



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 Licenciado en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico.

TRABAJO DE TITULACIÓN

Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga.

Autor: Edwin Dario Chicaiza Guanoluiza

Tutora: MsC. Yisela Carolina Ramos Campi

Riobamba – Ecuador

Año 2019

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación titulado: Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga, presentado por Edwin Dario Chicaiza Guanoluiza, dirigido por la MsC. Yisela Ramos Campi, 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 convalidado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

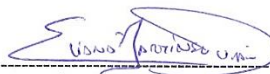
MsC. Mercedes Balladares.



FIRMA

Presidenta del tribunal

MsC. Eliana Martínez Durán.



FIRMA

Miembro del tribunal

Ing. Félix Falconi Ontaneda.

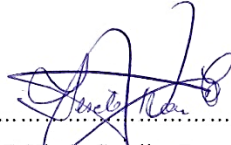


FIRMA

Miembro del tribunal

DECLARACION EXPRESA DE AUTORÍA

Yo, MSc Yisela Carolina Ramos Campi docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de tutora del proyecto de investigación con el tema “Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga”, propuesto por el Sr. Edwin Dario Chicaiza Guanoluiza egresado 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 apto para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar honor a la verdad facultando al interesado en hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



.....
MsC. Yisela Carolina Ramos Campi
Docente de la carrera de Laboratorio
Clínico e Histopatológico

AUTORIA DE LA INVESTIGACION

La responsabilidad del contenido de graduación, nos corresponde exclusivamente a Edwin Dario Chicaiza Guanoluiza y a Yisela Carolina Ramos Campi. El patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.



Edwin Dario Chicaiza Guanoluiza

180553108-2

AGRADECIMIENTO

Al finalizar una etapa muy importante en mi vida agradezco a Dios, quien con su bendición me guía por el camino del bien y así cumplir mis sueños. A mis padres que son el pilar fundamental para mi vida.

De igual manera mis agradecimientos a la prestigiosa Universidad Nacional de Chimborazo quien me abrió las puertas para forjarme como un gran profesional

Finalmente agradezco de manera muy especial a mi tutora MsC. Yisela Ramos y a la Dra. María del Carmen Cordovéz que fueron el eje fundamental de este proyecto

Edwin Chicaiza

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado a Dios por estar presente cada instante de mi vida cuidándome, dándome fortaleza y sabiduría para alcanzar todos mis propósitos. A mi madre Carmen Guanoluiza y padre José Chicaiza que con su amor, cariño y paciencia estimularon mi crecimiento espiritual, moral ya que supieron compartir junto a mí momentos de felicidad y trabajo. Para mí se convirtieron en la motivación fundamental para culminar mis estudios y todo lo que me propongo en la vida.

A mi abuelita que ahora es un angelito más en el cielo y finalmente a mi compañera de vida María Guadalupe Guamán Chabla por brindarme desinteresadamente su amor, perseverancia y apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

Edwin Chicaiza

ÍNDICE GENERAL

| | |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| RESUMEN | IX |
| INTRODUCCIÓN | 11 |
| OBJETIVOS | 15 |
| Objetivo general | 15 |
| Objetivos específicos | 15 |
| CAPÍTULO I ESTADO DEL ARTE | 16 |
| Río Chibunga | 16 |
| Cuenca hidrográfica | 16 |
| Agricultura | 16 |
| Productos agrícolas | 17 |
| Bacterias patógenas en productos agrícolas | 17 |
| Enterobacterias | 17 |
| Cocos Gram positivos | 22 |
| Resistencia antimicrobiana | 22 |
| Mecanismos de acción de los antibióticos | 23 |
| Tipos de resistencia antimicrobiana | 26 |
| Mecanismos de resistencia | 26 |
| CAPITULO II METODOLOGÍA | 28 |
| Tipo de investigación | 28 |
| Determinación de población y muestra | 28 |
| Técnicas e instrumentos de recolección de datos | 29 |
| Procedimiento | 29 |
| Identificación del área de estudio y toma de las muestras | 29 |
| Toma de muestra | 29 |
| Aislamiento de bacterias patógenas presentes en el producto agrícola | 30 |
| Técnica de aislamiento de colonias | 30 |
| Técnica de Gram | 31 |
| Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana | 31 |
| Medición de resistencia antibiótica en bacterias patógenas | 32 |
| Procesamiento estadístico | 32 |
| CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 33 |
| CONCLUSIONES | 41 |

| | |
|------------------------------|----|
| RECOMENDACIONES | 42 |
| BIBLIOGRAFIA | 43 |
| ANEXOS | 50 |

ÍNDICE DE IMÁGENES

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Imagen 1: Resistencia a tetraciclina (TE) en <i>E. cloacae</i> | 38 |
| Imagen 2: Resistencia a cefoxitina (FOX) en <i>C. diversus</i> | 39 |
| Imagen 3: Resistencia a cefoxitina (FOX) , amoxicilina (AX) y amoxicilina/clavulánico (AMC) respectivamente en : <i>K. pneumoniae</i> | 39 |
| Imagen 4: Resistencia a gentamicina (CN) en: <i>E. faecalis</i> | 40 |
| Imagen 5: Resistencia a vancomicina (VA) en: <i>E. faecalis</i> | 40 |
| Imagen 6: Comunidad Santa Martha..... | 51 |
| Imagen 7: Comunidad Sobol-Llinllin..... | 51 |
| Imagen 8: Parque Lineal Chibunga | 51 |
| Imagen 9: Comunidad San Luis | 51 |
| Imagen 10: Pre-erequecimiento..... | 51 |
| Imagen 11: Siembra de las cepas..... | 51 |
| Imagen 12: Siembra en batería bioquímica de enterobacterias. | 51 |
| Imagen 13: Lectura de batería bioquímica. | 51 |
| Imagen 14: Bilis esculina positiva por el color negro. | 51 |
| Imagen 15: Antibiograma. | 51 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1: Enterobacterias de interés clínico..... | 19 |
| Tabla 2: Clasificación de Shigella..... | 20 |
| Tabla 3: Obtención de los productos agrícolas en los distintos puntos de muestreo con su altitud..... | 29 |
| Tabla 4: Datos de la temperatura del ambiente de los lugares aledaños del río Chibunga, de acuerdo a cada estación de muestreo y el producto agrícola obtenido..... | 33 |
| Tabla 5: Representaciones en porcentaje de bacterias Gram positivas y negativas..... | 34 |
| Tabla 6: Bacterias patógenas encontradas en productos agrícolas con regadío del río Chibunga..... | 35 |
| Tabla 7: Distribución de bacterias de interés clínico de acuerdo al punto geográfico establecido para la toma de muestra..... | 36 |
| Tabla 8: Patrón de sensibilidad y resistencia bacteriana pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae de acuerdo a la guía internacional CLSI..... | 38 |
| Tabla 9: Patrón de sensibilidad y resistencia de bacteriana pertenecientes a la especie Enterococcus de acuerdo a la guía internacional CLSI..... | 40 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Revisión de la contaminación y las enfermedades causadas por enterobacteria. | 18 |
| Figura 2: Acción de los antimicrobianos sobre la síntesis de proteínas. | 24 |
| Figura 3: Modo de acción de los principales agentes quimioterapéuticos antimicrobianos. | 25 |
| Figura 4: Localización de estaciones de muestreo de productos agrícolas con riego río Chibunga..... | 52 |

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana se ha convertido en un obstáculo mundial emergente, proclamándose así uno de los más graves en la actualidad. La alteración mutagénica y evolución intrínseca de las bacterias ha provocado multiresistencia a diversos antibióticos. El presente estudio pretende determinar la presencia de bacterias patógenas en productos agrícolas con regadío del río Chibunga. Se aisló e identificó bacterias patógenas al humano, causantes de infecciones gastrointestinales. Es un estudio descriptivo, cohorte transversal con un diseño de campo. Se empezó con la recolección de muestras en seis puntos geográficos de muestreo, incluyendo la medición de la altitud y temperatura ambiente. En el aislamiento y purificación de colonias, se utilizó agar McConkey y Sangre para la identificación de las bacterias clasificadas en género y especie, se empleó pruebas químicas y fisiológicas. Se midió la resistencia y susceptibilidad bacteriana mediante la técnica de difusión en agar, Kirby Bauer. Los resultados adquiridos presentan 8 bacterias patógenas, que corresponde a 7 Gram negativas; tales como: *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Plesiomona shigelloides*, *Morganella morgani*, *Aereomona sobria* y exclusivamente 1 Gram positiva: *Enterococcus faecalis*. Un 25% de las bacterias aisladas mostraron resistencia frente a cefalosporinas y otro 25% del total de microorganismos encontrados presentaron resistencia a betalactamasas y glucopéptidos. Evidenciando la contaminación que existe en el río Chibunga, con bacterias multirresistentes a diversas líneas de antibióticos de uso clínico.

Palabras claves: Productos agrícolas, río Chibunga, bacterias patógenas, resistencia antimicrobiana.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance has become an emerging global obstacle, thus proclaiming one of the most serious today. The mutagenic alteration and natural evolution of the bacteria have caused multi-resistance to various antibiotics. The present study aims to determine the presence of pathogenic bacteria in agricultural products irrigated by the Chibunga River. Human pathogenic bacteria, causing gastrointestinal infections, were isolated and identified. It is a descriptive, cross-sectional cohort study with a field design. Sample collection began at six geographical sampling points, including the measurement of altitude and ambient temperature. In the isolation and purification of colonies, McConkey and Blood agar were used for the identification of bacteria classified in genus and species, chemical and physiological tests were used. Bacterial resistance and susceptibility were measured by the agar diffusion technique, Kirby Bauer. The acquired results show eight pathogenic bacteria, which corresponds to 7 Gram-negative; such as *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Plesiomona shigelloides*, *Morganella morganni*, *Aeromonas sobria* and exclusively 1 Gram-positive: *Enterococcus faecalis*. 25% of the isolated bacteria showed resistance against cephalosporins, and another 25% of the total microorganisms found showed resistance to beta-lactamase and glycopeptides. Evidence of the contamination that exists in the Chibunga River, with multiresistant bacteria to various antibiotic lines for clinical use.

Keywords: Agricultural products, Chibunga River, pathogenic bacteria, antimicrobial resistance.


Reviewed by: López, Ligia
LINGUISTIC COMPETENCES TEACHER



INTRODUCCIÓN

El ser humano desde hace tiempos remotos se ha relacionado con las aguas continentales ya que constituye un recurso inapreciable como fuente primaria¹. Se usa generalmente para beberla, higiene personal y otras necesidades como la pesca o la utilización para regadíos en cultivos¹.

El consumo de productos agrícolas frescos es de suma importancia en el diario vivir del ser humano². Desde el punto de vista microbiológico son alimentos que en comparación con las carnes y los productos lácteos son de menor riesgo, pero al ser consumidos crudos o mal cocinados son muy peligrosos si existe contaminación².

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en los últimos años se estima que a nivel mundial 1 de cada 10 personas se enferman por consumir alimentos contaminados, es decir 600 millones de personas donde 420,000 personas mueren por esta causa, los niños menores de 5 años son los que soportan una carga atribuible a las enfermedades alimentarias que se estima en un 40%, la cual provoca cada año 125,000 muertes a esta edad³.

Las enfermedades de origen alimentario son generalmente de carácter infeccioso o tóxico, causadas por microorganismos o a su vez sustancias químicas que ingresan al organismo a través de vegetales, hortalizas y agua contaminada³.

Las bacterias de importancia clínica en el laboratorio son las siguientes especies: *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* y otros géneros como: *Proteus*, *Salmonella entérica*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*¹⁹.

En el 2017 se dio a conocer un proyecto para disminuir la aparición de bacterias de fuerte resistencia por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), las mismas que son patógenas en la salud y restringir su transmisión en los sectores agrícolas en diferentes países siendo estos: Ecuador, Bolivia, Cuba, República Dominicana, El Salvador y Honduras⁴

En Ecuador según el diario Universo⁵, en la provincia de Pichincha las enfermedades ocasionadas por alimentos y agua contaminada; tuvo más afectados (3,034 casos) de un total nacional de 11,921. El rango de edad de las personas que enfermaron se encuentra entre 29 y 49 años entre hombre y mujeres⁵.

En el cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo el diario El Telégrafo⁶ da a conocer que estudiantes de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), en el año 2017 recolectaron muestras del río Chibunga, encontrando que al iniciar el caudal las aguas eran cristalinas, pero al llegar a las comunidades se tornaban de color oscuro debido a la alta contaminación de metales pesados, industrias lácteas, desperdicios, sustancias químicas y entre otros desechos.

Por otra parte, el diario El Comercio⁷ expresa que existe una investigación en la cual las aguas del río Chibunga están altamente contaminadas por desechos químicos y elementos orgánicos.

La posible causa de contaminación de los vegetales es la mala práctica de producción, como el empleo de aguas residuales para regadíos, así también el consumo de los alimentos sin su debida cocción lo que causa en mayor cantidad Enfermedades de Transmisión Alimenticia (ETA)⁷.

Los vegetales son indispensables en la nutrición, pero debido a que no se tiene la debida precaución al consumirlos son vías de contaminación de microorganismos⁷.

El uso de agua contaminada se encuentra vinculada con enfermedades de alimentacion⁸. La (OMS), expone que el servicio de agua y la pulcritud de la misma son inexistentes lo cual causa un problema en la salud⁸. Además, la dirección inadecuada de las aguas residuales⁸. Existen 842,000 personas que mueren cada año de disentería como consecuencia de la contaminación del agua, de un saneamiento insuficiente o de una mala higiene de las manos⁸.

El río Chibunga situado en el cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo, de acuerdo a varias investigaciones realizadas presenta una alta contaminación por productos químicos, metales pesados, compuestos orgánicos como heces de animales y humanos. Los

mismos que son provenientes de empresas textiles, industriales, ganaderas y las personas que habitan en los alrededores^{6,7}.

