



Caracterización microbiológica de agua para consumo humano procedente de vertientes subterráneas en la comunidad de Azactus, Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo

Microbiological characterization of water for human consumption from underground springs in the community of Azactus, Chambo Canton, Chimborazo Province

Caracterização microbiológica da água para consumo humano de nascentes subterrâneas na comunidade de Azactus, cantão de Chambo, província de Chimborazo

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

Selena Mishelle Anancolla Garces ^{III}
selenamishelle@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2876-944X>

Jassmina Nataly Peñafiel Núñez ^{II}
jassmina.penafiel@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9854-0413>

Raúl Leandro Dávalos Monteiro ^{IV}
rdavalos@yachaytech.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-3058-5145>

Correspondencia: mishell.moreno@epoch.edu.ec

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

* **Recibido:** 23 de mayo de 2022 * **Aceptado:** 12 de junio de 2022 * **Publicado:** 26 de julio de 2022

- I. Mgs. en Biología Celular y Molecular, Advanced Materials Research Group (GIMA), Docente investigador, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- II. Investigador independiente, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- III. Investigador independiente, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador
- IV. PhD Materials Science, Advanced Materials Research Group (GIMA), Docente investigador, Escuela de Ciencias Biológicas e Ingeniería, Universidad Yachay Tech, Urucuquí, Ecuador.

Resumen

La comunidad Azactus cuenta con un acueducto comunitario, el cual dota de agua a la mencionada población por acción de gravedad, no obstante, esta no pasa por ningún proceso de tratamiento para mejorar sus condiciones. Esta investigación tuvo como objetivo caracterizar el microbiota del agua de vertiente de la comunidad Azactus del cantón Chambo de la provincia de Chimborazo. Se realizó un muestreo de agua al azar, por duplicado, posteriormente, se inocularon muestras simples de agua para realizar un recuento de colonias para caracterizarlas morfológicamente y someterlas a pruebas bioquímicas (catalasa, oxidasa, ureasa, citrato, entre otras) con el objetivo de determinar el género y la especie bacteriana. Se obtuvieron 12 bacilos gram negativos (48%) y 13 cocos gram positivos (52%). Se identificó la posible presencia de *S. epidermis*, *S. aureus*, *P. aureginosa*, *P. putida* y *Aeromonas* spp; así mismo, se identificaron morfotipos fúngicos en el agua de vertiente como: *Rhodotorula aurantiaca*, *Cryptococcus laurentis*, *Penicillium* spp. y *Basipetospora* spp; las bacterias gram positivas resultaron sensibles hacia la vancomicina, ceftriaxona y ciproflaxacino; y resistentes a la penicilina y la ampicilina. Mientras que, las bacterias gram negativas resultaron sensibles hacia ciproflaxacino, kanamicina, eritromicina, gentamicina; y resistentes a ampicilina y amoxicilina. Las colonias puras encontradas demostraron que pueden ser resistentes hacia varios de los antimicrobianos usados en la investigación.

Palabras Clave: Antibiótico; Pruebas Químicas; Resistencia Bacteriana; Vertiente; Microbiota.

Abstract

The Azactus community has a community aqueduct, which provides water to the aforementioned population by gravity, however, it does not go through any treatment process to improve its conditions. The objective of this research was to characterize the microbiota of the spring water of the Azactus community of the Chambo canton of the Chimborazo province. A random water sampling was carried out, in duplicate, later, simple water samples were inoculated to perform a count of colonies to characterize them morphologically and subject them to biochemical tests (catalase, oxidase, urease, citrate, among others) with the objective of determine the genus and species of bacteria. 12 gram negative rods (48%) and 13 gram positive cocci (52%) were obtained. The possible presence of *S. epidermis*, *S. aureus*, *P. aureginosa*, *P. putida* and *Aeromonas* spp was identified; likewise, fungal morphotypes were identified in the spring water such as: *Rhodotorula*

aurantiaca, *Cryptococcus laurentis*, *Penicillium* spp. and *Basipetospora* spp; Gram-positive bacteria were sensitive to vancomycin, ceftriaxone, and ciproflaxacin; and resistant to penicillin and ampicillin. While gram negative bacteria were sensitive to ciproflaxacin, kanamycin, erythromycin, gentamicin; and resistant to ampicillin and amoxicillin. The pure colonies found showed that they can be resistant to several of the antimicrobials used in the research.

Keywords: Antibiotic; Chemical Tests; Bacterial resistance; Slope; microbiota.

