales, para las cuales existen pocos antibióticos para ser tratadas por la resistencia intrínseca que tiene este microorganismo¹³.

Queda evidenciado que los sembríos que son regados con aguas del río Guano albergan varias especies patógenas que causan daño en el organismo del hombre que puede ser desde una simple diarrea hasta un desequilibrio hidromineral o llegar a complicaciones con fallo multiórgano y la muerte.

CONCLUSIONES

1. Los lugares donde se realizó la investigación representado por Cuatro Esquinas, Cuatro Esquinas Naciente, San Andrés, entrada y salida de Guano, sectores colindantes con la cuenca del río Guano, se encuentran contaminados mayormente por bacterias Gram negativas en relación con las Gram positivas.
2. El 75% de los aislados obtenido de los productos agrícolas provenientes de la cuenca del río Guano, correspondieron con diversos géneros de la familia *Enterobacteriaceae*: *Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*. Seguido de la *Aeromonadaceae* con el 18,75% con 3 cepas de *Aeromonas spp.*, como otro patógeno Gram negativo no perteneciente a las *Enterobacteria*. Como único Gram positivo fue aislado el *Enterococcus spp.* representando el 6,25%, proporción considerada baja pero no quiere decir que sea menos importante, es todo lo contrario, a pesar de no producir cuadros intestinales, sí lo hace con infecciones extraintestinales graves con preferencia en pacientes inmunocomprometidos, sobreañadiendo a esto el reducido espectro de antibióticos a usar en estos casos.
3. Los aislados determinados en este estudio presentaron de forma general buena sensibilidad frente a los antibióticos probados, excepto la Amoxicilina que presentó un 80% de resistencia. El *Enterobacter aerogenes* (cepa 3) presentó multiresistencia a Gentamicina, Kanamicina, Ácido Nalidíxico, Imipenem y Aztreonam, mostrando fenotípicamente resistencia a las cefalosporinas.
4. Para evitar enfermedades digestivas los productos agrícolas deben ser cosechados con agua que no esté contaminada, pero además hay que lavarlos bien tanto los de poca cocción como los que se consumen crudos.

RECOMENDACIONES

1. Divulgar la situación actual de los productos agrícolas cosechados con el agua del río Guano a la población involucrada para que conozcan y tomen precauciones en el momento del uso de las mismas, tanto para la agricultura como para uso doméstico.
2. Promover charlas educativas sobre medidas higiénico-sanitarias para evitar enfermedades individuales, brotes o epidemias que causan gastos económicos personales y a los gobiernos, pero que pueden también, dar al traste con la vida de las personas.
3. Se recomienda socializar la información obtenida de la investigación a las autoridades competentes como el Gobierno, Salud Pública, Medio Ambiente y otros para que sean tomadas las medidas correspondientes para paliar la contaminación de las aguas de los ríos.
4. Se recomienda realizar estudios de medición antimicrobiana a nivel molecular, para buscar mecanismos de resistencia en las bacterias patógenas aisladas en productos agrícolas obtenidos de las inmediaciones del río Guano.
5. Fomentar la educación del medio ambiente desde edades tempranas para disminuir el riesgo de Enfermedades Infecciosas adquiridas a través del agua y los alimentos.
6. Educar a la población para que no se automedique con antibióticos, evitando así que aparezcan cepas multiresistentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agua para todos, agua para la vida. Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo. 2003 www.unesco.org/water/wwap
2. Matthews KR. Los microorganismos asociados a las frutas y a las verduras. En: Microbiología de frutas y verduras. Zaragoza: Ed. Acribia, S.A; 2008.
3. Escobar J, La contaminación de los ríos y sus efectos. Cepal Naciones Unidas. Santiago de Chile: Eclac Serie; 2002, pág 13 – 16. Disponible en <https://archivo.cepal.org/pdfs/Waterguide>
4. CEPAL. Impotancia del agua de los rios. [Online].; 2012. Acceso 16 de Mayo de 2019. Disponible en: <https://aplicaciones.senagua.gob.ec/servicios/descargas/archivos/download/Diagnostico%20de%20las%20Estadisticas%20del%20Agua%20Producto%20IIIc%202012-2.pdf>
5. Ambiente & Agua -Una Revista Interdisciplinaria de Ciencias Aplicadas. Revista de investigación Médica. [Internet]. 2012 [citado 12 de febrero de 2018]; 7: 236. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/ambiagua/v7n1/v7n1a18.pdf>
6. Villa O, Calidad de agua y suelos agrícolas. Artículo Revista Idesia (Arica). 2016: 38. Disponible en <https://docplayer.es/79865911-Calidad-del-agua-para-riego-y-suelos-agricolas-en-tuxcacuesco-jalisco.html>
7. Valdovinos E, Calidad de agua para riego y suelos agrícolas. Artículo Revista Idesia (África). 2016: 34. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2071-00542011000300003
8. Gaibor C, Caracterización de la calidad hídrica de la Microcuenca del Rio Guano. Informe Epoch, Riobamba. 2015; Disponible en: <http://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/4061>.
9. OMS Salud. Escherichiacoli. Boletín OMS. 2019; Volumen 1: 3 Disponible en https://www.who.int/topics/Escherichia_Coli_infections.
10. Ayers R, Calidad del agua en la agricultura. Editor. Ud, Fao Guadalajara. México: Libro Guadalajara Ud, Fao; 2014. Disponible en <https://scielo.conicyt.cl/pdf/idesia/2016nahead/aop3516>.
11. Caicedo L. y Marcillo K. Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del Río Chibunga, Riobamba: UNACH; mayo-julio 2018; disponible en <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/5098/1/UNACH-EC-FCS-LAB-CLIN-2018-0007.pdf>