La producción de vegetales con aguas residuales posee un alto riesgo de transmisión de bacterias que afectan al hombre. En una investigación realizada en las aguas de regadío del río Chibunga por Mur L. y Marcillo K. aislaron bacterias de interés clínico, con resistencia antimicrobiana a algunos antibióticos⁹.

Sin embargo, no existe investigaciones relacionadas a la presencia de resistencia bacteriana que se encuentren en los productos agrícolas con regadío, ubicados a la cuenca del río Chibunga, por lo que es de suma importancia realizar este estudio con el fin de disminuir las infecciones alimentarias en la población. Además, ayuda a resolver varios problemas como el cuidado con la administración de los alimentos con microorganismos patógenos.

La aportación científica es importante para la comunidad académica e investigativa, debido a que el estudio permite la identificación de microorganismos patógenos, para luego informar a las autoridades competentes y a la comunidad implicada logrando así concientizar a la población para que se tomen las medidas respectivas y mitigar las infecciones. Además, beneficia al pueblo agrícola para buscar diferentes formas de mejorar la calidad de los productos vegetales sin la necesidad de poner en riesgo su salud.

El presente trabajo investigativo pretende aislar bacterias de interés clínico que se pueden encontrar en los productos agrícolas de la cuenca del río Chibunga, además medir la sensibilidad y resistencia antibiótica de dichos microorganismos.

El presente estudio se compone de 3 capítulos: estado del arte, metodología de la investigación y para finalizar se encuentra resultados y discusión,

En el primer capítulo se presenta toda la información acerca del río Chibunga, partiendo desde donde nace, sus comunidades aledañas, productos agrícolas que se cultivan, además las bacterias patógenas que posiblemente se encuentren en los vegetales y sus mecanismos de resistencia.

En el segundo capítulo se expone los métodos y las técnicas que se emplearon en la investigación para así alcanzar con los objetivos planteados.

En el tercer capítulo se detalla todos los resultados obtenidos durante el proceso investigativo así se tiene las bacterias que se aislaron y la resistencia a los distintos antibióticos. Para luego discutir con las versiones de otros autores.

OBJETIVOS

Objetivo general

Aislar bacterias de interés clínico en productos agrícolas provenientes de la cuenca del río Chibunga.

Objetivos específicos

1. Obtener productos agrícolas en diferentes puntos geográficos para la identificación de bacterias patógenas.
2. Identificar las bacterias de interés clínico de las muestras agrícolas obtenidas utilizando medios de cultivo para su aislamiento.
3. Medir la resistencia antimicrobiana de las bacterias de interés clínico mediante el método de difusión en agar Kirby-Bauer.

CAPÍTULO I

ESTADO DEL ARTE

Río Chibunga

El río Chibunga nace de los deshielos producidos en la parte sur del nevado Chimborazo con el nombre de Q. Yurimachay¹⁰. Extiende su trayectoria pasando por el noroeste del cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo¹⁰. Además, existen varias afluentes del río Chibunga en los que se pueden nombrar: el río Chimborazo y el río Sicalpa juntándose en la parte superior de Calpi, luego de pasar por Riobamba se une al río Chambo y al río Patate para luego formar el río Pastaza¹⁰.

Más de 25 comunidades se encuentran contiguas a la ciudad de Riobamba por donde desciende el río, desde los páramos hasta llegar a sectores de productos agrícolas de diferentes parroquias como: San Juan, Las Caleras, Shobol, Gatazo, y San Luis¹¹.

Cuenca hidrográfica

Se define así al espacio de tierra existente por donde existe la presencia de ríos, riachuelos, humedades, laguna y donde se almacenan aguas subterráneas. Esta se delimita por el divisorio de aguas, las cuales se les conoce como áreas de drenaje¹². Aquí se desarrollan diferentes actividades del ser humano en las que se puede nombrar la agricultura, ganadería, o industrial¹².

Agricultura

Se define como la obtención, elaboración, el mercadeo de cultivos y productos de ganado. Hoy en día es un concepto actualizado debido a que tiempo atrás se relacionaba exclusivamente a cultivos vegetales¹³. Con un 25% la población económicamente activa subsiste de la agricultura donde se conoce que aproximadamente 1,6 millones de personas trabajan en este sector¹³. De acuerdo con el reporte de productividad agrícola del Ecuador señala que la agricultura aporta un 8.5% promedio al Producto Interno Bruto (PIB)¹³.

La evolución del sistema agropecuario en la provincia de Chimborazo, presenta el mismo objetivo de América Latina; en el sentido de poder saltar a un sector desarrollado que garantice la soberanía alimentaria con productos sanos, con mayor presencia en el PIB y un alto valor agregado que posibilite también mayor presencia en las exportaciones¹⁴.

Productos agrícolas

Las variaciones del clima en la provincia de Chimborazo junto con la riqueza de los suelos, permite que en los sectores aledaños al río Chibunga se cultiven productos como: papa, tomate riñón, fréjol, arveja, cebolla blanca, lechuga, col, col morada, cebolla colorada, coliflor, cilantro, fresas y acelga¹⁴. Lo cual para la producción de dichos productos se necesita la disponibilidad de agua de riego¹⁴.

Bacterias patógenas en productos agrícolas

Las bacterias son seres vivos que habitan en los animales, incluido el ser humano. Una parte de toda la población bacteriana causan enfermedades¹⁵. Sin embargo, la mayoría de ellas son de utilidad para la digestión, destrucción de células malignas y además cumplen con otras funciones en las que se tienen la producción de vitaminas¹⁵.

Tortora et al¹⁶, menciona que las bacterias infecciosas o llamadas también patógenas para el hombre son la causa de muchas enfermedades, en su mayoría producen problemas digestivos. Existe un grupo llamado coliformes los cuales pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, donde se presentan varios serotipos causantes de diarreas agudas¹⁶. Además, se encuentra un grupo que llega a ser diferente pero importante en cualquier tipo de investigación: es el género *Vibrio*¹⁶.

Enterobacterias

De acuerdo con Murray et al¹⁷, da a conocer que la familia Enterobacteriaceae es el grupo más grande que se encuentra en la microbiología, además son heterogéneos la característica principal es que son bacilos Gram negativos que en la parte clínica son de gran importancia. Esta descrito que existe 50 géneros así también cientos de especies junto con subespecies¹⁷.

La Familia Enterobacteriaceae se compone de una variedad de microorganismos ubicuos, que de manera universal se encuentran en el suelo, el agua y la vegetación¹⁷. Además, son componentes de la flora normal de muchos animales en los cuales se encuentra el ser humano¹⁷.

Un tercio del total de las bacterias causan enfermedades al hombre; donde el 70 % de las mismas producen problemas en el tracto urinario e infecciones intestinales¹⁷. Existen microorganismos que causan afecciones directamente al ser humano así se tiene: *Salmonella* del serotipo typhi, *Shigella* y finalmente *Yersinia*¹⁷.

Otro grupo de enterobacterias son microorganismos comensales, pero se pueden volver patógenas cuando existe un cambio al adquirir genes de virulencia que están presentes en islas de patogenicidad, bacteriófagos y plásmidos¹⁷.

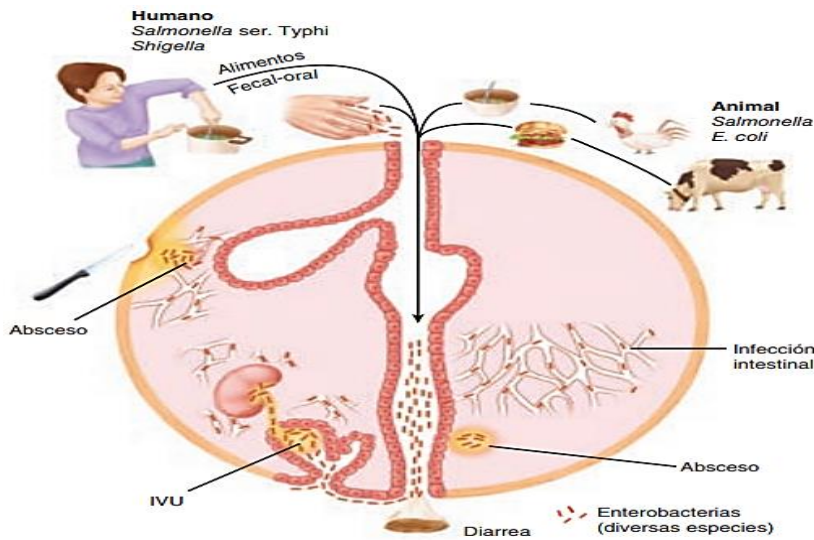


Figura 1: Revisión de la contaminación y las enfermedades causadas por enterobacteria. La mayoría de contaminación proviene de fuentes externas de origen animal, pero otros patógenos son de origen humano.

Fuente: Kenneth JR, Ray CG. Sherrys Microbiología Medica. 5th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011. Pag, 443.

Las enterobacterias de importancia clínica en el laboratorio se muestran en la siguiente tabla donde se da a conocer su género y especie¹⁸.

Tabla 1: Enterobacterias de interés clínico

| Género | Especies |
|---------------------|------------------------------------------------------------------|
| <i>Citrobacter</i> | <i>amalonaticus</i> y <i>diversus</i> |
| <i>Enterobacter</i> | <i>aerogenes</i> y <i>cloacae</i> |
| <i>Escherichia</i> | <i>Coli</i> |
| <i>Klebsiella</i> | <i>pneumoniae</i> y <i>oxytoca</i> |
| <i>Morganella</i> | <i>Morganii</i> |
| <i>Proteus</i> | <i>Mirabilis</i> |
| <i>Sallmonella</i> | <i>Entérica</i> |
| <i>Serratia</i> | <i>Marcescens</i> |
| <i>Shigella</i> | <i>sonnei</i> y <i>flexneri</i> |
| <i>Yersinia</i> | <i>pestis</i> , <i>eterocolitica</i> y <i>pseudotuberculosis</i> |

Fuente: Modificado de Murray et al., Microbiología médica 8va edición, pág. 253

Citrobacter: estas bacterias pueden producir citrato y se diferencian de las salmonellas porque no descarbonizan lisina¹⁹. Fermentan lactosa con gran lentitud en el peor de los casos esto de acuerdo con Brooks et al¹⁹.

Sherris et al²⁰ dice que el género *Citrobacter* comúnmente no es el causante de patogenicidad, debido a que forma parte de la flora intestinal normal, pero puede causar enfermedades oportunistas²⁰. Aun con descripciones de enfermedades diarreicas no es considerado como un microorganismo patógeno entérico²⁰. Sin embargo, dentro del género existe especies que están relacionadas con absceso cerebral y meningitis neonatal²⁰.

Enterobacter: las bacterias de este tipo de género son fermentadoras de lactosa con gran rapidez, además presentan colonias que se asemejan al género *Klebsiella*, pero se diferencia porque no tienen el aspecto mucoso por otra parte, es la motilidad que solo el género *Enterobacter* presenta gracias a sus flagelos peritricos²⁰.

Escherichia coli: la mayoría de las cepas de *E. coli* suelen producir positividad a diferentes pruebas bioquímicas como: indol, lisina descarboxilasa, fermentación de manitol y producción de gas¹⁹. Este tipo de bacterias están relacionadas múltiples enfermedades en las que se encuentran problemas gastrointestinales que afectan a nivel mundial ¹⁹.

Klebsiella: las características más representativas del género *Klebsiella* es la presencia de una cápsula con un aspecto mucoso en las colonias aisladas, además la mayor cantidad de virulencia que presenta in vivo¹⁷. Se ha definido más de 70 tipos capsulares lo que causa reacciones cruzadas con otros microorganismos encapsulados como: *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*²⁰.

Salmonella: diferentes estudios de homología del ácido desoxirribonucleico (ADN), han demostrado que este género está formado por dos especies: *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*¹⁷. El género *Salmonella* puede colonizar a casi todos los animales; incluyendo aves, reptiles, ganado, roedores, animales domésticos y el ser humano¹⁷. Las bacterias de este género están compuestas por varios tipos de pilosidades lo cual es similar desde los puntos de vista morfológico y funcional a las pilosidades de *E. coli*²⁰.

Shigella: se conoce que existe 4 especies de este género conformadas por 45 serogrupo que están basados en los antígenos O así se tiene: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* y *Shigella sonnei*¹⁷. Este tipo de bacterias tienen estrecha relación con *E. coli* sin embargo no son productoras de gas cuando fermentan la glucosa y además no son fermentadoras de lactosa²⁰.

Tabla 2: Clasificación de *Shigella*.

| Especie | Grupo y tipo |
|--------------------------|---------------------|
| <i>S. dysenteriae</i> | A |
| <i>Shigella flexneri</i> | B |
| <i>Shigella boydii</i> | C |
| <i>Shigella sonnei</i> | D |

Fuente: Modificado de Brooks et al Microbiología Medica. 25th ed, pag. 220

Serratia: las cepas de *Serratia* fermentan lactosa de manera tardía el promedio es de 3 a 4 días²⁰. Algunas producen colonias características de color rojo ladrillo²⁰. Aunque menos

común, este género produce la misma variedad de infecciones oportunistas que se observan con el resto de las enterobacterias²⁰.

Yersinia: este género está formado por 11 especies entre las cuales *Y. pestis*, *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis* son patógenos humanos bien conocidos¹⁷. La *Y. enterocolitica* se puede subdividir en seis biogrupos (1A, IB, 2, 3, 4 y 5)¹⁷. Las cepas 1A no se asocian a enfermedad en el ser humano, pero los restantes biogrupos son patógenos¹⁷.

Vibrio: el género ha sufrido un alto número de variaciones a lo largo de los últimos años, se han descrito o clasificado de nuevo algunas de las especies menos frecuentes¹⁷. En el momento actual, el género se compone de más de 60 especies de bacilos curvados, de las que 10 ocasionan enfermedad en el ser humano¹⁷.