Resumo

A comunidade Azactus possui um aqueduto comunitário, que fornece água para a referida população por gravidade, porém, não passa por nenhum processo de tratamento para melhorar suas condições. O objetivo desta pesquisa foi caracterizar a microbiota da água de nascente da comunidade Azactus do cantão Chambo da província de Chimborazo. Realizou-se uma amostragem aleatória de água, em duplicata, posteriormente inocularam-se amostras simples de água para realizar uma contagem de colônias para caracterizá-las morfológicamente e submetê-las a testes bioquímicos (catalase, oxidase, urease, citrato, entre outros) com o objetivo de determinar o gênero e a espécie de bactérias. Foram obtidos bastonetes de 12 gramas negativos (48%) e cocos de 13 gramas positivos (52%). Foi identificada a possível presença de *S. epidermis*, *S. aureus*, *P. aureginosa*, *P. putida* e *Aeromonas* spp; da mesma forma, foram identificados morfotipos fúngicos na água de nascente como: *Rhodotorula aurantiaca*, *Cryptococcus laurentis*, *Penicillium* spp. e *Basipetospora* spp; As bactérias Gram-positivas foram sensíveis à vancomicina, ceftriaxona e ciproflaxacina; e resistente à penicilina e ampicilina. Enquanto as bactérias gram negativas foram sensíveis à ciproflaxacina, canamicina, eritromicina, gentamicina; e resistente à ampicilina e amoxicilina. As colônias puras encontradas mostraram que podem ser resistentes a vários dos antimicrobianos utilizados na pesquisa.

Palavras-chave: Antibiótico; Testes Químicos; Resistência bacteriana; Declive; microbiota.

Introducción

Debido al mal uso de los antibióticos, las bacterias han desarrollado una resistencia adquirida, generalmente causada por la modificación de sus genes y por la selección de mutantes resistentes. Según las estadísticas, se conoce que en Ecuador existe un índice de morbilidad entre el 9 y el 14% debido a patologías causadas por ingestión de agua contaminada, fuente de consumo diario en la

población¹. Es por ello por lo que, en los últimos años, las exigencias higiénicas son más rigurosas si una fuente acuática se desea destinar al consumo humano. En el país, el SNAP ha implementado programas de protección de las fuentes hídricas, de modo que se pueda garantizar la cantidad y calidad de estas para su posterior uso por las comunidades más pobladas².

En el caso de la comunidad Azactus, ubicada en el cantón Chambo, la captación del agua se limita a la entubación desde su origen, sin embargo, la comunidad para lograr potabilizar el agua utiliza una pequeña pastilla como método de cloración.

En base a lo anterior, la presente investigación permitió caracterizar microbiológicamente el agua de la vertiente subterránea de la comunidad Azactus. Se identificó la presencia de microorganismos patógenos potencialmente peligrosos para la salud humana su prevalencia y su capacidad de resistencia, para finalmente poder compararlos con los límites permisibles establecidos en la normativa vigente ecuatoriana.

La importancia del estudio también radica en que se aportó con datos de la calidad del agua que permitirán promover mayor seguridad de ingesta de esta o, a su vez, permita a los gobiernos y a la comunidad la toma de medidas para la gestión de la contaminación y la recuperación de la calidad del agua de la vertiente.

Materiales y métodos/metodología

Este estudio se aplicó en la comunidad de Azactus; en la figura 1 se muestra la referenciación geográfica del lugar de estudio.

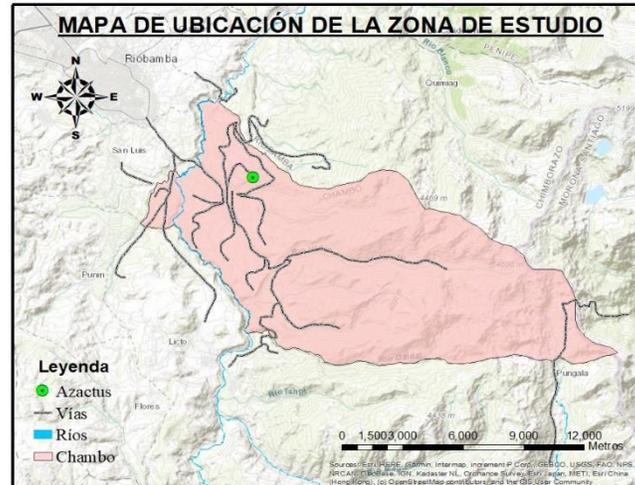


Figura 1: Localización geográfica

Para llevar a cabo la ejecución de este proyecto, el trabajo se distribuyó en tres fases; fase I-Visita de reconocimiento del área de estudio, y muestreo, fase II-Análisis de laboratorio y fase III-Tratamiento y análisis de los resultados; a continuación, se describen cada una de ellas.