12. Molina J, Orozco P. Detección de resistencia antimicrobiana en bacterias de interés clínico aisladas en el Río Chambo. UNACH. Riobamba; 2019.
13. Murray P, Ken R, Michael P. Microbiología Médica. 7ma edición. España, Elsevier 2014. p 258-260.
14. Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021-Toda una Vida [Internet]. Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo - Senplades 2017 p. 53-4. Disponible en: www.planificacion.gob.ec
15. Universo, Agua de riego en Ecuador – Plan de riego. Latacunga: Artículo Periódico Ecuador, 12 de abril de 2019. Disponible en: <https://www.eluniverso.com/noticias/2019/04/12/nota/7281161/gobierno-actualiza-plan-riego-hasta-2027>
16. Corrales L, Microorganismos potencialmente fitopatogenos en aguas de riego. Artículo de revista Nova 2017; 25-30. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v16n29/1794-2470-nova-16-29-00071.pdf>
17. Cevallos C, Caracterización de la calidad hídrica de la Microcuenca del río Guano. DSpaceSpoch. UDCTFC;236T0123. 2015; Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/4061>
18. Kuczynski, D. La presencia patógena en ríos y arroyos: significado sanitario y ecológico. ed Anales de la Sociedad Científica. Argentina: 2012. Disponible en: https://archive.org/stream/analesdelasocied2482soci_djvu
19. Saavedra M. Verduras regadas con agua de rio. Equipo Página Siete. 2017; Volumen 5: 7. Disponible en: <https://www.paginasiete.bo/especial01/2017/10/19/verdura-regada>
20. Stine S, Song I, Choi C, y Gerba C. Aplicación de la evaluación de riegos microbianos al desarrollo de estándares para patógenos entéricos en el agua utilizada para irrigar productos frescos. España: ed J. FoodProt, 2005. Disponible en: https://www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Normativa/GuiasTecnicas/Ficheros/g_AQ.pdf
21. Silvia E. Diagnóstico de investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por los alimentos. 2nd ed. Salud OPdl, editor. Libro Washington: Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos; 2016. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf>.
22. Bou G, Olmos A, García C, Sáez J, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. [Internet]. 2011 [citado 10 febrero de 2018]; 29(8). Disponible en: DOI: 10.1016/j.eimc.2011.0