Morganella: este tipo de género es considerado como microorganismos oportunistas por su presencia en la flora intestinal normal²⁰. Para su identificación rápida estas bacterias tienen una alta producción de ureasa que difieren de las otras enterobacterias²⁰.

Liu et al²¹ da a conocer que dicho género en la actualidad consta de una sola especie, la cual tiene subspecies en la que se encuentran: *morganii* y *sibonii*. *M. morganii* es una bacteria móvil que tiene la capacidad de no fermentar la lactosa²¹.

Aeromonas: son bacilos gram negativos que por su morfología aparece en la familia Enterobacteriaceae, son bacterias ubicuas en el agua dulce y salobre²². Se ha descrito la existencia de 20 especies y 12 subspecies que en su mayoría causan afecciones al ser humano²². Dentro de las enfermedades producidas se tiene la diarrea en personas sanas, infecciones en las heridas y finalmente enfermedad sistémica oportunista²².

Plesiomonas: este tipo de género tienen características similares con la familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativos que fermentan los carbohidratos²³. Su hábitat es el suelo y el agua. Pero suelen encontrarse en el tubo digestivo de los seres humanos²³.

Janda et al²⁴. En su publicación científica da a conocer que el género *Plesionoma* solo ha presentado una especie denominada *P. shigelloides*, además es la causante de

enfermedades del tracto intestinal como la diarrea enterotóxica, septicemia, enfermedad del sistema nervioso central y enfermedades oculares.

Cocos Gram positivos

Dentro de la clasificación de cocos gram positivos que causan afecciones al ser humano que se encuentra más a menudo es el género *Enterococcus*²⁵.

Enterococcus: este tipo de bacterias consta de 40 especies de las cuales en menor cantidad son microorganismos de importancia clínica, en donde se encuentran: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus casseliflavus*²⁵.

El género *Enterococcus* se conforma por bacterias gram positivas, presentan una morfología cocoide, se encuentran agrupadas en pares o cadenas cortas; este tipo de bacterias fermenta la esculina²⁶. Son colonizadores del aparato digestivo además presentan resistencia intrínseca a la vancomicina por lo cual se atribuye gran importancia²⁵.

Resistencia antimicrobiana

Las bacterias de interés clínico se encuentran en aguas que presentan resistencia a diferentes antibióticos, los cuales se insertan en plásmidos que permiten su fácil propagación entre poblaciones bacterianas. Además, hacen al suelo, el agua y por ende los productos agrícolas su habitat²⁷.

En la actualidad se puede encontrar microorganismos patógenos con mecanismos de resistencia lo cual se puede expresar por niveles: multidrogorresistentes que tienen resistencia a 2 o más antibióticos, extremadamente resistentes que se encuentra en un nivel medio ya que puede resistir a 3 antibióticos o más y finalmente se tienen aislamientos de bacterias panresistentes por lo que se entiende que no existe antibiótico alguno para su terapia²⁸.

De acuerdo con la OMS²⁹, la resistencia antimicrobiana se produce cuando cualquier microorganismo sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para

combatirlos sean ineficaces, ya sean medicamentos antibacterianos, antivirales, antiparasitarios y fúngicos.

El uso empírico de antibióticos para contrarrestar molestias que afectan la salud como: aliviar el malestar, evitar complicaciones, acortar la enfermedad y así también evitar la diseminación de los microorganismos en el cuerpo humano, puede ser ineficaz por la emergencia de una resistencia bacteriana³⁰.

De tal manera que es importante el conocimiento del uso de antibióticos de acuerdo a la resistencia microbiana por 2 razones principales: la primera es el uso terapéutico temprano y la segunda es la vigilancia de la resistencia bacteriana para así tomar medidas pertinentes para la prevención³⁰.

Mecanismos de acción de los antibióticos

Los fármacos antimicrobianos actúan de diferentes maneras en las bacterias en las que se tienen las siguientes:

Toxicidad selectiva: se entiende así a la acción de depender de un antimicrobiano ideal, por lo que dicho antibiótico es perjudicial para el patógeno y no para el huésped³¹. La toxicidad selectiva es relativa y no absoluta, esto quiere decir que un antibiótico debe presentar una concentración que no afecte al huésped pero que si causa daño al microorganismo infeccioso³¹.

Inhibición de la síntesis de la pared celular

El peptidoglicano es el componente esencial de la pared las membranas que cubren a las bacterias, el mismo que se encuentra compuesto por cadenas entrecruzadas por moléculas de N-acetil glucosamina y ácido N-acetilmurámico³².

Dichas cadenas son catalizadas por enzimas ideales de la familia de serina proteasas que a su vez llevan el nombre de proteínas fijadoras de penicilinas “PBP”, ya que son las dianas de fármacos β -lactámicos, lo cual va a inhibir el ensamblaje de las cadenas. Además,

cumple la función de activar las autolisinas que destruyen la pared celular y causan la muerte de la bacteria³².

Inhibición de la función de la membrana celular

La membrana bacteriana tiene una estructura diferente debido a que cumple con una función selectiva de permeabilidad, cuando existe un daño y es destruida. Las macromoléculas e iones que están presentes en el interior celular va a trasladarse al exterior provocando un daño considerable y a su vez la muerte³¹. Ciertos fármacos interfieren con la biosíntesis de las membranas citoplasmáticas y provocan un daño con gran facilidad a la membrana celular³¹.

Inhibición de la síntesis de proteínas

El antibiótico utilizado al pasar por la membrana externa, la pared células y la membrana citoplasmática de las bacterias, ejecutan su función de inhibir las síntesis de proteínas³². Esto debido a que se juntan a proteínas ribosómicas 30S de una manera irreversible, lo cual produce un daño catastrófico, creando proteínas aberrantes³². Algunos fármacos inhiben la síntesis de proteínas entre ellos se tienen los siguientes: eritromicinas, lincomicinas, tetraci-clinas, gliciliclinas, aminoglucósidos y cloranfenicol³¹.

Los aminoglucósidos al ingresar a la célula se unen a diferentes sitios de los ribosomas 30S y 50S lo que desestabiliza los ribosomas, bloquea los complejos de iniciación y en consecuencia impide la elongación de cadenas polipeptídicas³³.

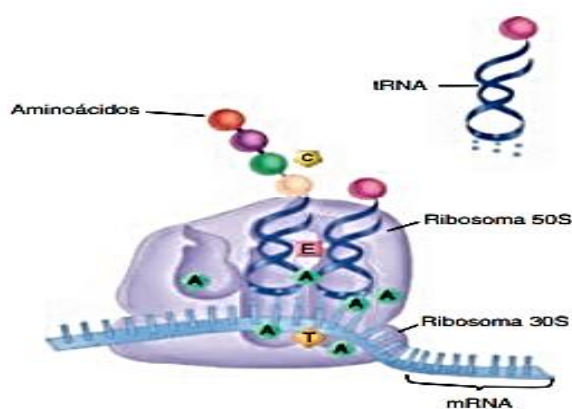


Figura 2: Acción de los antimicrobianos sobre la síntesis de proteínas. Los aminoglucósidos (A) se enlazan con múltiples sitios en los ribosomas 30S y 50S.
Fuente: Kenneth JR, Ray CG. Fármacos antibacterianos y resistencia. En: Sherris Microbiología Médica. 5th ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2011. P.310-30.

Inhibición de la Síntesis de Ácidos Nucleicos

En el presente mecanismo las enzimas topoisomerasa tipo II, denominada (girasa) o la topoisomerasa IV, son tomadas como dianas gracias a la función que cumple los agentes quimioterapéuticos sintéticos que inhabilitan los ácidos nucleicos en el ADN de la bacteria³².

La síntesis del ADN se ve afectada por antimetabolitos que combaten con el ácido p-amino benzoico, lo que anticipa la síntesis del ácido fólico que es necesario para algunos patógenos³². Además, la ARN polimerasa, de la misma forma puede ser inhibida, obstaculizando la iniciación de la síntesis de ARN³².

Permeabilidad de la membrana

Algunos fármacos actúan como detergentes, introduciéndose entre las membranas bacterianas lo cual interacciona con los fosfolípidos y lipopolisacáridos de la membrana externa provocando una absorción elevada del microorganismo y su muerte³².

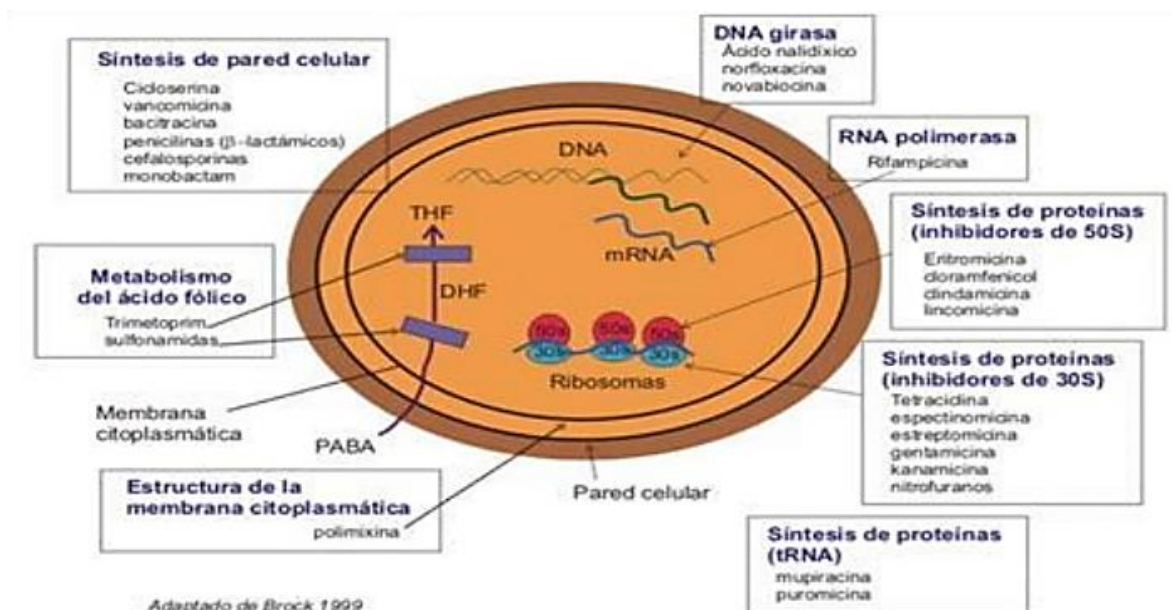


Figura 3: Modo de acción de los principales agentes quimioterapéuticos antimicrobianos.

Fuente: Madigan et al. Brock Biología de los microorganismos 12ª edición. Addison Wesley, 2009

Tipos de resistencia antimicrobiana

Resistencia natural: es una propiedad que presentan las bacterias, por lo que su aparición es previa a la utilidad del fármaco, además es una característica propia de una especie³⁴.

Resistencia adquirida: es un cambio que se da en la composición genética bacteriana causando un problema en el ámbito clínico³⁴.

Mecanismos de resistencia

Extracelular

Formación de biopelículas: se conoce como agregaciones estructuradas de células bacterianas, que se encuentran encerradas en una matriz extracelular auto sintetizada conformada por diferentes macromoléculas³⁴. La respuesta inmune es bloqueada por una barrera que es creada por la matriz extracelular protegiendo así a la población bacteriana de la acción que va a ejecutar antimicrobiano³⁵. La matriz presenta una viscosidad que impide que el fármaco ingrese a las capas profundas de la biopelícula, que están cargadas negativamente y van a repeler a los antibióticos que tienen partículas positivas³⁵.

Además, se encuentran enzimas que tienen la función de destrucción del antibiótico, pero sin embargo tienen otras funciones como protección de problemas fisicoquímicos, luz ultravioleta, minerales, cambios de pH, dificultades de hidratación y finalmente la fagocitosis³⁵.

Envoltura celular

Impermeabilidad de membranas: la membrana bacteriana cumple funciones de selección ya que permiten el ingreso o el bloqueo de ciertas sustancias a la célula³⁵. Alteraciones en las porinas como el diámetro o la cantidad pueden bloquear el ingreso del antibiótico y así evitando que este cumpla con su acción³⁶.

Porinas de membranas: la limitación del acceso de los antibióticos son mediados por porinas en los cuales intervienen mecanismos de resistencia de la envoltura celular que

actúan evitando el ingreso del antimicrobiano, reduciendo así la acción a nivel citoplasmático o de la envoltura celular³⁵.

Bombas de expulsión. permite remover antibióticos desde compartimiento intracelular a través de bombas de expulsión, las cuales se encuentran ubicadas en las membranas citoplasmáticas de bacterias que son Gram positivas y en el espacio intermembranal de bacterias Gram negativas³⁵.

Intracelular

Sistemas de protección del ribosoma: este tipo complica la función del antibiótico que va a ejercer su acción bloqueando la síntesis de proteínas³⁵. En este mecanismo se desplazan los antibióticos por medio de sistemas conjuntos con las bombas de expulsión protegiendo así a los ribosomas³⁵.

Modificación del sitio activo: las bacterias producen sustancias que va a competir con el sitio activo del antimicrobiano³⁴. La alteración o modificación del sitio donde se une el antimicrobiano genera una pérdida de afinidad que impide que el antibiótico realice su acción se ha descrito 2 tipos de modificaciones en el sitio activo la primera es la modificación de proteínas fijadoras de penicilina y la segunda que es la modificación ribosomal³⁶.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

Tipo de investigación

Enfoque mixto: se realizó una investigación mediante medios de cultivo, buscando determinar la existencia y resistencia antimicrobiana de las bacterias de interés clínico aisladas en los productos agrícolas de la cuenca de río Chibunga.

Cohorte Transversal: se ejecutó en un lugar delimitado (cercano al Río Chibunga) y tiempo específico, durante el período de abril – julio 2019.