Fase I: Reconocimiento del área de estudio

En la selección de los puntos de muestreo desde la captación hasta la distribución del agua en la comunidad de Azactus, los sitios fueron georreferenciados como punto de monitoreo para la recolección de muestras de acuerdo con los protocolos determinados por la norma INEN 1105 C y la norma INEN 1108^{3,4}. Las muestras tomadas fueron tres, etiquetadas como P1, P2 y P3.

Fase II: Análisis de laboratorio

Una vez terminado cada muestreo se realizaron los análisis de laboratorio microbiológico correspondientes.

Para la caracterización previa Se seleccionaron medios de cultivo aptos para el crecimiento bacteriano mixto como agar nutritivo y agar sangre para el crecimiento de microorganismos aerobios estrictos.

Se usaron medios selectivos como agar McConkey, MBE y el medio Muller Hilton para las pruebas de resistencia a los antimicrobianos. La siembra de las muestras de agua se realizó mediante diluciones seriadas (base 10) hasta 10⁻⁸ en agua de peptona.

Análisis microbiano: Se realizó en una superficie plana en Placas 3M Petrifilm TM específico para *E. coli* y coliformes, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras⁵.

Fase III: Caracterización

Estabilización: Mediante la técnica de aislamiento por agotamiento, se realizaron cuatro repiques sucesivos, con el fin de obtener cepas estabilizadas.

Caracterización macroscópica: se realizó una observación directa de las características físicas que presentaban las colonias aisladas por la técnica de agotamiento, considerando principalmente el color, borde, tamaño y forma de las colonias.

Caracterización microscópica: utilizó la Tinción Gram, para facilitar la observación de las bacterias, y permitir diferenciar los grupos Gram positivas y Gram negativas.

Pruebas bioquímicas de identificación bacteriana: Se llevó a cabo las pruebas de Oxidasa, Citrato, Ureasa, Medio SIM, Producción de H₂S y la Prueba de Indol.

Identificación de bacterias Gram negativas: Se realizaron en Agar MacConkey, Agar E.M.B

Evaluación de resistencia bacteriana: La resistencia se evaluó con respecto a los siguientes antibióticos: gentamicina; amikacina; ceftriaxona; ciprofloxacina; penicilina; tetraciclina; ampicilina; vancomicina; amoxicilina; trimetoprima /sulfametoxazol; kanamicina; eritromicina; tetraciclina; nitrofurantoina; gentamicina⁶.

Materiales y equipos: Los materiales y equipos utilizados se detallan en la tabla 1.

Tabla 1: Materiales y equipos utilizados

MATERIALES	EQUIPOS
Cinta Maski	Cámara de Flujo Laminar
Cajas Petri	Autoclave

Mechero de alcohol	Estufa Bacteriológica
Pipetas automáticas	Microscopio
Cofias, Mascarilla	Balanza Analítica
Gasa, alcohol, espátula	Refrigeradora
Asa de platino	
Erlenmeyer 250 y 150 mL	
Vasos de precipitación 150 ml	
Placas portaobjetos y cubreobjetos	
Varillas de agitación	
Palillos e hisopos	
Tubos estériles y corchos	
Goteros y algodón	
Papel aluminio y tiras de oxidasa	
Discos de sensibilidad	

Resultados y discusión

Los resultados reflejan que existe un crecimiento bacteriano moderado en las muestras en los puntos de muestreo, tal como lo indica la Figura 2, en el primer punto de muestreo (P1) y el tercer punto de muestreo (P3) es donde existe el mayor crecimiento con un total de 49 UFC halladas, mientras que el segundo punto de muestreo (P2) obtuvo 18 UFC.

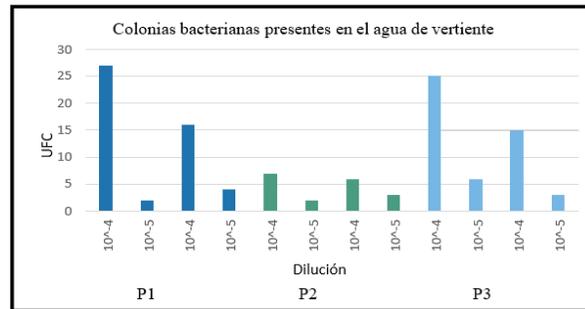


Figura 2: Colonias bacterianas

Tal como lo indica el Acuerdo Ministerial 097 anexo I, no se evidenció la presencia de *Escherichia Coli*, lo que indica que el agua de la vertiente no presenta contaminación fecal. Por otro lado, la Norma Ecuatoriana INEN 1108 establece que, en el agua no se debe evidenciar la presencia de *Coliformes fecales* ni *Coliformes totales*, por lo tanto, según esta normativa, la calidad del agua proveniente de la vertiente es de buena calidad y apta para el consumo humano⁷.