23. Sherris. Microbiología Medica, 5ta edición, Mc Graw Hill. 2010. p 441-470. Disponible en: <https://www.elsotano.com> › libro › sherris-microbiologia-medica-5-ed_10. Kenneth J, Ryan, Ray G. Microbiología Médica. quinta edición; 2011. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com> › book
24. Koneman E W. Diagnostico Microbiológico. Introducción a la Microbiología. Edición Médica Panamericana. Washington DC: 2012.
25. Sharma, P. Microbiology. Meerut, IND: Rastogi Publications. 2007; ISBN: 9789350437872: 34.
26. Alós, J. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Getafe, ed Getafe. Madrid, España. Editorial Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Europea de Madrid, Villaviciosa de Odón; Vol. 33. Núm. 10. p. 639-702. 2015.
27. Núñez L, Tornello C, Moretton J. Bacterias resistentes a antibióticos en aguas grises como agentes de riesgo sanitario.
28. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Documento M100. CLSI 2019. 29th Edition.
29. Miquel, P., Cambert, R. Traité de bacteriologie pure et appliqué. Ed. Masson et Cia, Paris. (1901)
30. De la Rosa, MC, Mosso, MA, Ullán, C. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. Observatorio Medioambiental ISSN: 1139-1987 Vol. 5 (2002): 375-402 <http://www.divulgameteo.es/uploads/aire-microorganismos.pdf>
31. Bush L. Shigelosis. 5th ed. medicine Co, editor. Florida: Libro Manual MSD Profesional Español; 2019.
32. Solís del Baño S. MTPP. Aislamiento e identificación de *Plesiomonas shigelloides*. Artículo de revista Elsevier. 2015; 4(9) Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-aislamiento-e-identificacion-flexiomona-shigelosis-13054559>.
33. Madigan, M., Martinko, J., y Parker, J. Biología de los Microorganismos. New Jersey. Estados Unidos: edd Pearson Prentice Hall; 2009. Disponible en: <https://www.udla.edu.ec> › laboratorios › wp-content › uploads › 2016/06.
34. Rodríguez M, Zapata M, Solano M, Lozano D, Torrico F, Torrico M. Evaluación de la contaminación microbiológica de la lechuga (*lactuca sativa*) en la cadena alimentaria, provincia de Quillacollo, Cochabamba, Bolivia 2015. Rev. Scielo [Internet]. 2015

