



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

“EVALUACIÓN DE PATÓGENOS DE AGUAS RESIDUALES DE 2 UNIDADES HOSPITALARIAS DE LA COORDINACIÓN ZONAL 3 - SALUD.”

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORAS: CÓRDOVA MORALES SILVANA NATALI.

ESCUDERO VILEMA MAYRA VERÓNICA.

TUTOR: ING. ANDRÉS AGUSTÍN BELTRÁN DÁVALOS.

RIOBAMBA – ECUADOR

2018

©2018, Silvana Natali Córdova Morales, Mayra Verónica Escudero Vilema.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación “**EVALUACIÓN DE PATÓGENOS DE AGUAS RESIDUALES DE 2 UNIDADES HOSPITALARIAS DE LA COORDINACION ZONAL 3 – SALUD.**” de responsabilidad de las señoritas egresadas Silvana Natali Córdova Morales, Mayra Verónica Escudero Vilema, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizado su presencia.

FIRMA

FECHA

Ing. Andrés Agustín Beltrán Dávalos.

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Fausto Manolo Yaulema Garcés.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Nosotras, Silvana Natali Córdova Morales, Mayra Verónica Escudero Vilema declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autores, asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 23 de enero del 2018

Silvana Natali Córdova Morales
C.I. 180419773-7

Mayra Verónica Escudero Vilema
C.I 0604267104.

Nosotras, Silvana Natali Córdova Morales, Mayra Verónica Escudero Vilema somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

.....

Silvana Natali Córdova Morales

.....

Mayra Verónica Escudero Vilema

DEDICATORIA

Quiero dedicar el presente Trabajo de Titulación a Dios por darme la vida y permitirme seguir adelante con cada una de mis metas y propósitos.

A la virgencita del cisne por su protección fuerza y amor.

A mis padres Néstor y Cecilia por ser el motor de mi vida, brindarme su apoyo incondicional de manera económica y moral hasta en los momentos más difíciles de mi vida siendo mí soporte para no desfallecer.

A mis hermanos por su lucha paciencia apoyo y concejos y estar a mi lado siempre.

Finalmente, a mis maestros quienes me guiaron en el camino del saber y del conocimiento durante toda mi vida académica en esta prestigiosa institución.

Verónica

A mi Padre celestial por ser mi aliento y razón de ser, a mis padres y hermanos por brindarme su apoyo incondicional en los momentos más difíciles de mi vida, con sus oportunos concejos y palabras de aliento.

A mí querido hijo Jean por ser mi motivación y alegría en cada paso durante el desarrollo de este trabajo.

Silvana

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento a Dios por darme la sabiduría y salud, a mis padres a mis hermanos por darme la educación, ser mi apoyo mi ejemplo y mis ganas de seguir adelante. A mi familia en especial a mis abuelitos y mis hermanitos que desde el cielo me iluminan en cada paso que doy y aunque no estén presentes sé que están a mi lado en todo momento pues son mis cinco ángeles que cuida de mí.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas que considero como si segundo hogar, en donde he vivido triunfos y derrotas, todo como un aprendizaje de la vida.

A mis maestros quienes supieron compartir conmigo sus conocimientos y me ayudaron a formarme para ser ahora una excelente profesional.

Al Ing. Andrés Beltrán por el asesoramiento, apoyo, ayuda incondicional brindada y por siempre estar pendiente de la realización de este trabajo de investigación.

Al Dr. Carlos Espinoza y al Dr. Fausto Yaulema por su colaboración y gran aporte en el presente trabajo, quienes a más de ser unos excelentes docentes son excelentes amigos.

Verónica.

Mi eterno agradecimiento a Dios por darme la vida y la fortaleza para no rendirme ante los obstáculos de la vida, siendo la mi principal motivación para seguir adelante.

A mis tutores Ingeniero Andrés Beltrán, Dr. Carlos Espinoza y Dr. Fausto Yaulema por guiar con éxito el desarrollo de este trabajo, colaborando con sus vastos conocimientos y las facilidades necesarias en el uso de los laboratorios y los equipos.

A mis familiares y amigos por estar de una u otra manera brindándome su apoyo en los momentos difíciles en este periodo de mi vida, así como en los buenos momentos.