Se evidencia crecimiento bacteriano del género *Staphylococcus*, sin embargo, este no es significativo, ya que se encontró 9 UFC/ml en las muestras del agua que se distribuye a la comunidad de Azactus. No obstante, la OMS establece que debe existir una ausencia total de este tipo de microorganismos.

Se estimó una cantidad elevada de mohos y levaduras como se muestra en la Figura 3, llegando a observar 34UFC y 160UFC, respectivamente. Según la Norma Uruguaya⁸, el recuento de mohos y levaduras no debe sobrepasar los 100 UFC (INTN, 2011); sin embargo, según la Normativa de la República de Venezuela, el recuento de mohos y levaduras no debe sobrepasar las 500 UFC/ml. Estos resultados obtenidos también concuerdan con un estudio realizado por Ibarra (2017) en el mismo territorio, en la cual se muestra un mayor crecimiento bacteriano en el tanque de captación y un menor crecimiento bacteriano en la red de distribución. Según los estándares europeos, para el número de colonias cultivadas a 37°C se establece un valor límite de 20 UFC/ml. Sin embargo, en la investigación se obtuvo un valor de 116 UFC/ml, siendo este parámetro mucho mayor al establecido en los límites permisibles⁸.

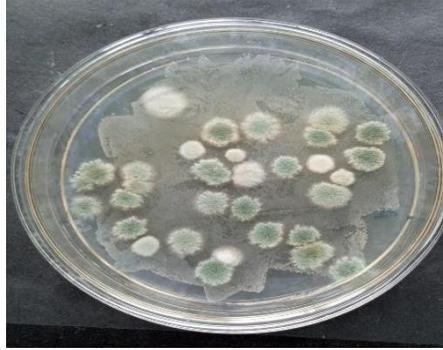


Figura 3: Mohos y levaduras identificadas

Respecto a la caracterización macroscópica de bacterias, se obtuvo que el 24% de las colonias aisladas presentan una coloración blanca, el 64% presenta una coloración amarilla y el 12% presenta una coloración amarillo-verdosa. Por su tamaño, el 36% de las colonias bacterianas presentan un tamaño de 1 mm, mientras que el 64% tienen un tamaño de 0.5 mm. Por su forma, el 60% presenta forma circular y el 40% es irregular. Sus bordes se definieron con el 45% entero, 20% onduladas y 35 % lobuladas. Según su consistencia, se observó que el 88% son cremosas y el 12% viscosas. De la misma manera, las colonias bacterianas según la elevación constan del 40% elevadas y un 60% planas; la superficie que presentan las colonias consta de 60% lisa y el 40% rugosa, en la luz reflejada el 20% mate y el 80% brillante y en luz transmitida se obtuvo el 36% opaca y 64% translúcida

En la caracterización macroscópica de levaduras se identificó que el 100% de las levaduras aisladas presentan una coloración blanquecina, el 50% es de forma circular y el restante de forma ovoide. ¿El borde de todos los aislados se identifican como enteros? y su consistencia cremosa. Además, el 50 % de los aislados presentan una elevación convexa y el restante elevada. Por último, la mitad de los aislados tienen una superficie serosa y la otra mitad presenta superficie lisa.

Respecto a la caracterización macroscópica de mohos, se evidenció que el 75% de los aislados presentan una coloración blanca, y tan solo el 25% presenta una coloración verde. El 100% de los aislados presentan forma circular, borde entero, consistencia esponjosa, elevada y una superficie rugosa. Estas características concuerdan con las identificadas por Mosto (1995) en sistemas de distribución de agua potable⁹.

En la caracterización microscópica por medio de la Tinción Gram, se obtuvieron 13 bacilos Gram negativos y 12 cocos Gram positivos; por otro lado, el 52% de las colonias bacterianas pertenecieron al grupo Gram positivos y un 48% de Gram negativos.

En cuanto a los resultados para los morfotipos fúngicos aislados del agua de vertiente, se puede presenciar que las levaduras que presentan formas esféricas, ovoides a elongadas, algunas solitarias, de a pares, o en cadenas cortas. Sin embargo, se podría mencionar que se evidencia el desarrollo de pseudomicelio primitivo o robusto en las muestras que se analizaron. Para el caso de los mohos se identifica un conidióforo erecto, simple, semejante a las hifas. Conidios (artroporas) hialinos, unicelulares, globosos a cilíndricos, en cadenas basales. También se identifica un conidióforo erecto, simple, semejante a las hifas. Conidios (artroporas) hialinos, unicelulares, globosos a cilíndricos, en cadenas basales.

