



Caracterización microbiológica de muestras de aguas servidas pre filtradas de la comunidad de San Vicente de las casca de la provincia de Chimborazo

(Microbiological characterization of pre-filtered served water samples from San Vicente de las casca community in the province of Chimborazo)

Caracterização microbiológica de amostras de água servida pré-filtrada da comunidade de San Vicente de las casca na província de Chimborazo

Mishell Moreno-Samaniego ^I
mishell.moreno@esepoch.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-5679-5485>

Yomaira Guashpa-Caiza ^{II}
Yomaira.guashpa@gmail.com

Joselyn Ochoa-Pilco ^{III}
Joselyn.ochoa@gmail.com

Correspondencia: mishell.moreno@esepoch.edu.ec

Ciencias Naturales
Artículo Investigación

***Recibido:** 25 de junio ***Aceptado:** 23 de agosto de 2021 * **Publicado:** 2 de septiembre de 2021

- I. Grupo de investigación de Materiales Avanzados, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- II. Investigador Independiente, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- III. Investigador Independiente, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Resumen

Con el incremento poblacional a nivel mundial y la crisis ambiental actual, los recursos naturales se han ido mermando. Es imperativo buscar alternativas para la reutilización de recursos, sobre todo, el agua. En el Ecuador, no se da un tratamiento adecuado para el agua de tipo residual procedente de desecho doméstico, que podría ser reutilizado en otras actividades.

La presente investigación tuvo como objetivo la caracterización microbiológica de aguas servidas pre filtradas de la comunidad de San Vicente de Lajas. El estudio inició con la identificación y clasificación de las especies bacterianas, para lo cual se contó con una metodología de enfoque experimental, aplicando técnicas estandarizadas reflejadas en la norma de análisis microbiológico de agua NTE INEN 2 226:2000 y el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEW). A su vez, se utilizaron los documentos TULSMA y la “Guía de calidad ambiental para aguas del Ecuador”, en la comparación y comprobación de los datos obtenidos. Para la muestra estratégica se contó con el efluente final del proceso de pre filtrado de aguas residuales de la Comunidad San Vicente de Lajas, durante el periodo marzo - mayo de 2021. La caracterización microbiológica se basó en la obtención de cultivos puros mediante las técnicas de siembra por agotamiento en superficie, y aplicación de pruebas bioquímicas para la caracterización e identificación. La determinación de coliformes fecales y coliformes totales se realizó mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples descritos en la guía; para la confirmación de *Escherichia coli* se aplicó la Técnica de Fluorescencia. Adicionalmente, se realizaron antibiogramas mediante la técnica de difusión en agar. Se obtuvo una concentración de 1020nmp/1210nmp de coliformes y un alto grado de multiresistencia por parte de las bacterias *Edwardsiella Tarda*, *Salmonella paratyphi*, *Staphylococcus aureus* y *Shigella flexneri*. La calidad sanitaria de las muestras está fuera de los parámetros microbiológicos permitidos; presentando una alta concentración de coliformes y de las especies bacterianas *Escherichia coli*, *Escherichia coli* inactiva, *Edwardsiella Tarda*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas oryzae*, y *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: Microorganismos; aguas residuales; antibiograma; bacterias; coliformes; fluorescencia.

Abstract

With the population increase worldwide and the current environmental crisis, natural resources have been diminishing. It is imperative to look for alternatives to reuse resources, especially water. In Ecuador, there is no adequate treatment for wastewater from domestic waste, which could be reused in other activities.

The present research aimed at the microbiological characterization of pre-filtered sewage from the community of San Vicente de Lacas. This study began with the identification and classification of the bacterial species, and an experimental approach methodology was used, applying standardized techniques reflected in the standard for microbiological analysis of water NTE INEN 2 226: 2000 and the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEW). In turn, the TULSMA documents and the "Environmental quality guide for waters of Ecuador" were used in the comparison and verification of the data obtained.

For the strategic sample, the final effluent from the pre-filtering process of wastewater from the San Vicente de Lacas Community was used, during the period march - may 2021. The microbiological characterization was based on obtaining pure cultures using the techniques of seeding by surface depletion, and application of biochemical tests for characterization and identification.

The determination of fecal coliforms and total coliforms was performed using the multiple tube fermentation technique described in the guide; for the confirmation of *Escherichia coli*, the Fluorescence Technique was applied.

Additionally, antibiograms were performed using the agar diffusion technique. A concentration of 1100nmp / 1000nmp of coliforms and a high degree of multi-resistance were obtained by the bacteria species *Edwardsiella Tarda*, *Salmonella paratyphi*, *Staphylococcus aureus* and *Shigella flexneri*.

The sanitary quality of the samples is outside the permitted microbiological parameters, presenting a high concentration of coliforms and the bacterial species *Escherichia coli*, inactive *Escherichia coli*, *Edwardsiella Tarda*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomona oryzihabitans*, and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Microorganisms; sewage water; antibiogram; bacteria coliforms; fluorescence.

Resumo

Com o aumento da população mundial e a atual crise ambiental, os recursos naturais vêm diminuindo. É imprescindível buscar alternativas para o reaproveitamento dos recursos, principalmente da água. No Equador, não existe um tratamento adequado para as águas residuais de resíduos domésticos, que poderiam ser reaproveitadas em outras atividades.