Silvana.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Paginas
RESUMEN	XIII
SUMMARY	XIV
CAPITULO I	4
1. MARCO TEORICO REFERENCIAL	4
1.1 Antecedentes de la Investigación	4
1.2 Bases teóricas	5
1.2.1 Aguas Contaminadas.....	5
1.2.2 Aguas Residuales de Hospitales.....	5
1.2.3 Microbiología del agua.....	6
1.2.4 Enfermedades causadas por bacterias.....	10
1.2.5 Medios de cultivo.....	11
1.2.6 Tipos de agares.....	12
1.2.7 Tinción Gram.....	13
1.2.8 Pruebas Bioquímicas de identificación.....	14
2. MARCO METODOLOGICO	16
2.1 Materiales y Métodos	16
2.1.1 Tipo y diseño de Investigación.....	16
2.1.2 Unidad de análisis.....	16
2.1.3 Población de Estudio.....	16
2.1.4 Tamaño de la muestra.....	16
2.1.5 Selección de la muestra.....	17
2.2 Análisis e interpretación de la información	21
2.2.1 Obtención de microorganismos a partir de muestras de Aguas Residuales.....	21
2.2.1 Sitio de muestreo para la obtención de microorganismos.....	21
2.2.3 Procedimiento	21
2.3 Análisis de laboratorio	21
2.3.1 Técnica de medición de pH.....	22
2.3.2 Técnica de medición de Conductividad.....	22

2.3.3.	<i>Medición de Salinidad.....</i>	22
2.3.4.	<i>Medición de Solidos totales disueltos.</i>	23
2.3.6.	<i>Medición de color.</i>	23
2.3.7.	<i>Medición de DBO5.....</i>	24
2.3.8.	<i>Medición de DQO.....</i>	24
2.4.	Obtención y aislamiento de microorganismos en el laboratorio.....	24
2.4.1.	<i>Preparación de los medios de cultivo.</i>	24
2.4.1.	Diluciones	24
2.4.2.	<i>Crecimiento de Escherichia coli.</i>	25
2.5.2.	<i>Crecimiento de Salmonella spp.....</i>	27
2.6.2.	<i>Crecimiento de Staphylococcus aureus.....</i>	28
2.7.2.	<i>Pruebas bioquímicas.....</i>	28
2.7.2.	<i>Tinción de Gram.</i>	29
CAPÍTULO III.....		35
3.	MARCO DE ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	36
3.2.	Análisis de laboratorio.....	36
3.3.	Caracterización del agua residual mediante determinaciones de los parámetros físicos químicos y biológicos.	36
3.3.1.	<i>Análisis físico químico del efluente de aguas residuales de hospitales.</i>	36
3.4.	Conteo de microorganismos en U.F.C.....	51
3.5.	Pruebas Bioquímicas.....	68
3.5.1.	<i>Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas.</i>	68
3.6.	Análisis estadístico y prueba de hipótesis.	78
3.6.1.	<i>Análisis descriptivo comparativo con 3 y con 2 variables.....</i>	78
3.7.	Prueba de hipótesis.	108
CONCLUSIONES.....		110
ANEXOS.....		117

INDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Clasificación de los microorganismos según la temperatura.	8
Tabla 2-1: Clasificación de los microorganismos según el rango del pH	8
Tabla 1-2: Coordenadas geográficas del Hospital Andino, UTM WGS84 ZONA 17 S.	18
Tabla 2-2: Coordenadas geográficas del Hospital General Puyo, UTM WGS84 ZONA 17 S...18	
Tabla 3-2: Materiales usados.....	19
Tabla 4-2: Materiales usados.....	20
Tabla 5-2 Equipos usados.....	20
Tabla 6-2 Medios de cultivo usados.....	20
Tabla 1-3: Valores de las características físico-químicas reportadas por el laboratorio de aguas de la ESPOCH (agua residual Hospital Andino)	37
Tabla 2-3: Valores de la caracterización físico-química reportado por el laboratorio de aguas de la ESPOCH (Hospital General el Puyo)	44
Tabla 1-3: Muestreo 1 Hospital Provincial Puyo.....	51
Tabla 2-3: Muestreo 2 Hospital Provincial Puyo.....	52
Tabla 3-3: Muestreo 3 Hospital Provincial Puyo.....	52
Tabla 4-3: Muestreo 4 Hospital Provincial Puyo.....	53
Tabla 5-3: Muestreo 5 Hospital Provincial Puyo.....	54
Tabla 6-3: Muestreo 6 Hospital Provincial Puyo.....	55
Tabla 7-3: Muestreo 7 Hospital Provincial Puyo.....	55
Tabla 8-3: Muestreo 8 Hospital Provincial Puyo.....	56
Tabla 9-3: Muestreo 9 Hospital General Puyo.....	56
Tabla 10-3: Muestreo 10 Hospital Provincial puyo.....	57
Tabla 11-3: Muestreo 1 Hospital Andino.....	58
Tabla 12-3: Muestreo 2 Hospital Andino.....	59
Tabla 13-3: Muestreo 3 Hospital Andino.....	61
Tabla 14-3: Muestreo 4 Hospital Andino.....	62
Tabla 15-3: Muestreo 5 Hospital Andino.....	63
Tabla 18- 3: Muestreo 6 Hospital Andino.....	64
Tabla 19-3: Muestreo 7 Hospital Andino.....	65
Tabla 20-3: Muestreo 8 Hospital Andino.....	66
Tabla 21-3: Muestreo 9 Hospital Andino.....	67
Tabla 22-3: Muestreo 10 Hospital Andino.....	68
Tabla 23-3: Recuento bacteriano Gram positivas y Gram negativas.....	69