En la evaluación bioquímica de las colonias bacterianas previamente aisladas, los resultados de las pruebas inmediatas arrojaron que el 80% de los aislamientos son positivos y el 20% son negativos para la producción de la enzima catalasa, para ello se evidenció la presencia de burbujas de oxígeno en el medio⁷. Para la prueba de oxidasa, el 50% son negativos, y el 50% son positivos para la producción de la enzima citocromo c oxidasa. Estas pruebas se utilizaron debido a la accesibilidad e implementación en el laboratorio¹⁰.



Figura 4: Evaluación bioquímica

Por otro lado, para los cultivos realizados en el agar base urea Christensen, se evidenció que el 24% de los aislamientos sufrieron un cambio de color, dando como positivo en la producción de la enzima ureasa, mientras que, para la prueba de citrato, tan solo en un 8% de las colonias bacterianas

se presenció el cambio a una coloración azul. Para la prueba con agar Macconkey, el 28% de las colonias presentaron color rojo, por tal razón, son capaces de fermentar la lactosa¹¹. En la prueba de Kligler, el 52% de los aislados fueron positivos, y se obtuvo que el 20% es capaz de fermentar la lactosa; el 10% puede fermentar la lactosa y la glucosa, el 25% fermenta la lactosa sin producción de gas y el 5% fermenta la glucosa sin la producción de gas. También, para la prueba de manitol, solo el 20% dio positivo y el 80% de los aislados no presenta esta capacidad. Así mismo, mediante la prueba SIM se logró determinar que el 72% de las colonias presentan la capacidad de ser móviles.

Tabla 2: Pruebas bioquímicas usadas en las colonias bacterianas.

Colonia	PRUEBAS									SIM			
	Catalasa	Oxidasa	Ureasa	Citrato	MConkey	E.M.B	Kligler	Manitol	S-S	H ₂ S	Indol	Mov	
1	+	-	+	-	N.A	N.A	+(F.G.L)	-	N.A	-	-	-	
2	+	-	+	+	N.A	N.A	-	-	N.A	-	-	-	
3	-	-	-	-	N.A	N.A	+(F.L)	-	N.A	-	-	+	
4	+	-	-	-	N.A	N.A	-	-	N.A	-	-	+	
5	+	-	-	-	N.A	N.A	+(F.L)	-	N.A	-	-	+	
6	+	+	-	-	+	-	-	N.A	-	-	+	-	
7	+	+	-	-	+	-	+(F.L.S.G)	N.A	-	-	-	+	
8	-	+	+	-	-	-	-	N.A	-	-	-	+	
9	+	-	+	-	N.A	N.A	+(F.L)	-	N.A	-	-	+	
10	+	+	-	-	+	-	+(F.L.S.G)	N.A	-	-	-	+	
11	+	+	-	-	+	-	-	N.A	-	-	-	-	
12	+	+	-	-	-	-	-	N.A	-	-	-	-	
13	+	-	-	-	N.A	N.A	+(F.L.S.G)	+	N.A	-	-	+	
14	-	-	-	-	N.A	N.A	-	-	N.A	-	-	-	
15	+	-	+	-	N.A	N.A	+(F.L.S.G)	+	N.A	-	-	+	
16	+	-	+	-	N.A	N.A	+(F.L.S.G)	+	N.A	-	-	+	
17	+	-	-	+	N.A	N.A	-	-	N.A	-	-	-	
18	-	+	-	-	-	-	+(F.L)	N.A	-	-	-	+	
19	+	-	-	-	N.A	N.A	+(F.L.S.G)	-	N.A	-	-	+	
20	+	-	-	-	N.A	N.A	+(F.G.L)	-	N.A	-	-	+	
21	+	+	-	-	+	-	-	N.A	-	-	-	+	
22	+	+	-	-	-	-	-	N.A	-	-	-	+	
23	+	+	-	-	+	-	-	N.A	-	-	-	+	
24	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	
25	+	+	-	-	+	-	+(F.G.G)	+	-	+	+	+	