Descriptiva: se recogió la información de acuerdo a la población de estudio ya que, se describió la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas presentes en los productos agrícolas cercanos al río Chibunga.

De campo: se recolectó las muestras de diferentes puntos geográficos cercanos al Río Chibunga, se aisló e identificó las bacterias patógenas y su resistencia antimicrobiana de los diferentes productos agrícolas.

No Experimental: no se manipuló las variables, esto da a conocer que, no se alteró las condiciones existentes.

Determinación de población y muestra.

Población: está constituida por todos los territorios de productos agrícolas relacionadas a vegetales y hortalizas, que son las más representativos de la zona de influencia de riego del río Chibunga, en las que se genera cosechas significativas de producción

Muestra: se aplicó un muestreo por conveniencia debido a la accesibilidad de cantidades permitidas mínimas por parte de los productores, pero que fueron suficientes para la ejecución de este estudio. Por lo tanto, la muestra consistió en la toma de 2 productos por cada sitio de recolección, teniendo al final 12 muestras para el análisis microbiológico.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- **Técnicas:** Observación directa
- **Instrumentos:** Guía de Observación y cámara fotográfica

Procedimiento

Identificación del área de estudio y toma de las muestras

En la presente investigación se utilizaron muestras de productos agrícolas donde se emplean aguas de regadío del río Chibunga, lo cual se localiza en la provincia de Chimborazo, presenta una largo que se aproxima a los 14 km, además en el Norte se limita con ciertas poblaciones del cantón Riobamba, en la parte Sur se limita con el cantón Chambo, en referencia al cantón Riobamba se limita al Este, finalmente en el Oeste su límite es el cantón Colta³⁷.

Toma de muestra

Previo a la toma de la muestra, se identificó cada uno de los lugares donde se cultiva vegetales por lo cual se tomó en cuenta la temperatura ambiente y la altitud de dicho lugar. Posteriormente se usaron fundas herméticas estériles de plástico para luego colocar los vegetales recolectados. Al realizar la toma de muestra de los productos agrícolas se procedió a llenar la ficha de observación (Anexo N°2), se utilizó guantes estériles, se recogió el vegetal y hortaliza. Se colocó en las fundas herméticas finalmente se codificó. Los productos de estudio fueron transportados al laboratorio de Microbiología que se encuentra en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo donde se realizó su análisis microbiológico respectivo.

Tabla 3 Obtención de los productos agrícolas en los distintos puntos de muestreo con su altitud.

| Nº | Lugar de muestreo | Producto agrícola | Altitud | Ubicación |
|----|-------------------|-------------------|---------|------------------------------------|
| 1 | Santa Martha | Lechuga | 3400m | Cruzando el río a 300m del puente |
| 2 | Calpi | Zanahoria | 3100m | A 500m de la entrada |
| 3 | San Juan | Cebolla | 3240m | Junto al canal de riego a 200m del |

| | | | | estadio |
|---|---------------------------|---------|-------|-----------------------------------|
| 4 | Shobol-Llinllin | Papa | 3300m | A 200m de la entrada |
| 5 | Parque Lineal Chibunga | Maíz | 2380m | Cruzando el río a 300m del parque |
| 6 | San Luis | Brócoli | 2680m | A 150m de la entrada a San Luis |

Elaborado por: Edwin Chicaiza.

Aislamiento e identificación de bacterias patógenas presentes en el producto agrícola.

Las muestras a analizar fueron transportadas al laboratorio de estudio con el cuidado respectivo para evitar la contaminación, utilizando las medidas de bioseguridad, alcohol al 70% e hipoclorito de sodio para la desinfección del área de trabajo.

Posteriormente se tomó la muestra del centro del alimento 25g para luego triturarla, el producto triturado se inoculó en un medio de pre-erequecimiento de agua peptonada 225ml, se incubó por 24 h a 37°C, luego se tomó 1ml de esta solución y finalmente inoculó en otro medio de pre-erequecimiento de agua peptonada 9ml incubando por 24 h a 37°C (Anexo N°3).

Preparación de medios de cultivo

Para el aislamiento e identificación de bacterias se utilizaron medios de cultivos que se dan a conocer a continuación: Agar base Sangre (500g) Himedia- India, MacCkonkey (500g) Acumedia-USA y Müller-Hinton (500g) Hafdy-USA.

Los medios fueron preparados tomando en cuenta las consideraciones del fabricante, se incubó a 15 psi con una temperatura de 121°C durante 15 minutos, se esperó a que el medio baje su temperatura, luego se colocó en cajas monopetry de 94 x 16mm con un volumen de 15mL aproximadamente en una base horizontal, luego se dejó solidificar y finalmente se procedió a guardar los medios de cultivo en fundas de plástico a 2-8°C.

Técnica de aislamiento de colonias

La enriquecida en agua peptonada se homogenizó por 10 veces, luego se tomó una cierta cantidad y se inoculó en los medios de cultivo de agar Sangre y MacCkonkey. La técnica utilizada fue por arrastre para finalizar se incubó de una forma invertida a 37°C durante 24 horas en aerobiosis y microaerofília.

Para el aislamiento de las bacterias se realizó resiembras en medios de cultivo de agar Sangre y MacCkonkey. Mediante la técnica de agotamiento incubando en una manera invertida a 37°C durante 24 horas en condiciones ya mencionadas y finalmente se obtuvo colonias puras.

Técnica de tinción de Gram

Esta técnica permite una clasificación general de las bacterias en la microbiología como es las Gram positivas y Gram negativas.

Para realizar la tinción de Gram se utilizó una placa porta objetos donde se realizó un frotis regular, se dejó secar al ambiente, se fijó mediante calor con un mechero, se procedió a colocar el primer reactivo cristal violeta por un minuto, luego se lavó con agua corriente, se agregó lugol por 1 minuto, se lavó con agua corriente, se colocó alcohol cetona por 15 a 30 segundos, finalmente se agregó safranina por 1 minuto, se lavó con agua corriente, se dejó secar, se colocó aceite de inmersión y se observó con un lente de 100x³⁸.

Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana

Para la identificación de bacterias mediante las pruebas bioquímicas se utilizó: en el caso de las bacterias gram negativas: Kligler, Ureasa, Citrato, SIM (Sulfuro, Indol, Motilidad), malonato y LIA (Lisina Hierro Agar). Mientras que en las bacterias gram positivas crecidas en agar sangre se utilizó catalasa, hemólisis, coagulasa, oxidasa., además la prueba de bilis esculina

Medición de Resistencia Antibiótica en Bacterias Patógenas

Después de la identificación bacteriana se procedió a la medición de la resistencia antimicrobiana por un método conocido como prueba de difusión en disco, una técnica que fue estandarizada por Kirby y Bauer³⁹. Este tipo de prueba permitió obtener información semicuantitativa y cualitativa de sensibilidad o resistencia a diferentes tipos de antibióticos³⁹.

Se utilizó antibióticos en discos que se dan a conocer a continuación: gentamicina de baja carga (CN), kanamicina (K), ácido nalidixico (NA), oxacilina (OX), penicilina (P), sulfam trimetropin (SXT), vancomicina (VA), tetraciclina (TE), amoxicilina (AX), azitromicina (AZM), ceftriaxone (CRO), ciprofloxacina (CIP), colistina (CT), imipenem (IMP), ceftazidime (CAZ), aztreonam (ATM), amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), cefoxitin (FOX), cefotaxima (CTX).

Se preparó una dilución en NaCl 0,89% de cada cepa bacteriana aislada para compararlo a 0,5 de turbidez con el patrón McFarland. Se empapó con un hisopo estéril en la suspensión con bacterias y se sembró en agar Mueller Hinton de tal manera que se cubrió por completo la caja Petri con un ángulo aproximado a 60°. Luego se colocó los discos con una pinza estéril a una distancia de 15 mm del borde y 20 mm. Posteriormente las placas fueron incubadas por 24 horas a 37°C para finalizar se realizó la lectura de resultados basándose en el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio “CLSI” donde se vio la sensibilidad, intermedio o resistente.

Procesamiento estadístico

En la presente investigación se utilizó la aplicación informática de Excel, es un software estadístico que permitió realizar tablas de análisis, además sacar frecuencias y promedios.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la investigación se seleccionó 6 estaciones para la toma de muestra de vegetales con regadío del río Chibunga así se tiene: Santa Martha, Shobol-Llinllin, San Juan, Calpi, Parque lineal Chibunga y San Luis (Anexo N°1, Figura N° 4).

En la tabla 4 se detallan los lugares seleccionados para la toma de muestra, la temperatura del ambiente con 23°C en el Parque Lineal Chibunga y San Luis, 17°C en Calpi, 16°C en San Juan, 12°C en Santa Martha y finalmente con 10°C en Shobol- Llinllin. Además, los productos agrícolas que fueron obtenidos en dichos lugares.

Datos de la temperatura del ambiente de los lugares aledaños del río Chibunga, de acuerdo a cada estación de muestreo y el producto agrícola obtenido. (Tabla 4)

| Estaciones de muestreo | Temperatura ambiente | Producto agrícola | Bacterias Aisladas | Numero de Cepas |
|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------|
| Santa Martha | 12°C | lechuga | <i>C. freundii</i> | 2 |
| Calpi | 17°C | zanahoria | <i>C. freundii</i> | 2 |
| San Juan | 16°C | cebolla | <i>E. cloacae</i> | 2 |
| | | | <i>A. sobria</i> | 1 |
| Shobol-Llinllin | 10°C | papa | <i>C. freundii</i> | 1 |
| | | | <i>E. faecalis</i> | 1 |
| Parque Lineal Chibunga | 23°C | maíz | <i>A. sobria</i> | 1 |
| | | | <i>P. shigelloides</i> | 2 |
| | | | <i>E. faecalis</i> | 1 |
| San Luis | 23°C | brócoli | <i>C. amalonaticus</i> | 1 |
| | | | <i>M. morganni</i> | 1 |
| | | | <i>K. pneumoniae</i> | 1 |

Elaborado por: Edwin Chicaiza.

En relación a la investigación realizada por Mur et al⁹, la temperatura ambiente de los puntos de muestreo de Calpi, San Juan, Parque Lineal Chibunga y San Luis varían con 1°C, en Shobol-Llinllin existe una diferencia de 3°C, mientras que la temperatura ambiente de Santa Martha permanece igual, confirmando así la presencia, el crecimiento de microorganismos patógenos en las aguas del río Chibunga y por ende en los vegetales que utilizan agua de regadío donde se hace referencia a los lugares que tienen 23°C.

De acuerdo con Madigan et al⁴¹, da a conocer que las poblaciones microbianas se encuentran estrictamente controladas por condiciones de temperatura, presencia o ausencia de oxígeno y además la alimentación. Las bacterias de interés clínico presentan un crecimiento óptimo a 37°C, sin embargo, los patógenos ya mencionados crecen a temperaturas que van de 5° C a 65°C. Pero también a temperaturas menores a 5°C donde adquieren una membrana más rígida disminuyendo su metabolismo o a una temperatura mayor a los 65°C donde sufren procesos de desnaturalización de lípidos, ácidos nucleicos y proteínas⁹.

Sherris et al⁴¹ dice que las bacterias tienen un crecimiento óptimo de 30 a 37°C sin embargo existen tipos bacterianos que crecen a condiciones bajas de temperatura (psicrófilas), otras bacterias pueden crecer a altas temperaturas (termófilas) y finalmente las bacterias patógenas que se encuentran en un punto intermedio (mesófilas).

En la investigación realizada se identificaron 8 bacterias de interés clínico, de un total de 16 colonias aisladas. (Anexo N°4)

En la tabla 5 se muestra la clasificación general de las bacterias patógenas expresadas en porcentaje de acuerdo a la coloración de Gram. Donde se obtuvo bacterias 7 Gram negativas con 87,5% y bacterias 1 Gram positiva con un 12,5%.

Representaciones en porcentaje de bacterias Gram positivas y negativas. (**Tabla 5**)

| Tinción de Gram | Frecuencia | Porcentaje |
|-----------------|------------|-------------|
| Gram negativas | 7 | 87,5 % |
| Gram positivas | 1 | 12,5% |
| Total | 8 | 100% |

Elaborado por: Edwin Chicaiza.

Mur et al⁹, en su investigación realizada en el río Chibunga ubicado en la provincia de Chimborazo determina la existencia porcentual de bacterias Gram negativas con 94,4% y bacterias Gram positivas con 5,6 %. Lo cual tiene relación con el presente estudio, debido a la presencia de bacterias Gram negativas con mayor frecuencia y Gram positivas en menor cantidad en los productos agrícolas con agua de riego de dicho río⁹.

Ríos et al²⁷, menciona que las bacterias gramnegativas se encuentran con mayor relevancia en el agua y las mismas son provenientes de tracto intestinal. Además, se tiene en cuenta que las bacterias grampositivas no son frecuentes en aguas, pero existen algunos géneros como el *Enterococcus* causante de variedades de enfermedades que llega a ser indicador de contaminación fecal de seres vivos en los que se encuentra los humanos y animales. Los mismos que se presentan en el agua de ríos y por ende en los productos agrícolas. Sherris et al⁴², afirma que las bacterias causantes de enfermedades gastrointestinales son similares tanto en bacterias Gram negativas y positivas.

En la tabla 6 se evidencia que las bacterias aisladas en su mayoría pertenecen a la familia Enterobacteriaceae con un 75 % y en menor cantidad se encuentran bacterias pertenecientes a la familia Aereomonadaceae y Enterococcaceae con 12,8%.