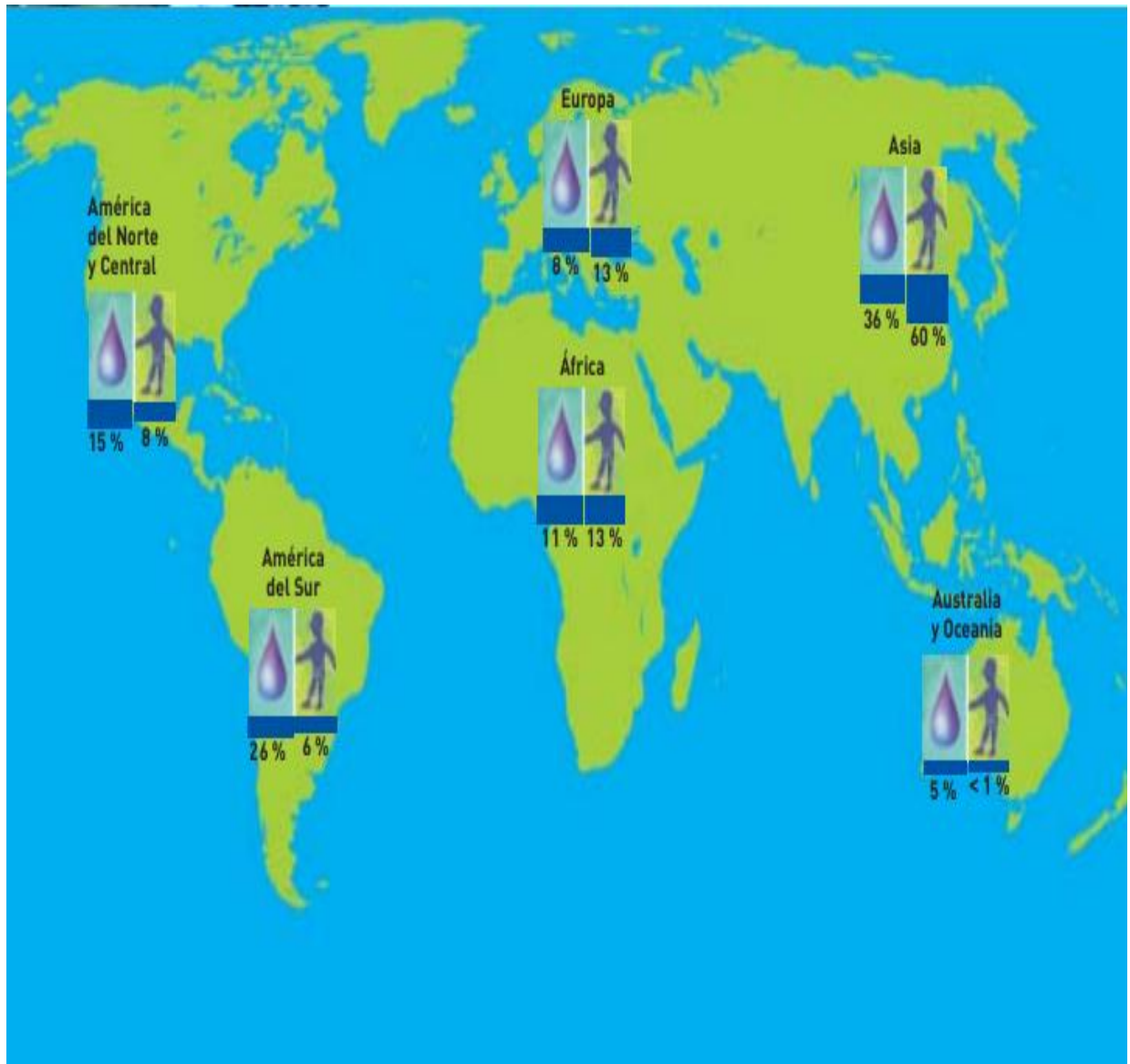
[consulta el 25 de junio de 2019] 38(2): Disponible en:
http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662015000200006

35. Corrales L, Microorganismos potencialmente fitopatogenos en aguas de riego. Artículo de revista Nova 2017; 25-30. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v16n29/1794-2470-nova-16-29-00071.pdf>
36. Akinde S, Sunday A, Adeyemi F, Fakayode I, Oluwajde O, Adebunmi A, Oloke J, Adebooye C. Microbes in Irrigation Water and Fresh Vegetables: Potential Pathogenic Bacteria Assessment and Implications for Food Safety. ABSA International [Internet]. 2016 [citado 24 de agosto de 2019]; 21(2):94 Disponible en:
<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1535676016652231>

Anexos

ANEXO 1

Figura 1. Relación entre la disponibilidad de agua y la población



Fuente: Sitio web de UNESCO-PHI (Oficina Regional de Ciencias para América Latina y el Caribe).

ANEXO 2

BACTERIAS QUE PRODUCEN CON FRECUENCIA INFECCIONES GASTROENTÉRICAS.