13	<i>S. aureus</i>	R (6)	R (0)	S (21)	S (21)	R (0)	R (0)	S (21)	S (17)	R (6)
14	<i>S. aureus</i>	R (8)	S (25)	S (21)	R (6)	R (8)	S (19)	R (0)	S (15)	R (0)
15	<i>S. aureus</i>	S (18)	S (25)	S (21)	S (22)	S (33)	S (19)	S (19)	S (15)	S (21)
16	<i>S. aureus</i>	R (6)	R (0)	S (21)	S (22)	R (8)	R (0)	S (19)	S (22)	R (0)
17	<i>S. aureus</i>	R (6)	S (21)	S (21)	S (25)	S (29)	R (8)	R (0)	S (18)	R (6)
19	<i>S. epidermis</i>	S (19)	S (21)	S (21)	S (25)	R (0)	S (21)	R (0)	S (17)	R (0)
20	<i>S. epidermis</i>	S (22)	S (21)	S (21)	S (22)	R (0)	S (21)	R (0)	S (15)	S (21)

Se logró determinar las especies de bacterias presentes en las 25 colonias bacterianas aisladas como se muestra en la Tabla 2, identificando como la de mayor incidencia a *S. aureus* (32%), esta cepa presenta catalasa (+), coagulasa (+), oxidasa (-), manitol (+), pero para la prueba de kigler no

fermenta glucosa sino lactosa ⁴. Por otro lado, *P. aureginosa* (28%) reportó oxidasa (+), catalasa (+), ureasa (+), indol (-), y en prueba de Kigler se obtiene la fermentación de glucosa sin la producción de gas^{4,9}. Por su lado, *Staphylococcus epidermis* (20%) presentó catalasa (+), coagulasa (-), ureasa (+), además es capaz de fermentar tanto glucosa como lactosa³. *P. putida* (12%) presenta oxidasa (+), catalasa (+), ureasa (-), indol (-) y en la prueba de kigler fermenta la glucosa, pero no la lactosa. Finalmente, *Aeromonas spp* (8%) mostró catalasa (+), oxidasa (+), ureasa (-), citrato (-), en la prueba de SIM muestra: indol (+), sulfuro (-) y motilidad (+).

Se observaron varias cepas fúngicas aisladas que se visualizan en la Figura 5. A partir del agua de vertiente, entre las cuales tenemos las siguientes especies: *Rhodotorula aurantiaca* (33%), *Cryptococcus laurentis* (33%), *Penicillium spp* (22%) y *Basipetospora spp* (11%).

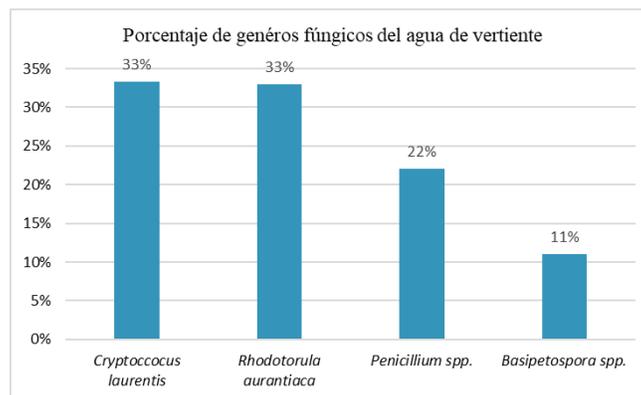


Figura 5: Especies fúngicas presentes en el agua de vertiente

Los análisis de la resistencia de bacterias Gram positivas mostraron los resultados reflejados en la Tabla 3:

Tabla 3: Resistencia de bacterias Gram positivas

Colonia	Género	GEN	AMK	CEF	CIPRO	PEN	TETR	AMP	VAN	AMOX
1	<i>S. epidermis</i>	S (15)	S (21)	S (21)	S (21)	R (6)	S (19)	R (0)	S (22)	S (21)
2	<i>S. epidermis</i>	S (18)	S (25)	S (22)	S (22)	R (0)	S (21)	R (0)	S (19)	S (19)
3	<i>S. epidermis</i>	S (22)	S (21)	S (21)	S (22)	S (30)	S (22)	S (17)	S (16)	S (21)
4	<i>S. epidermis</i>	S (17)	S (22)	S (22)	S (22)	R (0)	S (22)	R (0)	S (16)	S (17)
5	<i>S. epidermis</i>	S (22)	S (21)	S (21)	S (21)	S (29)	S (22)	S (21)	S (19)	S (21)
9	<i>S. epidermis</i>	S (16)	S (23)	S (21)	S (21)	S (31)	S (19)	S (21)	S (20)	S (21)

Nota: GEN (Gentamicina), AMIK (Amikacina), CEF (Ceftriaxona), CIPRO (Ciproflaxacino), PEN (Penicilina), TETRA (Tetraciclina), AMP (Ampicilina), VAN (Vancomicina), AMOX (Amoxicilina).