A presente pesquisa teve como objetivo a caracterização microbiológica de esgoto pré-filtrado da comunidade de San Vicente de las Casas. O estudo iniciou-se com a identificação e classificação das espécies bacterianas, para as quais foi utilizada metodologia de abordagem experimental, aplicando-se técnicas padronizadas refletidas na norma para análise microbiológica de águas NTE INEN 2 226: 2000 e nos Métodos Padrão para Exame de Água e Águas residuais (SMEW). Por sua vez, os documentos TULSMA e o "Guia de qualidade ambiental para as águas do Equador" foram utilizados na comparação e verificação dos dados obtidos. Para a amostra estratégica, foi utilizado o efluente final do processo de pré-filtragem das águas residuais da Comunidade San Vicente de las Casas, no período de março a maio de 2021. A caracterização microbiológica baseou-se na obtenção de culturas puras utilizando as técnicas de semeadura por superfície esgotamento e aplicação de testes bioquímicos para caracterização e identificação. A determinação de coliformes fecais e coliformes totais foi realizada utilizando a técnica de fermentação em tubo múltiplo descrita no guia; Para a confirmação de *Escherichia coli*, foi aplicada a Técnica de Fluorescência. Além disso, foram realizados antibiogramas pela técnica de difusão em ágar. Uma concentração de 10²0 nmp / 1210 nmp de coliformes e um alto grau de multirresistência foram obtidos pelas bactérias *Edwardsiella Tarda*, *Salmonella paratyphi*, *Staphylococcus aureus* e *Shigella flexneri*. A qualidade sanitária das amostras está fora dos parâmetros microbiológicos permitidos; apresentando alta concentração de coliformes e das espécies bacterianas *Escherichia coli*, *Escherichia coli* inativa, *Edwardsiella Tarda*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas oryzae* e *Staphylococcus aureus*.

Palavras-chave: Microorganismos; águas residuais; antibiograma; bactérias coliformes; fluorescência.

Introducción

En la actualidad, el acceso al agua potable es vital para la vida del ser humano; sin embargo, con el crecimiento demográfico también se ha incrementado la contaminación y se han reducido las fuentes de agua libre de contaminantes (1, 2). Este es uno de los principales problemas que enfrentan las comunidades rurales en la actualidad. Se estima que para el año 2025, el 60 % de la población mundial sufrirá problemas de escasez de agua, principalmente los países que se encuentran en vías de desarrollo (2) .

Ecuador es uno de los países latinoamericanos donde aún persiste la problemática de acceso libre a los recursos básicos como alcantarillado y agua potable. De las 24 provincias que forman parte de la demografía del país, solamente tres cuentan con plantas de tratamiento de aguas residuales, Cuenca, Loja y Guayaquil. Por lo que, el vertimiento de aguas servidas en campos abiertos en las provincias restantes, se realiza sin ningún tratamiento químico o físico autorizado que mejore la calidad del agua; provocando un riesgo potencial para la salud de las comunidades circundantes, además del impacto ambiental en el ecosistema (3, 4, 15)

En el Ecuador, las limitaciones para adquirir agua potable de calidad es un problema muy notorio, especialmente en las zonas rurales; a esto se suma el crecimiento demográfico nacional, generando una sobre explotación del recurso y el deterioro de su cobertura vegetal natural. Por lo tanto, es urgente tomar medidas de gestión ambiental que permitan recuperar estas fuentes de agua que ya han sido utilizadas y se encuentran a disposición de la población para su reúso.

En el año 2018, se estimó que las enfermedades que se transmitieron por ingerir agua y alimentos contaminados en nuestro país alcanzaron los 24.000 casos anuales en las 24 provincias del país. En la provincia de Chimborazo, en el año 2019, se reportaron 175 casos de hepatitis A en niños de 5-10 años; infecciones por Salmonella, Fiebre Tifoidea y Paratifoidea en personas de 21-49 años, y 6 casos de Shigelosis que afectaron a niños de 1-4 años. Estos datos indican graves deficiencias en el sistema de salud pública, especialmente en las zonas rurales de la provincia que carecen de servicios sanitarios básicos (8, 9, 10).

El agua es el recurso natural más usado para el desarrollo de las actividades cotidianas del ser humano como tareas domésticas, pecuarias, agrícolas, acuícolas y/o recreación. La creciente

contaminación de las fuentes de agua ha hecho que su calidad disminuya y se convierta en un problema para el ser humano. Para la identificación de estos contaminantes son necesarios estudios físicos, químicos y microbiológicos (11).

Dentro de los contaminantes inorgánicos más comunes que se pueden encontrar en el agua están el arsénico, plomo y mercurio; y dentro de los contaminantes biológicos tenemos a las coliformes fecales y coliformes totales, indicadores de contaminación con heces fecales humanas o de animales; presentando un alto riesgo para la salud especialmente en personas con el sistema inmune comprometido (12, 13).

Para el análisis de la calidad del agua, se deben tomar en cuenta varios factores como la naturaleza del agua; es decir, si es potable, superficial, embotellada, de ríos, quebradas, lagos o residuales, su localización o ubicación geográfica, su utilización y su destino (14).

Se denomina agua residual a la que incluye aguas negras, domésticas y urbanas, que han sido contaminadas con residuos líquidos industriales y/o mineros; así como también a las aguas que se mezclaron con aguas pluviales o naturales. Su importancia es tal que requieren sistemas de canalización, tratamiento y desalojo (15, 16).