Bacterias patógenas encontradas en productos agrícolas con regadío del río Chibunga (Tabla 6).

| Bacterias encontradas | | | | |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|
| Familia | Género | Especie | Frecuencia (n) | Porcentaje (%) |
| Enterobacteriaceae | <i>Citrobacter</i> <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Plesiomona</i> <i>Morganela</i> | <i>amalonaticus, freundii</i> <i>cloacae</i> <i>pneumoniae</i> <i>shigelloides</i> <i>morganni</i> | 6 | 75 |
| Enterococcaceae | <i>Enterococcus</i> | <i>Faecalis</i> | 1 | 12,5 |
| Aereomonadaceae | <i>Aereomonas</i> | <i>Sobria</i> | 1 | 12,5 |
| TOTAL | | | 8 | 100 |

Elaborado por: Edwin Chicaiza.

Mur et al⁹, confirman nuestros hallazgos evidenciando la presencia de bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, Enterococcaceae y Aereomonadaceae.

Las bacterias de interés clínico con más relevancia son pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y otro microorganismo que morfológicamente es un bacilo Gram negativo (*Aereomonas*)⁹.

En menor cantidad se encuentran las bacterias Gram positivas, pertenecientes a la familia Enterococcaceae lo cual existe relación en ambas investigaciones.

Kasper et al⁴³, manifiesta que las bacterias Gram negativas de la familia de las enterobacterias como: *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, se presentan frecuentemente en agua, vegetación y suelos.

Por lo que dichos microorganismos son causantes de una variedad de infecciones en la que se puede mencionar las enfermedades gastrointestinales.

Ríos et al ²⁷, menciona que “las bacterias que están relacionadas con enfermedades de transmisión hídrica son del género *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Enterococcus*”. Los mismos que indican contaminación fecal de igual manera el género *Aeromonas* que se presentan en medios acuáticos, de modo que son transmitidas a los productos agrícolas por el uso de aguas contaminadas²⁷.

En la tabla 7 se muestra las bacterias de interés clínico distribuidas por especies, de acuerdo al punto geográfico de muestreo observándose que en el Parque Lineal Chibunga se encontraron en mayor cantidad 4 especies (24,9%), en San Juan y San Luis 3 (18,8%) especies y finalmente se tiene que, en Santa Martha, Calpi y Shobol- Llinllin se encontraron en menor cantidad 2 especies (12,5%).

Distribución de bacterias de interés clínico de acuerdo al punto geográfico establecido para la toma de muestra. (**Tabla 7**)

| Lugar de muestreo | Bacterias patógenas | | | | | | | | Frecuencia N° | Porcentaje |
|------------------------|------------------------|--------------------|-------------------|------------------|------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|---------------|------------|
| | <i>C. amalonaticus</i> | <i>C. freundii</i> | <i>E. cloacae</i> | <i>A. sobria</i> | <i>P. shigelloides</i> | <i>M. morgani</i> | <i>K. pneumoniae</i> | <i>E. faecalis</i> | | |
| Santa Martha | | 2 | | | | | | | 2 | 12,5% |
| Calpi | | 2 | | | | | | | 2 | 12,5% |
| San Juan | | | 2 | 1 | | | | | 3 | 18,8% |
| Shobol-Llinllin | | 1 | | | | | | 1 | 2 | 12,5% |
| Parque Lineal Chibunga | | | | 1 | 2 | | | 1 | 4 | 24,9% |
| San Luis | 1 | | | | | 1 | 1 | | 3 | 18,8% |
| TOTAL | | | | | | | | | 16 | 100% |

Elaborado por: Edwin Chicaiza.

La investigación realizada por Mur et al⁹, confirman nuestros hallazgos demostrando que existe una mayor cantidad de especies con un (18,4%) en el Parque Lineal Chibunga y en San Luis, seguidas por Santa Martha y Calpi con 6 (15,8%) especies, Shobol-Llinllin 5 (13,2%), y San Juan con menor cantidad de especies 4 (10,5%). Información que presenta similitud con el estudio realizado, donde se tuvo con mayor cantidad el Parque Lineal Chibunga con 4 especies (24,9%), San Juan y San Luis con 3 (18,8%) especies y en menor cantidad Santa Martha, Calpi, Shobol-Llinllin con 2 (12,5%) especies bacterianas.

En otras investigaciones afirman la existencia de coliformes fecales en agua y vegetación en ciertos puntos considerados como críticos, en los cuales están: Comunidad Gatazo, Parque Lineal Chibunga y en San Luis⁴⁴.

La resistencia antimicrobiana de las especies bacterianas aisladas e identificadas en los productos agrícolas fueron medidas de acuerdo a la guía internacional Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (Anexo N° 6).

En la tabla 8 se da a conocer el patrón de sensibilidad y resistencia a los antibióticos de la familia Enterobacteriaceae donde se observó que *C. freundii* es resistente a 2/14 antibióticos utilizados, *K. pneumoniae* es resistente a 3/16 y finalmente *E. cloacae* es resistente a 3 del total de antibióticos (Anexo N° 7).

Patrón de sensibilidad y resistencia bacteriana pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae de acuerdo a la guía internacional CLSI. (Tabla 8).

| Cepa | Bacterias | CN | K | CT | TE | CIP | AN | SXT | CRO | CAZ | IMP | ATM | AZM | AX | FOX | AMC | CTX |
|------|------------------------|----|---|----|----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| 1 | <i>C. freundii</i> | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | - | - |
| 2 | <i>C. freundii</i> | S | S | I | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | - | - |
| 1 | <i>C. amalonaticus</i> | S | I | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | R | S | - | - |
| 1 | <i>E. cloacae</i> | S | I | R | R | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | - | - |
| 1 | <i>A. sobria</i> | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | - | - |
| 1 | <i>P. shigelloides</i> | S | S | R | I | S | S | S | I | S | S | S | R | S | S | - | - |
| 1 | <i>M. morgani</i> | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | R | S | - | - |
| 1 | <i>K. pneumoniae</i> | S | I | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | R | R | R | S |

CN: gentamicina de baja carga; K: kanamicina; CT: colistin; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; AN: ácido nalidixico, SXT: sulfamometropin CRO: ceftriaxone; CAZ: ceftazidime; IMP: imipenem; ATM: aztreonam, AMC; amoxicilina/clavulánico, CTX: cefotaxima y FOX: Cefoxitin.

Elaborado por: Edwin Chicaiza.

En los resultados obtenidos de sensibilidad y resistencia antimicrobiana; se puede establecer la resistencia del *E. cloacae* y la presencia de mecanismos de resistencia en las especies bacterianas de *C. freundii* y *K. pneumoniae*.

Brooks et al³¹, menciona que las tetraciclinas son antibióticos inhibidores de la proliferación de bacterias Gram positivas y negativas.



Imagen 1: Resistencia a tetraciclina (TE) en *E. cloacae* 38

Estos antibióticos son concentrados por las bacterias que tienen sensibilidad e inhiben la síntesis de proteínas al bloquear el enlace aminoacil tRNA, con la subunidad 30S de los ribosomas en la bacteria, los patógenos resistentes (**Imagen N°1**) no concentran el antibiótico, dicha resistencia es controlada por plásmidos transmisibles.

Las cepas de *C. freundii* y *K. pneumoniae* son datos importantes en la investigación realizada ya que presentan mecanismo de resistencia AmpC.

De acuerdo con Calvo et al⁴⁵, la AmpC hidroliza las cefalosporinas de primera (cefalotina), segunda generación (cefuroxima) e incluidas las cefamicinas donde se encuentran: ceftaxima (**Imagen N°2**) y cefotetán.



Imagen 2: Resistencia a ceftaxima (FOX) en *C. diversus*

Pero en menor medida, las de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), mientras que existe poca eficacia para hidrolizar las cefalosporinas que es de 4ta generación.

Por otro lado, Escalva et al⁴⁶, menciona que la AmpC es una β -lactamasa de tipo I el cual está codificada por plásmido o en cromosoma. Además, da a conocer que el gen AmpC otorga resistencia a aminopenicilinas. Esta información está estrechamente relacionada con D'Angelo et al⁴⁷, porque explica que las bacterias productoras β -lactamasas pueden ser resistentes a agentes como: Amoxicilina / clavulánico (AMC) (**Imagen N° 3**) y Ampicilina- sulfactam (SAM).



Imagen 3: Resistencia a ceftaxima (FOX), amoxicilina (AX) y amoxicilina/clavulánico (AMC) respectivamente en *K. pneumoniae*

En la tabla 9 se muestra el patrón de sensibilidad y resistencia antimicrobiana de la especie *Enterococcus faecalis*, observándose la resistencia a gentamicina de baja carga, vancomicina y penicilina (Anexo N°8).

Patrón de sensibilidad y resistencia de bacteriana pertenecientes a la especie *Enterococcus* de acuerdo a la guía internacional CLSI. (Tabla 9)

| Cepa | Microorganismo | CN | K | TE | CIP | AX | VA | P |
|------|--------------------|----|---|----|-----|----|----|---|
| 1 | <i>E. faecalis</i> | R | R | S | I | S | R | R |
| 1 | <i>E. faecalis</i> | R | R | I | I | S | R | R |

CN: gentamicina de baja carga; K: kanamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; VA: vancomicina; AX: amoxicilina; P: penicilina,

Elaborado por: Edwin Chicaiza.

Brooks et al⁴⁸, confirman nuestros resultados mencionando que las algunas especies de la familia Enterococcaceae, presentan una fuerte resistencia a aminoglúcidos como la gentamicina (CN) (Imagen N°4) por la presencia de enzimas como: bifuncional y fosfonotransferasa que modifican los aminoglucósidos enterocócicos. Además, da a conocer resistencia a la vancomicina (Imagen N°5), la cual es muy frecuente en *E. faecalis* y *faecium* Existen varios fenotipos de resistencia a la vancomicina. De acuerdo con Gousia⁴⁹, en su investigación dice que los fenotipos encontrados con más frecuencia son: *VanA* y *VanB*. El fenotipo *VanA* es responsable de la alta resistencia a vancomicina y teicoplanina, mientras que el fenotipo *VanB* es caracterizado por varios niveles de resistencia a la vancomicina y susceptibilidad a la teicoplanina^{48,49}.

De acuerdo con Carrero et al⁵⁰, las cepas de *Enterococos* muestran resistencia a las cefalosporinas, penicilinas, clindamicina, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Por lo que da a conocer que la especie *E. faecalis* es considerada resistente a varios antibióticos información que se relaciona con la investigación realizada⁵⁰.



Imagen 4: Resistencia a gentamicina (CN) en: *E. faecalis*



Imagen 5: resistencia a vancomicina (VA) en: *E. faecalis*.

CONCLUSIONES

- En definitiva, se obtuvieron 12 productos de importancia agrícola y de alto consumo humano, recolectados en 6 puntos geográficos diferentes siendo estos: Santa Martha, Shobol-Llinllin, San Juan, Calpi, Parque lineal Chibunga y San Luis. Obteniendo así: lechuga, zanahoria, cebolla, papa maíz y brócoli respectivamente. Estas muestras fueron cultivadas, generando cantidades significativas de crecimiento bacteriano.
- Se aislaron 16 colonias bacterianas, de las cuales 8 fueron identificadas como especies patógenas. Las mismas que son potencialmente causantes de una variedad de enfermedades al ser humano.
- La antimicrobiana de las cepas bacterianas patógenas Gram negativas presentaron mecanismos de resistencia AmpC que da a conocer la resistencia a las cefalosporinas, mientras que las Gram positivas *Enterococcus faecalis* presentaron resistencia natural a gentamicina de baja carga y resistencia a vancomicina. Lo que sugiere que a nivel molecular existe una mutación en el gen Van A.
- Por lo tanto, los productos agrícolas aledaños a diferentes puntos del río Chibunga presentaron contaminación por microorganismos patógenos resistentes a antibióticos de uso clínico. lechuag

RECOMENDACIONES

- Se recomienda que la Universidad Nacional de Chimborazo apoye constantemente a los diferentes proyectos que se están planteando por parte de los estudiantes a futuro ya que así existiría mejor vinculación con la sociedad y se ayudaría a las comunidades de la provincia de Chimborazo.
- Se recomienda a los docentes de la Universidad Nacional de Chimborazo que estén capacitados para las diferentes áreas de estudio colaborar con la investigación que se realiza para obtener mejores resultados.
- Se recomienda dar a conocer investigación realizada al GAD Municipal de Riobamba para que se tome las medidas correspondientes en la sanidad y salubridad del agua utilizada para los regadíos, por el alto índice de contaminación de productos de consumo humano de los cuales son consumidos en la provincia de Chimborazo.
- En la investigación se recomienda utilizar medidas de protección así también aplicar todos los protocolos de trabajo para evitar cualquier error que pueda afectar al resultado en el análisis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kuczynski D. El hallazgo de bacterias patógenas en ríos urbanos y su relación con el cambio climático. Rev. Inmanencia [Internet]. 2016 [citado 07 May 2019]; 5(1):92-96. Disponible en: <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/inmanencia/article/view/10804/9631>
2. Peña Y, Castillo VL, Rodríguez A, et al. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. Rev. haban cien med. [Internet]. 2014 [citado 13 May 2019]; 13(1):111-119. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2014000100013
3. OMS: Organización Mundial de la Salud. [Internet]. 2017 [actualizado 31 Oct 2017; citado 13 May 2019]. Inocuidad de los Alimentos. [aprox. 5 pantallas]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
4. El Comercio.com. FAO ayuda a Ecuador a mitigar bacterias multirresistentes [Internet]. Ecuador: El Comercio; 2017 [actualizado 13 Mar 2017; citado 13 May 2019]. Disponible en: https://www.elcomercio.com/tendencias/fao-cooperacion-ecuador-bacterias-multirresistentes.html?fbclid=IwAR3oegKcHkrA6y0Judw28F_HTxVPbJQdgWxUyxHECZ9NEIcHSCcWGPpv3U.
5. El Universo.com. Pichincha fue la provincia que registró más casos por enfermedades epidemiológicas en el 2017 [Internet]. Ecuador: El Universo; 2018 [actualizado 22 Feb 2018; citado 13 May 2019]. Disponible en: <https://www.eluniverso.com/noticias/2018/02/22/nota/6635161/pichincha-fue-rovincia-ecuador-que-registro-mas-casos-enfermedades>
6. El Telegrafo.com. Estudiantes de EsPOCH recuperan el río Chibunga con bacterias [Internet]. Ecuador: El Telégrafo; 2017 [actualizado 31 Ene 2017; citado 13 May 2019]. Disponible en: https://www.itelegrafo.com.ec/noticias/193/1/estudiantes-de-esPOCH-recuperan-el-rio-chibunga-con-bacterias?fbclid=IwAR0S5hPiSY_9xmNs6FAZihte41cDVgpSxkqt5_OrPqY4gXgWQYzplOjw2TE