En la Tabla 3 se evidencia que *S. epidermis* presenta resistencia a PEN y AMP, ya que sus halos de inhibición se encuentran entre 0-6 mm como se observa en la Figura 5. Sin embargo, *S. aureus* presenta multiresistencia, ya que muestra un halo de inhibición de entre 0 a 6 mm cuando es cultivado en presencia de antibióticos como GEN, TETRA, AMOX Y PEN. De esto, se puede deducir que el 23% presentan resistencia a un antibiótico, el 39% es resistente al menos a 2 antibióticos, el 23% presentan multi resistencia al menos a 3 antibióticos y el 15% presentaron sensibilidad a todos los antimicrobianos.

Los análisis de la resistencia de bacterias Gram negativas mostraron los siguientes resultados detallados en la Tabla 4:

Tabla 4: Resistencia de bacterias Gram negativas

Colonia	Género	CIPRO	AMP	KAN	ERI	TETRA	TRIME	GEN	AMOX
6	<i>P. aeruginosa</i>	R (8)	R (0)	S (32)	S (22)	R (6)	R (6)	S (16)	R (0)
7	<i>P. aeruginosa</i>	R (6)	R (0)	S (32)	S (22)	S (15)	S (20)	S (16)	R (0)
8	<i>P. aeruginosa</i>	R (8)	R (0)	S (25)	S (25)	R (6)	R (8)	R (6)	S (25)
10	<i>P. aeruginosa</i>	S (22)	S (55)	S (22)	S (25)	S (22)	R (8)	S (17)	S (22)
11	<i>P. aeruginosa</i>	S (27)	S (20)	S (17)	S (22)	S (17)	S (21)	R (6)	S (22)
12	<i>P. aeruginosa</i>	S (32)	R (0)	S (16)	S (25)	S (15)	S (25)	S (25)	S (22)
18	<i>P. aeruginosa</i>	S (26)	R (0)	S (21)	S (22)	S (22)	R (6)	S (21)	S (22)
21	<i>P. putida</i>	S (28)	S (25)	S (22)	S (21)	S (16)	S (32)	R (6)	S (25)
22	<i>P. putida</i>	S (21)	R (0)	S (25)	S (25)	S (25)	S (17)	S (22)	R (8)
23	<i>P. putida</i>	S (22)	R (0)	S (32)	S (32)	S (17)	S (16)	S (21)	R (8)
24	<i>Aeromonas spp.</i>	R (0)	R (0)	S (16)	S (35)	S (17)	S (16)	S (16)	R (8)
25	<i>Aeromonas spp.</i>	S (22)	R (0)	S (16)	S (21)	S (15)	R (0)	S (16)	R (6)

Nota: GEN (Gentamicina), AMIK (Amikacina), CEF (Ceftriaxona), CIPRO (Ciproflaxacino), PEN (Penicilina), TETRA (Tetraciclina), AMP (Ampicilina), VAN (Vancomicina), AMOX (Amoxicilina).



Figura 6: Evaluación de la resistencia a antibióticos

En la tabla 4, se puede observar el efecto de los antibióticos CIPRO, AMP, KAN, ERI, TETRA, TRIME, GEN y AMOX en las colonias bacterianas de *P. aeruginosa*, *P. putida* y *Aeromonas spp.*, en el medio Muller Hilton. *P. aeruginosa* muestra ser una bacteria multirresistente, ya que crece en presencia del antibiótico mostrando un halo de inhibición de entre 0 a 8 mm cuando es cultivado en presencia de 6 antibióticos como son GEN, TETRA, AMOX, TRIME, CIPRO, AMP. Sin embargo *P. putida* muestra solamente resistencia a dos antibióticos siendo estos AMO y AMOX. Para el caso de *Aeromona spp.*, también se obtiene un carácter multirresistente, porque esta cepa crece de manera eficaz antes los antibióticos CIPRO, AMP y AMOX mostrando halos de inhibición de 0- 8 mm.

Conclusiones

La evaluación microbiológica (*coliformes totales* y *fecales* /*E. coli*, mohos y levaduras, y *Staphylococcus*) mostró que no existe presencia de coliformes en las muestras de agua, pero existe un bajo crecimiento de *Staphylococcus* indicando que la calidad del agua de esta presenta mínima contaminación.