Las aguas servidas se pueden clasificar en 3 tipos que son: domésticas, urbanas e industriales. Las de tipo doméstico son aquellas que provienen de las viviendas y que son generadas por actividades domésticas; las urbanas son aquellas mezclas de aguas domésticas y aguas pluviales; y las de tipo industrial corresponden a las aguas vertidas por instituciones o establecimientos que desempeñan una actividad comercial y/o industrial (17).

Las aguas de tipo residual presentan diferentes características microbiológicas, las cuales aportan gran cantidad de materia orgánica que sirve de alimento para hongos y bacterias que se encargan de la descomposición de dicha materia (18).

En una muestra de agua, se determina la presencia de ciertas especies bacterianas con el objetivo de conocer la calidad sanitaria de esta. En el agua pueden encontrarse una gran variedad de microorganismos, los cuales afectan en mayor o menor medida a la calidad sanitaria del agua. En el caso de determinar la presencia de microorganismos patógenos del género *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*, *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* y *Flavobacterium*; se asume

que la fuente principal de contaminación es materia fecal, vehículo de transmisión de este tipo de patógenos (19, 20). En este estudio, se ha realizado la determinación y caracterización microbiológica de muestras procedentes de aguas servidas previamente filtradas mediante procesos mecánicos, con el fin de analizar y mejorar las condiciones sanitarias de la población.

Métodos o metodología

Se aplicaron métodos inductivos deductivos y técnicas basadas en normas estandarizadas nacionales e internacionales como la NTE INEN 2 226:2000 y el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEW) (23). A su vez, para la comparación y comprobación de datos, se utilizaron los documentos TULSMA y la guía de calidad ambiental para aguas del Ecuador (21).

Con este enfoque metodológico, se detallan a continuación las acciones realizadas:

2.1 Toma de muestra y análisis de laboratorio

Para la caracterización microbiológica de aguas residuales, se siguieron los parámetros que guían las Normas NTE INEN 2 169: 98, NTE INEN 2176 y la norma NTE INEN 2 226: 2000. Estas normas establecen aspectos generales de calidad, muestreo, manejo y conservación de muestras (22, 23).

Se recogieron 2 muestras puntuales de las zonas de salida del agua tratada, este proceso se lo realizó en dos fechas distintas en los meses de marzo - mayo 2021. Las muestras se transportaron manteniendo condiciones estériles, libre de luz y a una temperatura de 2-5 °C hasta su análisis en el laboratorio. Las muestras se conservaron por un máximo de 8 horas en refrigeración

Se seleccionaron medios de cultivo aptos para el crecimiento bacteriano mixto como agar nutritivo y agar sangre para el crecimiento de microorganismos aerobios estrictos. Además, se usaron medios selectivos como agar McConkey, agar Hektoen, agar Salmonella Shigella, caldo verde bilis brillante, caldo lactosado y caldo EC Mug (24).

2.2 Determinación bacteriana

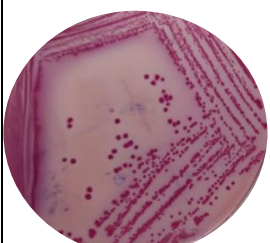
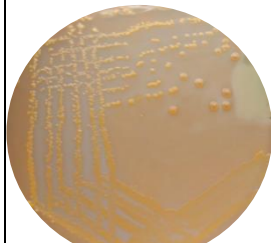
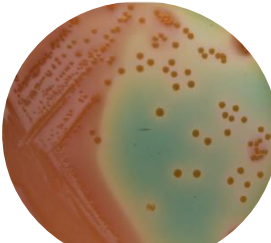
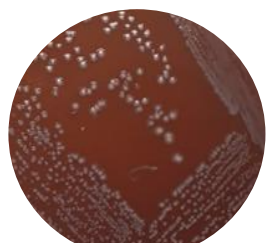
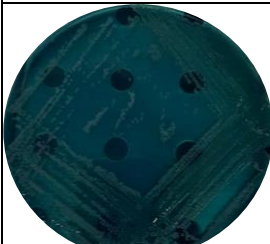

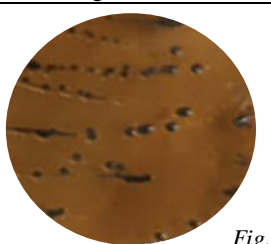
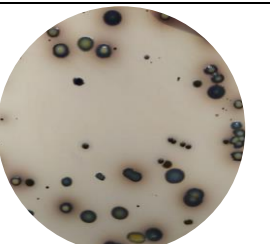
Para la determinación bacteriana, se siguieron los parámetros establecidos para el género y la especie, en el manual de técnicas de microbiología clínica de Álvarez & Bouquet (25).