7. El Comercio.com. Tres riobambeños tienen el remedio para descontaminar Internet]. Ecuador: El Comercio; 2017 [actualizado 31 Ene 2017; citado 13 Mar 2019]. Disponible en: <https://www.elcomercio.com/actualidad/esepoch-riobamba-contaminacion-rios-remediacion.html>
8. OMS: Organización Mundial de la Salud. [Internet]. 2018 [actualizado 07 Feb 2018; citado 13 May 2019]. Inocuidad de los Alimentos.. [aprox. 6 pantallas]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
9. Mur L, Marcillo K. Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del río Chibunga [Internet]. 2018. [Internet]. Ecuador: Universidad Nacional de Chimborazo, 2018; [citado 14 May 2019]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5098>
10. Buñay L. Río Chibunga [Internet]. Ecuador; 2013 [actualizado 14 May 2013; citado 14 May 2019]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/141285459/Conclusiones-Rio-Chibunga>.
11. El Telegrafo.com. El Chibunga, uno de los ríos más contaminados del país [Internet]. Ecuador: El Telégrafo; 2013 [actualizado 07 May 2013; citado 14 May 2019]. Disponible en: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/el-chibunga-uno-de-los-rios-mas-contaminados-del-pais>.
12. Mendoza B. Diagnóstico y Propuesta para la conservación de la microcuenca del río Chibunga [Internet]. Ecuador; 2010 [actualizado 21 Sep 2010; citado 15 May 2019]. Disponible en: <https://issuu.com/benitom/docs/benitom>.
13. Andrade N. La Importancia de la Agricultura en nuestro país [Internet]. Ecuador; 2017 [actualizado 23 Mar 2017; citado 15 May 2019]. Disponible en: <http://www.utn.edu.ec/ficaya/carreras/agropecuaria/?p=1091>
14. Cevallos C, Zaldívar, Floripes R. Chimborazo: una reflexión sobre su sector agropecuario [Internet]. Ecuador; 2017 [actualizado Feb 2017; citado 15 May 2019]. Disponible en: <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/ec/2017/chimborazo.html>

15. Medline Plus. Infecciones bacterianas [Internet]. Ecuador; 2018 [actualizado 02 May 2019; citado 16 May 2019]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/bacterialinfections.html>
16. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiología ambiental y aplicada. En: Introducción a La Microbiología. 9a edición. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2007. p. 820–4.
17. Murray P, Rosenth K, Pfaüeral M. Enterobacteriaceae. En: Microbiología Médica. 7a ed. España: Elseiver; 2014. p. 258-72
18. Murray P, Rosenth K, Pfaüeral M. Microbiología Clínica. 8th ed. Barcelona: Elseiver; 2017.
19. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Microbiología Médica. 25th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011.
20. Kenneth JR, Ray CG. Enterobacterias. En: Sherris Microbiología Médica. 5th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011. p. 441-63.
21. Liu H, Zhu J, Hu Q, Rao. *Morganella morganni*, a non-negligent opportunistic pathogen. Rev. Elseiver. [Internet]. 2016 [citado 27 Agos 2019]; 50 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971216311134>
22. Murray P, Rosenth K, Pfaüeral M. *Vibrio y Aereomonas*. En: Microbiología Médica. 7a ed. España: Elseiver; 2014. p. 273-78.
23. Kenneth JR, Ray CG. *Pseudomonas* y otros bacilos gramnegativos oportunistas. En: Sherris Microbiología Médica. 5th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011. P.470-77.
24. Janda J, Abbott S, Mclver C. *Plesiomonas shigelloides* Revisited. Rev. Clin Microbiol. [Internet].2016 [citado 27 Ago 2019]; 29(2): 349-374. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4786884/>
25. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Enterococcus* y otros cocos grampositivos. En: Microbiología médica [Internet]. 7a ed. Elsevier; 2014 [citado 27 Ago 2019]. p. 205.

Disponible en:

https://www.academia.edu/32691727/Microbiologia_Medica_de_Murray_7maEdicion

26. Medell M, Hart M, Batista M. Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* obtenidos de pacientes hospitalizados. Rev. Biomédica. [Internet].2014 [Citado 27 Ago 2019]; 34(0): 50. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572014000500007
27. Ríos Tobón S, Agudelo-Cadavid R, Gutiérrez-Builes L. Patógenos e Indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo Humano. Rev Fac Nac Salud Pública [Internet]. 2017; [Citado 27 Ago 2019]; 35(2):236–47. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/fnsp/article/view/26353/20784405>
28. Claudio R, Nathanael D, Mark P. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2015; [Citado 27 Ago 2019]; 32(1):139–45. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v32n1/a20v32n1.pdf>
29. OMS: Organización Mundial de la Salud [Internet]. 2018 [actualizado 15 Feb 2018; citado 17 May 2019]. Resistencia a los antimicrobianos. [aprox. 5 pantallas]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>
30. Novoa- Farías O et al. Susceptibility of bacteria isolated from acute gastrointestinal infections to rifaximin and other antimicrobial agents in Mexico. Rev. Gastroenterológica de Mexico. [Internet]. 2016 [citado 27 Ago 2019]; 81(1): 3-10 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375090615000798>
31. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Quimioterapia antimicrobiana. En: Microbiología Médica. 25th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011.p. 339-69
32. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Agentes antibacterianos. En: Microbiología médica. 8va edición. Barcelona; 2017. p. 162–9.

33. Kenneth JR, Ray CG. Fármacos antibacterianos y resistencia. En: Sherris Microbiología Médica. 5th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011. P.310-30
34. Serra MA. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev. haban cien med. [Internet]. 2017 [citado 18 May 2019]; 16(3): 402-19. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011
35. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos L. Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia Antibiótica. Rev. haban cien med. [Internet]. 2017 [citado 18 May 2019]; 35(4): 1214-1223. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v35n4/0717-9502-ijmorphol-35-04-01214.pdf>
36. Rojas G, Ulate L. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. Rev med de Costa Rica y Centro América. [Internet]. 2016 [citado 28 Ago 2019];LXXIII (621) 757-63 Disponible en: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>
37. Jaque Castellano E, Potocí Guerrero C, Veloz N. Evaluación del Índice de Calidad de Agua (ICA) de la microcuenca del Río Chibunga, en variaciones estacionales, provincia de Chimborazo – Ecuador, durante el período 2014 [Internet]. Facultad de Ciencias. 2015. p. 167 Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4077>
38. Rodríguez PA, Arenas R. Hans Christian Gram y su tinción Hans Christian Gram and His Staining [Internet]. 2018 [citado 29 Ago 2018]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
39. Velasco J et al. Manual Práctico de Bacteriología Clínica. médica [Internet]. 1era ed. CODEPRE; 2011 [citado 29 Ago 2019]. p. 25. Disponible en: <http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf>

40. Madigan M, Martinko J, Bender K, Buckley D, Sthal D. Microorganismos y microbiología. En: Brock Biología de los microorganismos. 14ª. ed. España: Pearson Educación; 2015 [citado 29 de Ago 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/39077515/Biolog%C3%ADa_de_los_microorganismos_BROCK
41. Kenneth JR, Ray CG. Naturaleza de las Bacterias. En: Sherris Microbiología Médica. 5th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011. p. 267-97
42. Kenneth JR, Ray CG. Infección. En: Sherris Microbiología Médica. 5th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011. p. 3-15.
43. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Enfermedades causadas por bacilos entéricos Gram negativos. En: Harrison Principios de Medicina Interna. 19a. ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2019. p. 1025-35.
44. Jaque E, Potoci C. Evaluación del índice de calidad de agua (ica) de la microcuenca del río Chibunga, en variaciones estacionales, provincia de Chimborazo – Ecuador, durante el periodo 2014. [Internet]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2014; [citado 31 Ago 2019]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4077/1/236T0132%20UDCTFC1.pdf>.
45. Calvo J, Cantón R, Fernández F, Mirelis B, Navarro F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. [Internet]. España: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), 2011; [citado 31 Ago 2019]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia38.pdf>.
46. Eslava C, Castellanos S, Pretto E, Sánchez V, Méndez I. Celulitis facial odontogénica severa infrecuente causada por *Citrobacter Freundii* productora de AmpC en un paciente con diabetes mellitus 2. reporte de caso. Rev Med [Internet]. 2012 [citado 01 Sep 2019]; 20(1): 35-42. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/med/v20n1/v20n1a04.pdf>.

47. D'Angelo, R. G., Johnson, J. K., Bork, J. T., Heil, E. L. Treatment options for extended-spectrum betalactamase (ESBL) and AmpC-producing bacteria. Rev. EXPERT OPINION ON PHARMACOTHERAPY. [2016] [citado 01 Sep 2019]; 17(7): 953-67, Disponible en: DOI: 10.1517/14656566.2016.1154538.
48. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Estreptococos. En: :Microbiología Medica. 25th ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011.p. 195-208.
49. Gousia, P., Economou, V., Bozidis, P., Papadopoulou, C. Vancomycin-Resistance Phenotypes, Vancomycin-Resistance Genes, and Resistance to Antibiotics of Enterococci Isolated from Food of Animal Origin. Rev. Foodborne Pathogens and Disease.[2015]. [citado 01 Sep 2019]; 12(3): 214-20. Disponible en: DOI: 10.1089/fpd.2014.1832
50. Carrero C, Gonzalez M, Marrtinez M, Varona F, Ortega H, Rodriguez A. Baja frecuencia de Enterococcus faecalis en mucosa oral de sujetos que acuden a consulta odontológica. Rev Fac Odontol Univ Antioq. [2015]. [citado 01 Sep 2019]; 26(2). 261-70. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-246X2015000100003

ANEXOS

ANEXO N°1

Localización geográfica de las estaciones para la
toma de muestra de productos agrícolas con riego río
Chibunga



Figura 4: Localización de estaciones de muestreo de productos agrícolas con riego río Chibunga.

Fuente: Modificado de: Mur L, Marcillo K. Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del río Chibunga [Internet]. 2018. [Internet]. Ecuador: Universidad Nacional de Chimborazo, 2018; [citado 14 May 2019]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5098>

ANEXO N°2

Fichas de observación de cada punto geográfico

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

Fuente: Cordovéz M. “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”. UNACH.

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: 1.1.1

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2014

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): Santa Marta

Temperatura: Medio Ambiente 12°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)


Observación:

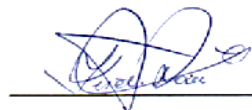
Presencia de animales en los cultivos: _____

Viviendas colindantes:

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por:


Estudiante


Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.1.2

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): Santa Marta

Temperatura: Medio Ambiente 12°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)

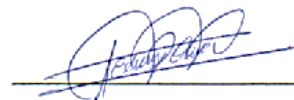
Observación:

Presencia de animales en los cultivos: _____

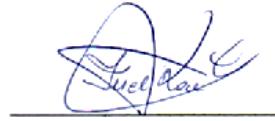
Viviendas colindantes:

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por:



Estudiante



Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.2.1

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): Cáhu

Temperatura: Medio Ambiente 12°C 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: 1.2.2

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2014

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): Calpa

Temperatura: Medio Ambiente 17°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)


Observación:

Presencia de animales en los cultivos: X

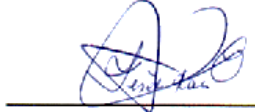
Viviendas colindantes: _____

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por:



Estudiante



Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.3.1

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2014

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): San Juan

Temperatura: Medio Ambiente 16°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)


Observación:

Presencia de animales en los cultivos: _____

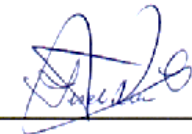
Viviendas colindantes:

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: 1.3-2

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): San Juan

Temperatura: Medio Ambiente 16°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: _____

Viviendas colindantes: x

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por:



Estudiante



Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.4.1

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): Shobal - Linlín

Temperatura: Medio Ambiente 10°C 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

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 104.2

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río:

Muestra tomada en (lugar): Shobol- Uinllin

Temperatura: Medio Ambiente 10°C Agua (sólo para agua)

PH: (sólo para agua)


Observación:

Presencia de animales en los cultivos:

Viviendas colindantes: X

Otra fuente que se considere contaminación: Cuál:

Realizado por:



Estudiante



Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.5.1

Nombre del estudiante: Elwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río:

Muestra tomada en (lugar): Parque Lineal Chibunga

Temperatura: Medio Ambiente 23°C Agua (sólo para agua)

PH: (sólo para agua)

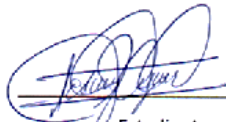
Observación:


Presencia de animales en los cultivos: x

Viviendas colindantes: x

Otra fuente que se considere contaminación: Cuál:

Realizado por:


Estudiante


Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.3.2

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): Parque lineal Chibunga

Temperatura: Medio Ambiente 23°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: y


Viviendas colindantes: y

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por:



Estudiante



Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.6.1

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): San Luis

Temperatura: Medio Ambiente 23°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)

Observación:

Presencia de animales en los cultivos: _____

Viviendas colindantes: x

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por:


Estudiante


Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

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: 1.6.2

Nombre del estudiante: Edwin Chicaiza

Fecha: 07-07-2019

Muestra: Agua Producto Agrícola Río: _____

Muestra tomada en (lugar): Son Luis

Temperatura: Medio Ambiente 23°C Agua _____ (sólo para agua)