Tabla 24-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Hospitalización.....	71
Tabla 25-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Laboratorio.....	72
Tabla 26-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Quirófano.....	73
Tabla 27-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Emergencias.....	74
Tabla 28-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital General Puyo, entrada a la planta de tratamiento.....	75
Tabla 29-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital General Puyo, salida de la planta de tratamiento.....	77
Tabla 30-3: Análisis factorial-KMO y prueba de Bartlett.....	109

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Formas y agrupaciones de los cocos a. micrococos B. diplococos C. Estreptococos D. tetracocos E. Sarcina F. estafilococos.....	7
Figura 2-1: formas y agrupaciones de los bacilos.....	7
Figura 3-1: Proceso para determinas DBO5.....	9
Figura 4-1: proceso de determinación de DQO en forma resumida.....	9
Figura1-2: Ubicación del Hospital Andino.....	18
Figura 2-2: Ubicación del Hospital General Puyo.....	19
Figura 3-2: Recuento en placas y diluciones seriadas.....	25
Figura 4-2: Tinción Gram.	30
Figura 5-2: Prueba Bioquímica Agar Kligler.....	31
Figura 6-2: Prueba Bioquímica Agar Simmons Citrato.....	32
Figura 7-2: Prueba Bioquímica Agar base Urea.....	33
Figura 8-2: Prueba Bioquímica Agar SIM (sulfuro-Indol-movilidad)	35
Figura 9-2: Características Bioquímicas para diferenciación de especies bacterianas de la familia Enterobacterias.....	35

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Valores de temperatura del agua residual Hospital Andino.....	40
Gráfico 2-3: Valores de pH del agua residual Hospital Andino.....	40
Gráfico 3-3: Valores de color del agua residual Hospital Andino.....	41
Gráfico 4-3: Valores de conductividad del agua residual del Hospital Andino.....	41
Gráfico 5-3: Valores de turbidez del agua residual del Hospital Andino.....	42
Gráfico 6-3: Valores de salinidad del agua residual del Hospital Andino.....	42
Gráfico 7-3: Valores de sólidos disueltos totales del agua residual del Hospital Andino.....	43
Gráfico 8-3: Valores de DBO5 del agua residual del Hospital Andino.....	43
Gráfico 9-3: valores de DQO del agua residual del Hospital Andino.....	44
Gráfico 10-3: valores de temperatura del agua residual del Hospital General Puyo.....	47
Gráfico 11-3: Valores de pH del agua residual del Hospital General Puyo.....	48
Gráfico 12-3: Valores de color del agua residual del Hospital General Puyo.....	48
Gráfico 13- 3: Valores de conductividad del agua residual del Hospital General Puyo.....	49
Gráfico 14-3: Valores de turbidez del agua residual del Hospital General Puyo.....	49
Gráfico 15-3: Valores de salinidad del agua residual del Hospital General Puyo.....	50
Gráfico 16-3: Valores de sólidos disueltos totales del agua residual del Hospital General Puyo.....	50
Gráfico 17-3: Valores de DBO5 del agua residual del Hospital General Puyo.....	51
Gráfico 18-3: Valores de DQO del agua residual del Hospital General Puyo.....	51
Gráfico 19-3: Tinción Gram.....	70
Gráfico 20-3: Frecuencia de crecimiento de Escherichia Coli- Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	80
Gráfico 21-3: Temperatura- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	81
Gráfico 22-3: pH- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	82
Gráfico 23-3: Conductividad- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	82
Gráfico 24-3: Salinidad- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	83
Gráfico 25-3: Sólidos disueltos totales- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	84
Gráfico 26-3: Turbiedad- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	85
Gráfico 27-3: color- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	86
Gráfico 28-3: DBO5- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	87