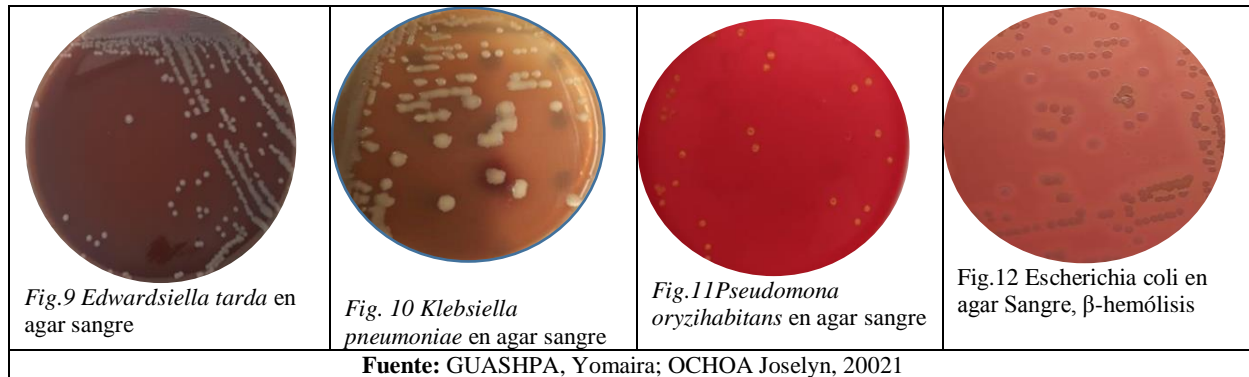
Después de la siembra e incubación de las muestras en los medios nutritivos, se utilizaron varias pruebas bioquímicas con el fin de identificar las reacciones químicas que se dan entre el microorganismo y el sustrato: TSI, Urea, SIM, Citrato, manitol, LIA, Lactosa, oxidasa e Indol.

Mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples, se identificaron coliformes fecales y totales.

Posterior a la identificación de las especies bacterianas presentes en base a las pruebas bioquímicas, se realizaron pruebas de resistencia antibiótica bacteriana. Se tomaron colonias puras de cada microorganismo previamente inoculado y se impregnaron los discos de antibióticos en la superficie del agar. Transcurridas entre 18-24 horas de incubación, se realizó la lectura de las cajas; los halos de inhibición se interpretaron como sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) (26, 27).

Resultados

| Tabla N° 1 | | | |
|---|---|---|---|
| Colonias puras aisladas en su medio de cultivo | | | |
|  <p>Fig. 1 <i>Escherichia coli</i> en agar MacConkey</p> |  <p>Fig.2 <i>Escherichia coli</i> inactivo en agar MacConkey</p> |  <p>Fig.3 <i>Escherichia coli</i> en agar Hektoen</p> |  <p>Fig.4 <i>Escherichia coli</i> en agar sangre</p> |
|  <p>Fig.5 <i>Shigella flexneri</i> en agar Hektoen</p> |  <p>Fig.6 <i>Salmonella paratyphi</i> en agar Hektoen</p> |  <p>Fig.7 <i>Salmonella paratyphi</i> en agar SS</p> |  <p>Figura.8 <i>Staphylococcus aureus</i> en agar Baird Parker</p> |



A partir de la identificación microbiológica de las muestras recolectadas y analizadas en el periodo marzo – mayo 2021, se aislaron 8 bacterias de importancia clínica; 7 de estas especies microbianas se identificaron como bacilos gram negativos, mientras que uno de los aislamientos puros evidenciaba presencia de cocos gram positivos.

Como podemos observar en la Tabla N°1, Figura 1, se evidencian las características morfológicas generales de las colonias de *E. coli* aisladas en agar MacConkey; se observa un crecimiento constante de colonias redondas de borde circular, con un tamaño entre los 2 – 4 mm y un color rosa pálido que contrasta con el color fucsia intenso de todo el medio. La coloración del medio se debe a la producción de ácidos que descienden el pH por la fermentación de la lactosa. Las colonias de *E. coli* fermentadoras de lactosa cultivadas en agar Hektoen que se observan en la Figura 3, forman colonias redondas de bordes circulares y color salmón, provocando un viraje de color en el medio de verde a naranja intenso. En cuanto a su crecimiento en agar sangre Figura 4, las colonias de *E. coli* presentaron colonias de color crema blanquecino brillante con elevación convexa a su alrededor.

Algunas colonias presentaron beta hemólisis que se observa como un halo transparente alrededor de la colonia, Figura 12 Por otro lado, en la Figura 2, se observan colonias de *E. coli* inactiva en agar McConkey, no presentan fermentación de lactosa, las colonias son incoloras y tornaron el medio de un color rosa a un color naranja pálido. Otra especie bacteriana que se observó en agar Hektoen fue *Shigella flexneri*, presentando su coloración característica verde claro en la formación de sus colonias, Figura 5 (33).

En la Figura 6 podemos advertir la presencia de *Salmonella paratyphi* en agar Hektoen con un crecimiento regular de colonias pequeñas verdosas azuladas y su centro negro; mientras que, en el medio Agar SS la misma bacteria, evidenció un crecimiento de colonias redondas de color negro,

virando el color del medio de rosa claro a un color naranja pálido Figura 7. En la Figura 8, se puede observar el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker, presentando colonias negras, algunas con precipitación de color crema y otras con halos difuminados de color negro alrededor de las colonias.

En un cultivo inicial en el medio agar sangre, se evidenció el crecimiento de una amplia variedad de bacterias como *Edwardsiella tarda*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas oryzae*. Después de aislar cada especie, *Edwardsiella tarda* presenta colonias de bordes irregulares, cremosas y de tamaño aproximado de 2 mm, Figura 9, mientras que, las colonias de *Klebsiella pneumoniae*, formaban colonias grandes cremosas con bordes circulares Figura 10.