PH: _____ (sólo para agua)

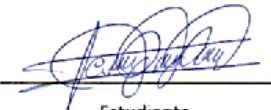
Observación:

Presencia de animales en los cultivos: _____

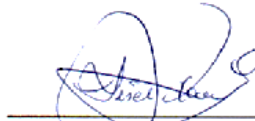
Viviendas colindantes:

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por:



Estudiante



Tutor

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

ANEXO N°3

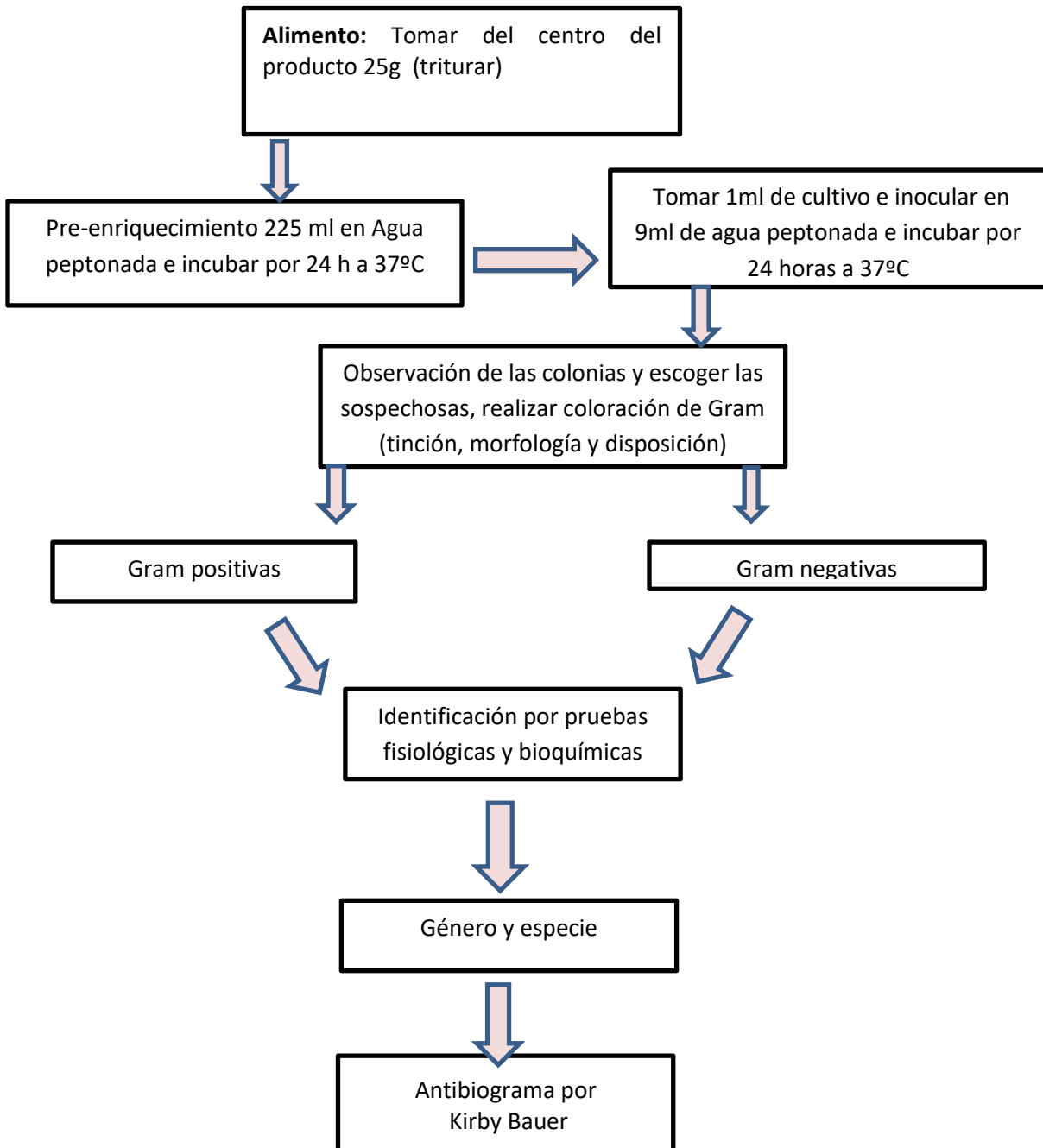
Protocolo para procesar los vegetales

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 Chibunga.

Recolectar en bolsas estériles los productos agrícolas.



Fuente: Cordovéz M. “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”. UNACH.

ANEXO N°4

Muestras analizadas 16 cepas aisladas con 9 especies
bacterianas patógenas

| LUGAR | N° MUESTRA | Altitud | TºA | MUESTRA | Colonias | Género y especie |
|-----------------|------------|---------|------|-----------|------------------------|---------------------------------|
| Santa Marta | 1.1.1 | 3400m | 12°C | Lechuga | Pequeña | <i>Citrobacter freundii</i> |
| #1 | 1.1.2 | 3400m | 12°C | Lechuga | Pequeña | <i>Citrobacter freundii</i> |
| Calpi | 1.2.1(AS) | 3100m | 17°C | Zanahoria | Pequeña | <i>Citrobacter freundii</i> |
| #2 | 1.2.2 | 3100m | 17°C | Zanahoria | Pequeña | <i>Citrobacter freundii</i> |
| San Juan | 1.3.1 | 3240m | 16°C | Cebolla | Mucoides | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| #3 | 1.3.2(AS) | 3240m | 16°C | Cebolla | Mucoides | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| #3 | 1.3.2(AM) | 3240m | 16°C | Cebolla | Mucoides | <i>Aeromonas sobria</i> |
| Shobel Viallin | 1.4.1 | 3300m | 10°C | Papa | Blanquecinas | <i>Enterococcus faecalis</i> |
| #4 | 1.4.2 | 3300m | 10°C | Papa | Amarillas | <i>Citrobacter freundii</i> |
| Parque Chibunga | 1.5.1 | 2380m | 23°C | Maíz | Reseca | <i>Aeromonas sobria</i> |
| #5 | 1.5.1 | 2380m | 23°C | Maíz | Húmeda | <i>Plesiomonas shigelloides</i> |
| #5 | 1.5.2 | 2380m | 23°C | Maíz | Grises | <i>Plesiomonas shigelloides</i> |
| #5 | 1.5.2 | 2380m | 23°C | Maíz | Pequeñas transparentes | <i>Enterococcus faecalis</i> |
| San Luis | 1.6.1 | 2680m | 23°C | Brócoli | Blanquecina | <i>Citrobacter amalonaticus</i> |
| #6 | 1.6.1 | 2680m | 23°C | Brócoli | Amarilla | <i>Morganella morganii</i> |
| #6 | 1.6.2 | 2680m | 23°C | Brócoli | Grises | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |

Elaborador por: Edwin Chicaiza

ANEXO N°5

Resultados obtenidos de las pruebas fisiológicas para
la identificación de *Enterococcus*

| N° | Código. | Microorganismos | CAT | BE |
|------------------------------------|----------------|------------------------|------------|-----------|
| 1 | 1.4.1 | <i>E. faecalis</i> | - | + |
| 2 | 1.5.2 | <i>E. faecalis</i> | - | + |
| CAT: catalasa y BE: Bilis esculina | | | | |

Elaborado por: Edwin Chicaiza

ANEXO N°6

Interpretación de la zona de inhibición para la familia
Enterobacteriaceae y Enterococcaceae según CLSI

- Tabla 2D. Interpretación del diámetro de la zona de inhibición por el método de difusión para: *Enterococcus* spp. (Adaptado del CLSI, Tabla 2D – M2- Disk Diffusion 2019).

Condiciones para la prueba:
 Medio: Mueller-Hinton Agar
 Incubación: 35 ±°C. 16-18 horas
 24 horas para Vancomicina
 Vancomicina—24 horas

Control de Calidad:
Staphylococcus aureus ATCC 25923

| Antimicrobiano | | Contenido del disco (ug) | Diámetro en mm | | |
|-----------------|-----|--------------------------|----------------|-------|------|
| | | | S | I | R |
| Penicilina | P | 10 unidades | ≥ 15 | - | ≤ 14 |
| Ampicilina | AMP | 10 | ≥ 17 | - | ≤ 16 |
| Vancomicina | VA | 30 | ≥ 17 | 15-16 | ≤ 14 |
| Eritromicina | E | 15 | ≥ 23 | 14-22 | ≤ 13 |
| Tetraciclina | TE | 30 | ≥ 19 | 15-18 | ≤ 14 |
| Doxiciclina | DOC | 30 | ≥ 16 | 13-15 | ≤ 12 |
| Miniciclina | MC | 30 | ≥ 19 | 15-18 | ≤ 14 |
| Ciprofloxacina | CIP | 5 | ≥ 21 | 16-20 | ≤ 15 |
| Levofloxacina | LEV | 5 | ≥ 17 | 14-16 | ≤ 13 |
| Norfloxacina | NOR | 10 | ≥ 17 | 13-16 | ≤ 12 |
| Nitrofurantoina | F | 300 | ≥ 17 | 15-16 | ≤ 14 |
| Fosfocina | FOS | 200 | ≥ 16 | 13-15 | ≤ 12 |
| Cloranfenicol | CL | 30 | ≥ 18 | 13-17 | ≤ 12 |

Redeferencia
OK

Fuente: Hindler J, Schuetz A. *CLSI Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Rev.CLSI. [Internet] [citado 10 de sep 2019]; 4(1). Disponible en: https://clsi.org/media/2962/clsi_ast_newsupdate_vol4issue1_jan2019_final.pdf.

Tabla 2'. Interpretación del diámetro de la zona de inhibición por el método de difusión para: Enterobacteriaceae (Adaptado del CLSI, tabla 2 A. Disk Diffusion 2019)

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Condiciones para la prueba: Medio: Mueller-Hinton Agar Incubación: 35 ±2°C, 16-18 horas | Control de Calidad: Escherichia coli ATCC 25922 Escherichia coli ATCC 35218 (betalactamasas) |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|

| Antimicrobiano | Símbolo | Contenido del disco (µg) | Diámetro en mm | | |
|----------------------------|------------|--------------------------|----------------|------------------|--------------|
| | | | S | I | R |
| Ampicilina | AMP | 10 | ≥ 17 | 14 -16 | ≤13 |
| Piperacilina | PIP | 100 | ≥ 21 | 18 -20 | ≤ 17 |
| Amoxicilina/Ac. Clav | AMC | 20/10 | ≥ 18 | 14 -17 | ≤ 13 |
| Ampicilina/Sulbactam | AMS | 10/10 | ≥ 15 | 12 -14 | ≤ 11 |
| Piperacilina/Tazobactam | PTZ | 100/10 | ≥ 21 | 18 -20 | ≤ 17 |
| Cefazolina | KZ | 30 | ≥ 23 | 20 -22 | ≤ 19 |
| Cefalotina | CF | 30 | ≥ 18 | 15 -17 | ≤ 14 |
| Cefopime | FEP | 30 | ≥ 18 | 15 -17 | ≤ 14 |
| Cefoxitina | FOX | 30 | ≥ 18 | 15 -17 | ≤ 14 |
| Cefotaxima o Ceftriaxona | CTX CRO | 30 | ≥ 26 ≥ 23 | 23 -25 20 -22 | ≤ 22 ≤ 19 |
| Ceftazidima | CAZ | 30 | ≥ 21 | 18 -20 | ≤ 17 |
| Cefuroxime | CXM | 30 | ≥ 18 | 15 -17 | ≤ 14 |
| Aztreonam | ATM | 30 | ≥ 21 | 18 -20 | ≤ 17 |
| Imipenem | IMP | 10 | ≥ 23 | 20 -22 | ≤ 19 |
| Meropenem | M | 10 | ≥ 23 | 20 -22 | ≤ 19 |
| Gentamicina | GN | 10 | ≥ 15 | 13 -14 | ≤ 12 |
| Amikacina | AK | 30 | ≥ 17 | 15 -16 | ≤ 14 |
| Kanamicina | K | 30 | ≥ 18 | 14 -17 | ≤ 13 |
| Ciprofloxacina | CIP | 5 | ≥ 26 | 22 -25 | ≤ 21 |
| Levofloxacina | LEV | 5 | ≥ 22 | 15 -21 | ≤ 14 |
| Norfloxacina | NOR | 10 | ≥ 17 | 13 -16 | ≤ 12 |
| Ac. Nalidixico | NA | 30 | ≥ 19 | 14 -18 | ≤ 13 |
| Trimetoprim-Sulfametoxazol | SXT | 1.25 /23.75 | ≥ 16 | 11 -15 | ≤ 10 |
| Cloranfenicol | C | 30 | ≥ 18 | 13 -17 | ≤ 12 |
| Nitrofurantoina | F | 300 | ≥ 17 | 15 -16 | ≤ 14 |
| Fosfomicina | FOS | 200 | ≥ 16 | 13 -15 | ≤ 12 |
| Tetreaciclina | TE | | ≥ 15 | 12 -14 | ≤ 11 |

Ag. Bacterias
Antibióticos ≥ 13 ≤ 12

Fuente: Hindler J, Schuetz A. *CLSI Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Rev.CLSI. [Internet] [citado 10 de sep 2019]; 4(1). Disponible en: https://clsi.org/media/2962/clsi_ast_newsupdate_vol4issue1_jan2019_final.pdf.