Familia	Género y especie
Enterobacteriaceae	<i>E. coli</i> : enteropatógena, enterotoxigénica, enterohemorrágica, enteroinvasiva, con adherencia difusa y enteroagregativa <i>Salmonella</i> : typhi, paratyphi <i>Shigella</i> : dysenteriae, flexneri, boydii, sonnei, <i>Plesiomonas shigelloides</i> .
Aeromonadaceae	<i>Aeromonas</i> .
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i> : aeruginosa, fluorescens, putida, stutzeri, mendocina.
Bacillaceae	<i>Bacillus</i> , <i>B. anthracis</i>
Estafilococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>
Estreptococcaceae	<i>Enterococcus</i>

Fuente: Murray P, Ken R, Michael P. Microbiología Médica. 7ma edición. España, Elsevier 2014. p 258-260.

ANEXO 3

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: _____

Nombre del estudiante: Mishell del Rosario Cazares Silva

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

ANEXO 4

PREPARACIÓN Y SEMBRADO DE LAS MUESTRAS.

- A) Preparación de las placas de agar sangre y McConkey B) Sembrado de las muestras.
C) Muestras en el autoclave.



A



B



C

Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 5

PUNTOS Y TOMA DE MUESTRA

- A) Toma de muestra en habas. B) Toma de muestra en papas. C) Toma de muestra en maíz. D) Toma de muestra en papas. E) Toma de muestra en tomate de carne.



A



B



C



D



E

Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 6

MUESTRAS DE VEGETALES

Productos agrícolas recolectados



Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 7

PROCESAMIENTO DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS.

A) Esterilización de los frascos de vidrio. **B)** Lavado de los productos agrícolas. **C)** Colocación de los vegetales en medios de enriquecimiento agua peptonada.



A



B



C

Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 8

PREPARACIÓN DE MATERIAL

A) Agua peptonada. B) Preparación del agua peptonada en tubos para autoclavar.



A



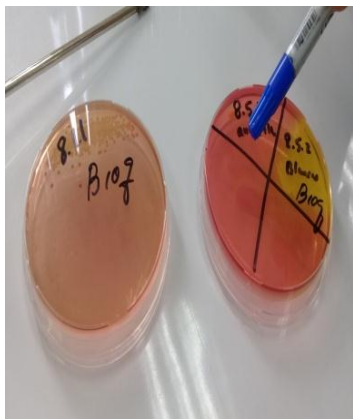
B

Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 9

LECTURA DE LAS PLACAS PETRI SEMBRADAS

Lectura de placas.

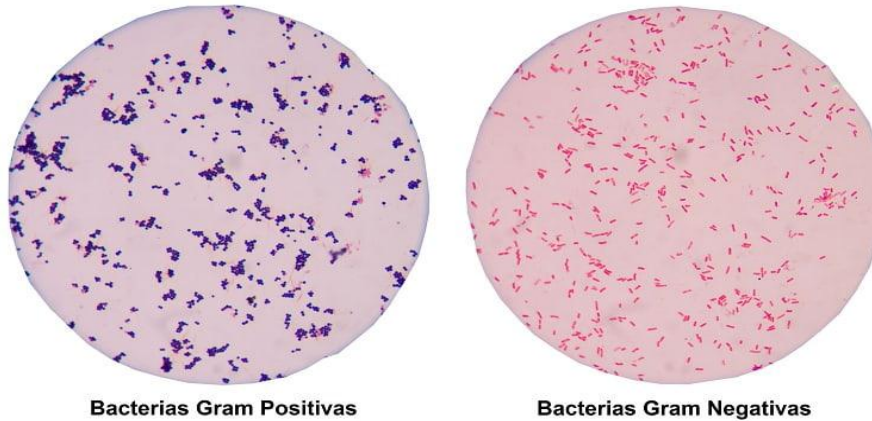


Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 10

LECTURA DE LAS PLACAS DE GRAM

A) Observación al microscopio de placas de Gram.



A

Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 11

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Codificación de los tubos y Siembra de las cajas a cada uno de los tubos.



Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.

ANEXO 12

REALIZACIÓN DE ANTIBIOGRAMAS

Realización de antibiograma según corresponda a cada una de las cepas.



Fuente: Cazares M. Bacterias patógenas para el hombre aisladas en productos agrícolas provenientes de la cuenca del Rio Guano.