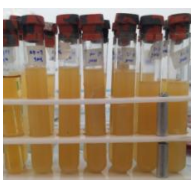
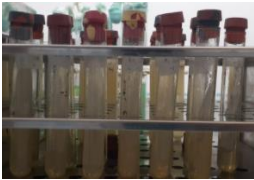

Por último, las colonias de *Pseudomonas oryzae* presentaron morfología rugosa y una coloración amarilla, no presentaron hemólisis y su color amarillo característico se observó transcurridas las 48 horas, Figura 11 (28, 29).

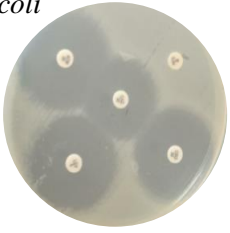

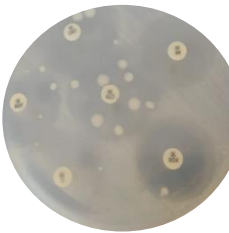
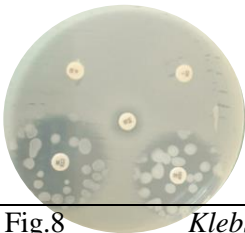
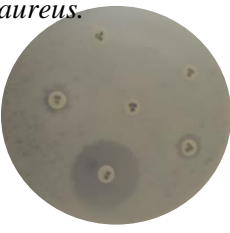
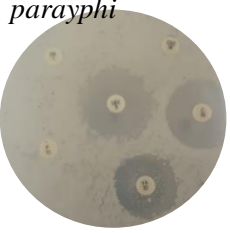
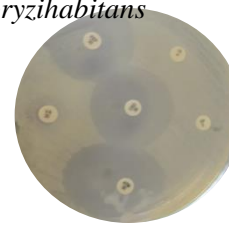
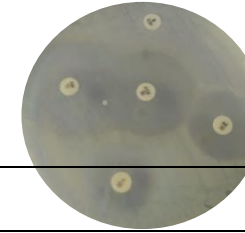
| Tabla N° 2 | | | | | | | | | | |
|---|-----|---------|-------------|---------|-------|---------|-----------|------|-----|----------------------------------|
| Pruebas bioquímicas para la identificación de enterobacterias | | | | | | | | | | |
| Glucosa | SH2 | Lactosa | Gas/Glucosa | Citrato | Indol | Manitol | Movilidad | Urea | LIA | Bacteria |
| + | - | + | + | - | + | + | + | - | - | <i>Escherichia coli</i> |
| + | - | - | - | - | + | + | - | - | - | <i>Escherichia coli inactivo</i> |
| + | - | - | - | - | - | + | - | - | + | <i>Shigella flexneri</i> |
| + | + | - | + | - | - | + | - | - | - | <i>Edwardsiella tarda</i> |
| + | - | + | + | + | - | + | - | + | - | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| + | + | - | + | - | - | + | + | - | + | <i>Salmonella paratyphi</i> |
| + | - | - | - | - | - | + | + | + | - | <i>Pseudomonas oryzae</i> |

Fuente: GUASHPA, Yomaira; OCHOA Joselyn, 20021

Las pruebas bioquímicas son clave para la identificación de las diferentes especies bacterianas. Las bacterias gram positivas fueron sometidas a la prueba de catalasa, que evidenció la presencia de burbujas para *S. aureus*; y a la prueba de manitol, que presentó un viraje del medio, de fucsia a un color amarillo intenso.

Las bacterias gram negativas fueron evaluadas con una serie de pruebas bioquímicas, los resultados fueron comparados con los valores establecidos por el manual de técnicas de microbiología clínica de Álvarez & Bouquet (28), del año 2016. A partir de los resultados obtenidos en dichas pruebas, se identificaron 6 especies bacterianas: *Escherichia coli*, *Escherichia coli* inactiva, *Shigella flexneri*, *Edwardsiella tarda*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi* y *Pseudomonas oryzae*, resultados que se detallan en la Tabla N° 2

| Tabla N° 3 | | | |
|--|---|---|--|
| <i>Determinación del Número más probable para Coliformes Totales, Coliformes fecales y Escherichia coli</i> | | | |
| Pruebas confirmatorias | | | |
| Caldo verde bilis brillante al 2%  | Caldo EC fecales  | Caldo EC Mug <i>E. coli</i>  | Caldo EC Mug <i>E. coli</i>  |
| Fuente: GUASHPA, Yomaira; OCHOA Joselyn, 2021 | | | |

| Tabla N° 5 | | | |
|---|---|---|--|
| <i>Antibiogramas, pruebas de sensibilidad y resistencia</i> | | | |
| Fig.1 <i>Escherichica coli</i>  | Fig.2 <i>Escherichia coli inactiva</i>  | Fig. 3 <i>Shigella flexney</i>  | Fig.4 <i>Edwardsiella tarda</i>  |
| Fig.5 <i>Staphylococcus aureus.</i>  | Fig.6 <i>Salmonella parayphi</i>  | Fig. 7 <i>Pseudomona oryzihabitans</i>  | Fig.8 <i>Klebsiella pneumoniae</i>  |
| Fuente: GUASHPA, Yomaira; OCHOA Joselyn, 20021 | | | |

Al analizar 27 antibiogramas de las 8 bacterias aisladas (Tabla N°5), el promedio de resistencia que presentaba *E. coli*, Figura 1, y *E. coli* inactiva, Figura 2, fue del 50%; presentando una mayor resistencia al grupo de las cefalosporinas como Cefotaxima y Cefonicida; y a quinolonas como el Ácido nalidixídico, Ofloxacina y Ciprofloxacina. Además, una sensibilidad del 50% frente a Cefuroxima, Amikacina, Amoxicilina + ácido clavulánico y a antibióticos polipéptidos como la Colistina. Mientras que *S. flexnery*, Figura 3, presentó una resistencia común a antibióticos como Cloranfenicol, Trimetropin, Ampicilina, Tetraciclina y Sulfametoxazol. Sin embargo, no solo se evidenció resistencia sino también multiresistencia sobre Ampicilina y Tetraciclina. Esta resistencia se da por la variedad de fenotipos e integrones que están incorporados en el cromosoma bacteriano que permite el intercambio del material genético entre cepas.