ANEXO N°7

Resultados del antibiograma realiza a las bacterias gramnegativas de interés clínico conjuntamente con su interpretación según la guía de internacional CLSI

| N° | Cepa | Cod. | Bacterias | CN | | K | | CT | | TE | | CIP | | AN | | SXT | | CRO | |
|----|------|---------------|------------------------|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | | mm | Int | mm | Int | mm | Int | Mm | Int | Mm | Int | Mm | Int | Mm | Int | mm | Int |
| 1 | 1 | 1.1.1 | <i>C. freundii</i> | 19 | S | 20 | S | 0 | R | 12 | S | 30 | S | 30 | S | 20 | S | 32 | S |
| 2 | 2 | 1.1.2 | <i>C. freundii</i> | 17 | S | 17 | S | 15 | S | 24 | S | 32 | S | 24 | S | 27 | S | 27 | S |
| 3 | 3 | 1.2.1 (AS) | <i>C. freundii</i> | 20 | S | 21 | S | 16 | S | 23 | S | 30 | S | 30 | S | 28 | S | 33 | S |
| 4 | 4 | 1.2.2 | <i>C. freundii</i> | 20 | S | 21 | S | 0 | R | 0 | R | 36 | S | 32 | S | 22 | S | 24 | S |
| 5 | 1 | 1.3.1 | <i>E. cloacae</i> | 16 | S | 15 | I | 0 | R | 11 | R | 27 | S | 26 | S | 17 | S | 30 | S |
| 6 | 2 | 1.3.2 AS | <i>E. cloacae</i> | 16 | S | 16 | S | 0 | R | 12 | I | 30 | S | 25 | S | 17 | S | 28 | S |
| 7 | 1 | 1.3.2 AM | <i>A. sobria</i> | 17 | S | 17 | S | 15 | S | 30 | S | 34 | S | 34 | S | 24 | S | 35 | S |
| 8 | 5 | 1.4.2 | <i>C. freundii</i> | 17 | S | 16 | S | 13 | I | 19 | S | 24 | S | 24 | S | 25 | S | 27 | S |
| 9 | 2 | 1.5.1 | <i>A. sobria</i> | 14 | I | 15 | I | 14 | I | 27 | S | 30 | S | 32 | S | 37 | S | 26 | S |
| 10 | 1 | 1.5.1 | <i>P. shigelloides</i> | 17 | S | 17 | I | 13 | I | 26 | S | 28 | S | 20 | S | 26 | S | 32 | S |
| 11 | 2 | 1.5.2 | <i>P. shigelloides</i> | 15 | S | 19 | S | 0 | R | 13 | I | 27 | S | 22 | S | 16 | S | 22 | S |
| 12 | 1 | 1.6.1 | <i>C. amalonaticus</i> | 16 | S | 15 | I | 13 | S | 27 | S | 30 | S | 32 | S | 20 | S | 37 | S |
| 13 | 1 | 1.6.1 | <i>M. morgani</i> | 16 | S | 18 | S | 13 | S | 30 | S | 30 | S | 30 | S | 20 | S | 30 | S |
| 14 | 1 | 1.6.2 | <i>K. pneumoniae</i> | 15 | S | 15 | I | 12 | S | 26 | S | 30 | S | 22 | S | 23 | S | 31 | S |

CN: gentamicina de baj carga; K: kanamicina; CT: colistin; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; AN: ácido nalidixico, SXT: sulfa trimetropin; CRO: ceftriaxone

Parte 1

| N° | Cep a | Cod. | Microorganismo s | CAZ | | IPM | | ATM | | AZM | | AX | | AMC | | FOX | | CTX | |
|----|----------|---------------|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | | mm | Int | Mm | Int | mm | Int | Mm | Int | Mm | Int | Mm | Int | mm | Int | Mm | Int |
| 1 | 1 | 1.1.1 | <i>C. freundii</i> | 34 | S | 30 | S | 36 | S | 13 | S | 25 | S | - | - | 25 | S | - | - |
| 2 | 2 | 1.1.2 | <i>C. freundii</i> | 25 | S | 30 | S | 32 | S | 12 | R | 21 | S | - | - | 0 | R | - | - |
| 3 | 3 | 1.2.1 (AS) | <i>C. freundii</i> | 32 | S | 30 | S | 34 | S | 18 | S | 20 | S | - | - | 0 | R | - | - |
| 4 | 4 | 1.2.2 | <i>C. freundii</i> | 34 | S | 34 | S | 33 | S | 14 | R | 25 | S | - | - | 24 | S | - | - |
| 5 | 1 | 1.3.1 | <i>E. cloacae</i> | 28 | S | 26 | S | 33 | S | 12 | R | 23 | S | - | - | 19 | S | - | - |
| 6 | 2 | 1.3.2 AS | <i>E. cloacae</i> | 30 | S | 27 | S | 30 | S | 12 | R | 22 | S | - | - | 19 | S | - | - |
| 7 | 1 | 1.3.2 AM | <i>A. sobria</i> | 30 | S | 24 | S | 35 | S | 26 | S | 10 | R | - | - | 30 | S | - | - |
| 8 | 5 | 1.4.2 | <i>C. freundii</i> | 25 | S | 23 | S | 31 | S | 15 | S | 0 | R | - | - | 0 | R | - | - |
| 9 | 2 | 1.5.1 | <i>A. sobria</i> | 26 | S | 21 | I | 34 | S | 20 | S | 10 | R | - | - | - | - | - | - |
| 10 | 1 | 1.5.1 | <i>P. shigelloides</i> | 22 | S | 23 | S | 33 | S | 8 | R | 14 | I | - | - | - | - | - | - |
| 11 | 2 | 1.5.2 | <i>P. shigelloides</i> | 25 | S | 27 | S | 32 | S | 11 | R | 24 | S | - | - | - | - | - | - |
| 12 | 1 | 1.6.1 | <i>C. amalonaticus</i> | 25 | S | 22 | I | 33 | S | 26 | S | 9 | R | - | - | 27 | S | - | - |
| 13 | 1 | 1.6.1 | <i>M. morgani</i> | 26 | S | 22 | I | 30 | S | 19 | S | 0 | R | - | - | 19 | S | - | - |
| 14 | 1 | 1.6.2 | <i>K. pneumoniae</i> | 30 | S | 21 | I | 30 | S | 13 | S | 0 | R | 0 | R | 0 | R | 31 | S |

CAZ: ceftazidime; IMP: imipenem; ATM: aztreonam. AZM: azitromicina; AX: amoxicilina; FOX: cefoxitin, AMC: amoxicilina/ácido, clavulánico; CTX: Cefotaxima

Parte 2

Elaborado por: Edwin Chicaiza

Anexo N° 8

Resultados del antibiograma de las Bacteria Gram
positiva realizado a *Enterococcus faecalis* e
Interpretación de acuerdo a la guía Internacional CLSI

| N° | Cod. | Microorganismos | CN | | K | | TE | | CIP | | VA | | AX | | P | |
|----|-------|--------------------|----|-----|----|-----|----|-----|-----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|
| | | | Mm | Int | mm | Int | Mm | Int | Mm | Int | mm | Int | mm | Int | mm | Int |
| 1 | 1.4.1 | <i>E. faecalis</i> | 20 | R | 20 | R | 31 | S | 20 | I | 0 | R | 30 | S | 0 | R |
| 2 | 1.5.2 | <i>E. faecalis</i> | 20 | R | 0 | I | 17 | I | 32 | S | 0 | R | 27 | S | 0 | R |

CN: gentamicina de baj carga; K: kanamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; VA: vancomicina; AX: amoxicilina; P: penicilina,

Elaborado por: Edwin Chicaiza

ANEXO N°9

Evidencias Fotográficas



Imagen 4: Comunidad Santa Martha recolección de lechuga

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH

A



B



Imagen 5: Comunidad Sobol-Llinllin (A) recolección de papa, (B) lugar de la recolección.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.



Imagen 6: Parque Lineal Chibunga recolección de maíz.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.



Imagen 7: Comunidad San Luis (A) toma de muestra de brócoli (B) localización del brócoli

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.



Imagen 8: Pre-erequecimiento (A) Preparación de agua peptonada, (B) trasvase del agua peptonada a tubos de ensayo estériles, (C) muestras sumergidas en agua peptonada, (D) incubación de las muestras a 37°C y (E) trasvase de bacterias en 9ml de agua peptonada.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.



Imagen 9: Siembra de las cepas (A) siembras en agar Sangre y MacConkey, (B) incubación de las cepas a 37° C.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH



Imagen 10: Siembra en batería bioquímica de enterobacterias (A) Preparación de materiales para la batería bioquímica, (B) Inoculación de bacterias en la batería bioquímica.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

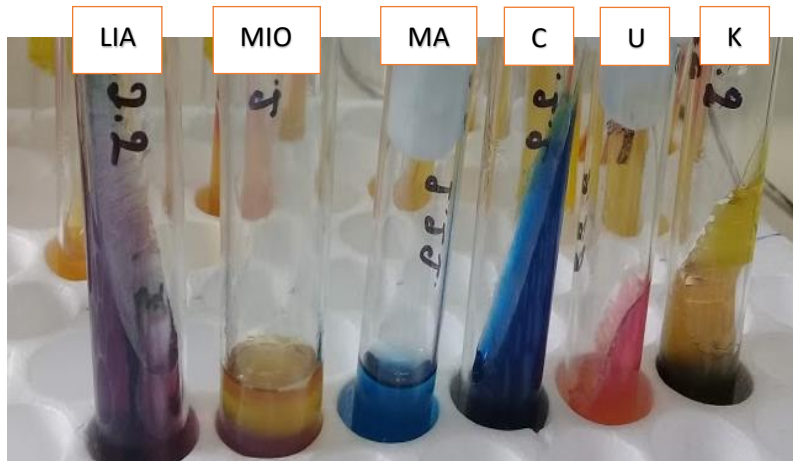


Imagen 11: Lectura de batería bioquímica: Kliger (**K**) : Fermentación de lactosa, glucosa, productora de gas y H₂S. Ureasa (**U**) positiva por la presencia de la ureasa. Citrato(**C**) Positivo porque el medio como única fuente de carbono. Malonato (**MA**): Positivo por el uso del medio como fuente de carbono. Motilidad, Indol y Ornitina (**MIO**): Motilidad Positiva por el crecimiento de bacterias, Indol negativo no presenta el anillo y Ornitina negativo. Lisina Iron Agar (**LIA**): Negativo.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

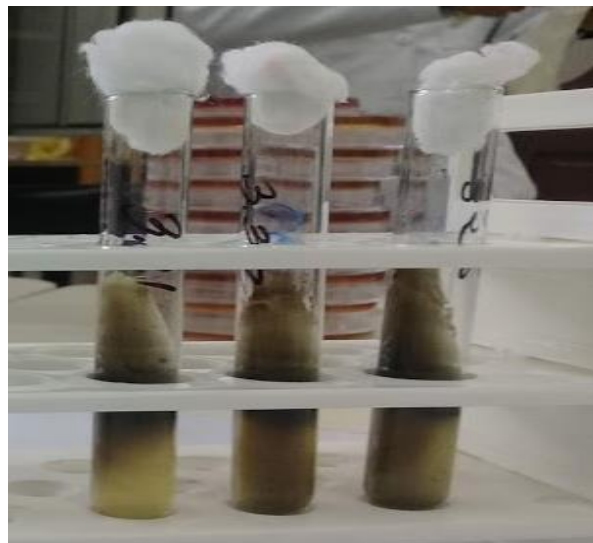


Imagen 12: Bilis esculina positiva por el color negro.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.



Imagen 13: Antibiograma (A) Resiembra de las cepas bacterianas para su purificación (B).
Resiembra en agar Müller Hilton para el antibiograma (C) Colocación de los discos de antibióticos.

Fuente: Chicaiza E. Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga. UNACH.

ANEXO N°10

Aprobación del Título de Investigación



DECANATO FACULTAD
DE CIENCIAS DE LA SALUD



Riobamba, 14 de mayo de 2019
Oficio No. 0485-RD-FCS-2019

Señor
CHICAIZA GUANOLUIZA EDWIN DARÍO
ESTUDIANTE DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNACH
En su despacho. -

De mi consideración:

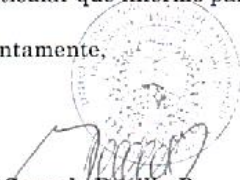
Cumplo con el deber de informar la resolución de Decanato de fecha: martes 14 de mayo de 2019.

RESOLUCIÓN No. 0485-D-FCS-14-05-2019: Aprobar el tema, perfil y Miembros de Tribunales de la carrera de Laboratorio Clínico (Of. No. 287-CLCH-FCS-2019. Aprobación Comisión de Carrera y CID de la Facultad), de acuerdo al siguiente detalle:

| ESTUDIANTE(S) | TEMA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO | TEMA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN REVISADO Y/O REFORMADO POR LA COMISIÓN Y CID | ÁREA DEL CONOCIMIENTO Y LÍNEA DE INVESTIGACIÓN | TRIBUNAL APROBADO ART. 173 TRABAJO ESCRITO | TRIBUNAL APROBADO ART. 174 SUSTENTACIÓN | INFORME DE LA COMISIÓN DE CARRERA | FECHA DE COHORTE | |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| | | | | | | | INICIO DE ESTUDIOS | FIN DE ESTUDIOS |
| Chicaiza Guanoluiza Edwin Darío | Bacterias de interés clínico para el hombre, aisladas de productos agrícolas provenientes de la cuenca del río Chibunga Abril-Julio 2019 | Determinación de bacterias de interés clínico en productos agrícolas con riego del río Chibunga | Área de conocimiento: Ciencias Línea de investigación: Ciencias de la vida Descripción: Microbiología | TUTOR: Mgs. Yisela Carolina Ramos Campi | Presidente: Mgs. Aída Mercedes Balladares Salto Miembro Msc. Félix Atair Falconí Ontaneda Miembro Lic. Eliana Elizabeth Martínez Durán | APROBADO | Octubre 2015 - Febrero 2016 | Abril - agosto 2019 (8vo Semestre) |

Particular que informo para los fines pertinentes.

Atentamente,


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

Adj. Documento de Referencia
C.C.: Archivo

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