En la evaluación de la resistencia a antibióticos, por parte de las colonias bacterianas Gram positivas se identifica que el 23% presenta resistencia al menos a un antibiótico, el 39% presenta resistencia a dos antibióticos, el 23% de las colonias presentan multirresistencia a 3 de los antibióticos usados y tan solo el 15% de las colonias presenta sensibilidad a los antimicrobianos utilizados en la investigación. Para las 12 colonias pertenecientes a las bacterias Gram negativas, el 23% presenta multirresistencia, el 23% presenta resistencia a 2 antibióticos, el 23% presenta resistencia a 1 antibiótico y tan solo el 15% presenta sensibilidad a los antibióticos utilizados en la

investigación. Tanto *S. aureus*, *Pseudomonas aureginosa* y *Aeromonas spp.* son cepas multirresistentes, ya que son capaces de crecer en presencia de más de 3 antibióticos formando halos de inhibición de entre (0-8 mm). La resistencia bacteriana frente a los antibióticos de uso común en la actualidad es un problema grave de salud pública.

Los resultados obtenidos en la investigación, al ser comparados con las normas de calidad del agua tanto a nivel nacional como internacional, indican que, desde el punto de vista microbiológico, el agua de la vertiente subterránea que distribuye el agua hacia la comunidad de Azactus posee una baja carga microbiana muy por debajo de los valores máximos establecidos, catalogando al agua como muy buena y utilizable para el consumo humano.

Sin embargo, existe la presencia de microorganismos potencialmente peligrosos que presentan resistencia y multirresistencia a antibióticos, de no ser controlados los parámetros microbiológicos habitualmente, podrían representar un peligro para la comunidad en el futuro.

Referencias

1. ALVAREZ, M Y BOUQUET, FEZ. Manual de Técnicas de Microbiología Clínica. Editorial Garsi S.A., Madrid: 2016.
2. BERNAL, M. y GUZMÁN, M. "El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby- Bauer". Biomédica [en línea], 1984, (Colombia) 15(1), pp. 112-121. [Consulta: 10 de agosto 2019]. ISSN 0120-4157. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891/1917>
3. CERVANTES-GARCÍA, E., GARCÍA-GONZÁLEZ, R. y SALAZAR-SCHETTINO, P.M., 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*, vol. 61, no. 1, pp. 28-40.
4. CHÁVES, R., 2020. Aislamiento y caracterización fenotípica de *Aeromona spp.* Correlacionada con los parámetros físicos del agua y su sensibilidad a los antimicrobianos en tres sistemas acuáticos de los Andes ecuatorianos [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: Universidad Central Del Ecuador Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia Carrera De Medicina Veterinaria Y Zootecnia.
5. FARIÑA GONZÁLEZ, N., CARPINELLI, L., SAMUDIO, M., GUILLÉN, R., LASPINA, F., SANABRIA, R., ABENTE, S., RODAS, L., GONZÁLEZ, P. y DE KASPAR, H.M., 2013.

6. Staphylococcus coagulasa-negativa clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia. Revista Chilena de Infectología, vol. 30, no. 5, pp. 480-488. ISSN 07161018. DOI 10.4067/S0716-10182013000500003.
7. IBARRA, K.P., 2017. Análisis Microbiológico De La Vertiente Del Santuario De Nuestra Señora De La Fuente Del Carmelo Del Barrio Catequilla Perteneciente Al Cantón Chambo Provincia De Chimborazo [en línea]. S.l.: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6936/1/56T00738.pdf>.
8. INEN, 2012. Norma Técnica Ecuatoriana Nte Inen 1105: 1983 Fecha De Confirmación: 2012- 10-29., pp. 1-8.
9. INEN, 2014. Agua Potable. Requisitos. Nte Inen 1108. Instituto Ecuatoriano de Normalización
10. [en línea], no. 5, pp. 1-10. Disponible en: <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/1108-5.pdf>.
11. MARCHAND, E., 2002. Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima [en línea]. S.l.: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Disponible en:
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/809/Marchand_pe.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
12. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, 2007. Resolución 2115 de 2007. Gaceta Oficial [en línea], vol. 1, pp. 23. Disponible en:
https://www.minambiente.gov.co/Legislación_del_agua/Resolución_2115.pdf.
13. MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL, M., 1998. Normas Sanitarias de
14. Calidad del Agua Potable. Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015, vol. 1, pp. 1-7. ISSN 1098-6596.
15. MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE, M., 2000. Libro blanco del agua en España [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 8483201283. Disponible en:
<http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/spa192539.pdf>.
16. PRASAI, T., LEKHAK, B., JOSHI, D.R. y BARAL, M.P., 2007. Fig 2: Total percent of enteric Bacterial Isolates., vol. 5, no. 5, pp. 112-114.

© 2022 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).