En la Figura 4, *Edwardsiella tarda* presentó resistencia frente a Penicilina, Clindamicina, Colistina, Eritromicina y Aztreonam; mientras que, los resultados de sensibilidad frente a la mayoría de los

antibióticos fueron especialmente hacia Beta lactámicos, Quinolonas y Fosfomicina. En la Figura 5, observamos que antibióticos como Eritromicina y Ciprofloxacino no solo presentaron resistencia sino también co-resistencia, frente a *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, *Salmonella paratyphi* no solo presentó resistencia a Ácido nalidíxico y Ciprofloxacina, sino que también presentó multiresistencia frente a Cloranfenicol, Ampicilina y Tetraciclina. La resistencia principal a Cloranfenicol se debe a una modificación enzimática plasmídica o cromosómica, y también a cambios en la permeabilidad de la membrana externa Figura 6.

Mientras que en el antibiograma de la Figura 7, presentó una amplia sensibilidad a antibióticos como Piperacilina, Imipenem, Amoxicilina + Ácido clavulánico, Amikacina, Ciprofloxacina, Ofloxacina, y Gentamicina. Mientras que, los antibióticos como Clindamicina, Vancomicina, Amikacina y Oxacilina, presentaron una buena efectividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas oryzae*.

Klebsiella pneumoniae, al ser un tipo bacteriano productor de BLEE, presentó un perfil de sensibilidad a las Cefamicinas, inhibidores de betalactamasas y a las Cefalosporinas de cuarta generación; a la vez mostraron resistencia frente a Amoxicilina, Cefoxitina, Gentamicina y Ceftriaxona Figura 8.

DISCUSIÓN

La presente investigación proporciona una información relevante sobre la presencia de bacterias patógenas indicadoras de contaminación fecal, que en base a muestras obtenidas en el período marzo/mayo 2021, se identificó la presencia de bacilos gram negativos como *Escherichia coli*, *Escherichia coli* inactivo, *Shigella flexneri*, *Edwardsiella tarda*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi* y *Pseudomonas oryzae*; así como también, la presencia de cocos gram positivos como *Staphylococcus aureus*, microbiota característica de fuentes hídricas contaminadas. Los resultados obtenidos concuerdan con evidencias presentadas por Ríos en el 2017 (2, 30). Donde se establecieron indicadores microbiológicos sobre la calidad del agua que evidencia la presencia de bacterias que provienen de la microbiota saprofita intestinal de animales

y humanos como coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli*, bacterias mesófilas y estreptococos fecales. Las condiciones de pH, nutrientes como materia orgánica e inorgánica, temperatura y oxígeno que contiene el agua residual, facilita el desarrollo y multiplicación de estas especies patógenas (34). Otro grupo de bacterias contaminantes que se encontraron en esta investigación pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, enterobacterias, bacterias anaerobias facultativas no esporuladas, bacterias fermentadoras de lactosa y productoras de gas; siendo estos los principales bioindicadores de contaminación de agua. Además, se evidenció presencia de bacterias del género *Edwardsiella* y *Klebsiella*, que se encuentran asociadas a tratamientos inadecuados de agua, contaminación posterior a tratamientos físicos o a contaminación fecal (32).

Por otro lado, en una investigación realizada por Silva en 2015, se evidenció la presencia de *Pseudomonas oryzihabitans*; una bacteria poco común que puede ser aislada de manera típica en suelos, aguas estancadas y desagües; además su aislamiento en muestras clínicas es poco frecuente ya que es causante de sepsis, bacteremias o peritonitis en pacientes inmunodeprimidos (28, 29).

Mediante la comparación de los resultados con tablas del manual de técnicas de microbiología clínica de Álvarez & Bouquet del 2016 (25). Se confirmó la presencia de bacterias como *Escherichia coli*, *Escherichia coli* inactiva, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Edwardsiella tarda*, *Shigella flexneri*, *Salmonella paratyphi*.

En la determinación del número más probable para coliformes fecales, totales y *Escherichia coli*; se evidencia una alta presencia de *Escherichia coli* que, según Hernández et al., (31). La alta tasa de contaminación se debe a que el tratamiento físico es insuficiente; este proceso no reduce la carga de coliformes ni las especies bacterianas patógenas encontradas.

Mediante los análisis cuantitativos, se encontró que el nivel de concentración de coliformes fecales y totales se encontraban entre los rangos de 1020 - 1210 nmp que supera el nivel máximo permitido según los parámetros TULSMA. Estos valores coinciden con los datos obtenidos en la investigación realizada por Rondón en el año 2020 (32).

Según fuentes de la OMS, en el 2020 la resistencia que presentó *Escherichia coli* a flouoroquinolonas es frecuente en varias partes del mundo. Siendo Colistina un tratamiento alternativo para infecciones causadas por *E.coli* en la actualidad. Sin embargo, la combinación de

antibióticos betalactámicos, inhibidores de betalactamasas, puede ser una alternativa para el tratamiento de infecciones graves por esta clase de microorganismos (10).

Por otro lado, la multi resistencia de *S. Flexnery* se debe a la coexistencia de múltiples genes resistentes que permiten el intercambio de material genético entre cepas; la multiresistencia presentada en este estudio fue frente a Ampicilina, Cloranfenicol y Aztreonam (35).

La mayoría de las especies de *Edwardsiella* presentan resistencia natural a macrólidos, antifolatos y quinolonas; esta resistencia se le atribuye a la permeabilidad limitada de la membrana externa (36).

P. oryzihabitans presentó una alta sensibilidad a la mayoría de los antibióticos que se aplicaron; esto se debe a que, al ser un

Microorganismo poco común, la susceptibilidad es alta a los antibióticos que se utilizan en la actualidad. Según el estudio realizado por Silva (28) *P. oryzihabitans* presenta sensibilidad frente a Cefalosporinas de tercera y cuarta generación, Aminoglucósidos y Quinolonas; mientras que este microorganismo presenta resistencia a Cefalosporinas de primera y segunda generación.

La gran sensibilidad que *Staphylococcus aureus* presentó a los antibióticos como Clindamicina, Vancomicina, Amikacina y Oxacilina, fue debido a la inhibición de la biosíntesis de la pared celular del microorganismo (37).

CONCLUSIONES

Al culminar la caracterización microbiológica, la presencia de bacterias gram negativas como *Escherichia coli* inactiva, *Escherichia coli*, *Edwardsiella tarda*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella flexnery*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona oryzihabitans* y cocos gram positivos como *Staphylococcus aureus* en las muestras de agua residual pre filtrada, indican una alta tasa de contaminación por lo que esta fuente hídrica sería causante de una serie de enfermedades gastrointestinales y no es apta para el consumo humano ni de animales.

Al evaluar los parámetros microbiológicos obtenidos, podemos concluir que la calidad sanitaria del agua residual pre filtrado de la comunidad San Vicente de las Casas de la provincia de Chimborazo

no se encuentra en condiciones de ser reutilizada. A pesar de que la planta de tratamiento brinda un tratamiento físico, este no es suficiente para disminuir la carga microbiana; esta agua no es apta para la agricultura ni para otras actividades de desarrollo económico o social ya que existe una alta tasa de contaminación bacteriana que presenta multirresistencia antibiótica.

La resistencia bacteriana frente a los antibióticos de uso común en la actualidad es un problema grave de salud pública. Debido al mal uso de los antibióticos, las bacterias han desarrollado una capacidad de adaptación conocida como resistencia adquirida, causada por la modificación de sus genes seguido y por la selección de mutantes resistentes. La evidencia encontrada por otras investigaciones concuerda con los hallazgos obtenidos en el presente estudio y explica de multiresistencia evidenciada en las bacterias *Edwardsiella Tarda*, *Salmonella paratyphi*, *Staphylococcus aureus* y *Shigella flexneri* (37).

Referencias

1. . Tello, Luisa. El acceso al agua potable. UCE, Quito : 2018.
2. Ríos-Tobón S, Agudelo-Cadavid RM, Gutiérrez-Builes LA. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. Rev. Fac. Nac. Salud Pública, 2017; 35(2): 236-247. DOI: 10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08.
3. Nieto, Mireya. Análisis de Aguas residuales. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, s.l. : 2015.
4. Löscha, L. S., Vázquez, M. L. G., Rivasc, M., & Merinoa, L. A. (2015). Detección de genes de virulencia del patotipo enteroagregativo en cepas de *Escherichia coli* aisladas de fuentes de agua subterránea de la provincia del Chaco, Argentina. In Revista Argentina de Microbiología (Vol. 47, Issue 2, pp. 88–94).
5. Arévalo-Arbeláez, Á. J., Bedoya-Urrego, K., Cabarcas-Jaramillo, F., & Alzate-Restrepo, J. F. (2017). Descripción de la microbiota bacteriana residente en el biosólido generado en la planta de tratamiento de aguas residuales San Fernando. Itagüí, Colombia. Revista de Salud Pública, 19(6), 806–813.
6. Marín Galvín, R. (2019). Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos: tratamiento y control de calidad de aguas. Ediciones Díaz de Santos.

7. Muñoz Cruz, A. (2017). Caracterización y tratamiento de aguas residuales. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
8. Apella, M., & Araujo, P. 1, Microbiología de agua. Buenos Aires: s.n., 2016, Solar Safe Water, Vol. 8.
9. Iza, B., & Pamela, D. (2021). Detección de *Staphylococcus aureus* y perfil fenotípico de resistencia a antibióticos en alimentos de restaurantes aledaños a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Central del Ecuador (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
10. OMS. (2018). Agua, saneamiento e higiene. ODS, 1(0), 1–79.
11. FAO. (2018). Contaminación agrícola de los recursos hídricos. Mundi-Prensa, 1(0), 1–338.
12. Larrea-Murrell, Jeny Adina, & Rojas-Badía, Marcia María, & Romeu-Álvarez, Beatriz, & Rojas-Hernández, Nidia Mercedes, & Heydrich-Pérez, Mayra (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, 44(3),24-34.
13. Aguilar Sequeiros, O., & Navarro Alfaro, B. (2018). Evaluación de la calidad de agua para consumo humano de la comunidad de Llañucancho del distrito de Abancay, provincia de Abancay 2017.
14. Terneus-Jácome, E., & Yáñez, P. (2018). Principios fundamentales en torno a la calidad del agua, el uso de bioindicadores acuáticos y la restauración ecológica fluvial en Ecuador. La granja. Revista de Ciencias de la Vida, 27(1), 36-50.
15. Tisalema, A. Caracterización fisicoquímica y bacteriológica de las aguas de la laguna de langos de la zona central del Ecuador. Repositorio UTA. 2019.
16. Cusiche Pérez, L. F., & Miranda Zambrano, G. A. (2019). Contaminación por aguas residuales e indicadores de calidad en la reserva nacional 'Lago Junín', Perú. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 10(6), 1433-1447.
17. Bes, S., Silva, A., & Bengoa, C. Manual técnico sobre procesos de oxidación avanzada aplicados al tratamiento de aguas residuales industriales In Red de tratamiento y reciclaje de aguas industriales mediante soluciones sostenibles fundamentales. 2017. Vol. 5.
18. Peña, S., Mayorga, J., & Montoya, R.. Propuesta de tratamiento de las aguas residuales de la ciudad de Yaguachi (Ecuador) Proposal for the treatment of wastewater from the city of Yaguachi (Ecuador). 39, s.l. : Ciencia e Ingeniería, 2018, Vol. 2. 126

19. Sánchez Gómez, J. A. (2019). El reúso de las aguas residuales tratadas en Colombia (Doctoral dissertation, Bogotá: Universidad Externado de Colombia, 2019.).
20. Assef, V. J. C. 4, 1997. Los Antimicrobianos en la Práctica Médica. *Hydrotechnical Construction*, Vol. 5, págs. 420–422.
21. W. E., & APH Association. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA.
22. INEN. Agua, Calidad del Agua, Muestreo, Diseño de los Programas de Muestreo. Agua, Calidad del Agua, Muestreo, Diseño de los Programas de Muestreo. 26 de Noviembre de 1998.
23. Zamora Rodríguez, L. M. (2003). Aislamiento, identificación y conservación de cultivos de bacterias lácticas antagonistas de microbiota contaminante de sangre de matadero. Universidad de Girona.
24. Saavedra, S. Preparación de medios de cultivo. 2018. medios de cultivo.com.
25. Alvarez, M y Bouquet, Fez. Manual de Técnicas de Microbiología Clínica. Editorial Garsi S.A., Madrid : 2016.
26. Miguel-Pérez, A., Rivera-Villa, A. H., Mata-Hernández, A., Pérez-Atanasio, J. M., & Torres-González, R. (2017). Sensibilidad y resistencia antibiótica en infecciones de sistema musculoesquelético. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(S3), 320-324.
27. Fernández, C. (2018). Presencia de bacterias mesófilas en perforaciones de agua. *Salud Pública de México*, 1(3), 11–18.
28. Silva, F. (2015). *Pseudomonas (Flavimonas) oryzihabitans*. *Revista chilena de infectología*, 32(4), 445-446.
29. Treviño Castellano, M., García-Zabarte, A., Losada Arias, E., García-Riestra, C., & Regueiro García, B. J. (2001, August). Bacteriemia por *Flavimonas oryzihabitans* en un paciente no neutropénico con enfermedad cardíaca. *Medicina Interna* (Vol. 18, No. 8, pp. 58-59). Arán Ediciones, SL.
30. Jaramillo, Iván. Actividad "in vitro" de diferentes antibacterianos sobre bacilos gram-negativos no fermentadores, excluidos *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter*. 2015.

31. Hernández, E., Araque, M., Millán, Y., Millán, B., & Vielma, S. (2014). Prevalencia de β -lactamasa CTX-M-15 en grupos filogenéticos de *Escherichia coli* uropatógena aisladas en pacientes de la comunidad en Mérida, Venezuela. *Investigación Clínica*, 55(1), 32-43.
32. Rondón, J., Ramos, D., Vilca, M., Salazar, E., Mendoza, Y., & González, R. (2020). Caracterización sanitaria e identificación de los puntos de contaminación microbiológica en la cadena de comercialización pesquera en el puerto de Pucallpa, Ucayali, Perú. *Revista de Investigaciones del Perú*, 31(1).
33. Sandrea, L., Martínez, A., Valero-Leal, K., & Ávila, Y. (2002). Prevalencia y resistencia antimicrobiana de especies de *Shigella* aisladas de niños con diarrea en Maracaibo, Venezuela. *Kasmera*, 30(1), 7-16.
34. García, M. M. (2013). *Escherichia coli* multirresistentes. *Revista Cubana de Urología*, 2(1), 4-6.
35. Merino, L. A., Hreňuk, G. E., Ronconi, M. C., & Alonso, J. M. (2004). Resistencia a antibióticos y epidemiología molecular de *Shigella* spp. en el nordeste argentino. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 15, 219-224.
36. Gómez, J., García-Vázquez, E., & Hernández-Torres, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter*, 28(1), 1-9.
37. Ríos Gómez, N. M., & Dávila Valles, R. G. (2014). Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, IMET-EsSalud-2013.