Gráfico 29-3: DQO - Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	88
Gráfico 30-3: Frecuencia de crecimiento – Salmonella spp- Hospital Andino- Hospital General Puyo.....	89
Gráfico 31-3: Temperatura- Salmonella spp.....	90
Gráfico 32-3: pH-Salmonella spp.....	91
Gráfico 33-3: Conductividad-Salmonella spp.....	92
Gráfico 34-3: Salinidad-Salmonella spp.....	93
Gráfico 35-3: Sólidos disueltos totales-Salmonella spp.....	94
Gráfico 36-3: turbiedad-Salmonella spp.....	95
Gráfico 37-3: Color-Salmonella spp.....	96
Gráfico 38-3: DBO5-Salmonella spp.....	97
Gráfico 39-3: DQO-Salmonella spp.....	98
Gráfico 40-3: Frecuencia de crecimiento- Staphylococcus aureus- Hospital Andino-Hospital General Puyo.....	99
Gráfico 41-3: Temperatura-Staphylococcus aureus.....	100
Gráfico 42-3: pH-Staphylococcus aureus.....	101
Gráfico 43-3: Conductividad-Staphylococcus aureus.....	102
Gráfico 44-3: salinidad-Staphylococcus aureus.....	103
Gráfico 45-3: sólidos disueltos totales-Staphylococcus aureus.....	104
Gráfico 46-3: Turbiedad-Staphylococcus aureus.....	105
Gráfico47-3: Color-Staphylococcus aureus.....	106
Gráfico 48-3: DBO5-staphylococcus aureus.....	107
Gráfico49-3: DQO-Staphylococcus aureus.....	108

INDICE DE ANEXOS

- ANEXO A.** Permiso Hospital Andino
- ANEXO B.** Permiso Hospital General Andino.
- ANEXO C.** *Registro de ubicación del punto de monitoreo.*
- ANEXO D.** *Requisitos para toma de muestra de agua residual y preservación de las muestras para el monitoreo.*
- ANEXO E.** *Registro de datos de campo.*
- ANEXO F.** Técnica para la utilización de la autoclave TUTTAVER (UCB 68456).
- ANEXO G.** Uso de la cámara de flujo.
- ANEXO H.** Lugar del muestreo
- ANEXO I.** Preparación de material.
- ANEXO J.** Siembra.
- ANEXO K.** Crecimiento de bacterias patógenas.

RESUMEN

El objetivo fue evaluar patógenos en aguas residuales de 2 unidades Hospitalarias de la coordinación zonal 3- salud. Se generó un análisis físico – químico en el que se midió parámetros como pH, Conductividad, salinidad, sólidos disueltos totales, turbiedad, color, DBO₅, DQO, un análisis microbiológico mediante siembras de vertido en placa para la identificación y cuantificación de bacterias como: *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonellas spp*. La cuantificación de microorganismos se realizó mediante el método de recuento en placa, posteriormente se realizó el análisis y descripción macroscópica, tinción Gram y pruebas bioquímicas, se preparó un agar de enriquecimiento (sangre) para el aislamiento de las colonias de las cuales, se identificaron una totalidad de Bacilos Gram negativos en un 100% indicando la relevancia de cocos Gram negativos en las aguas residuales de dichos hospitales, al realizar las siguientes pruebas bioquímicas de identificación. Según Álvarez, la prueba de Kliger comprueba la capacidad de una bacteria para metabolizar glucosa y lactosa; la prueba SIM la capacidad de degradar triptófano a Indol; la prueba de citrato la capacidad de utilizar esta sustancia como única fuente de carbono y por último la prueba de Urea la capacidad de desdoblar esta sustancia por un proceso de alcalinización. Se realizó una diferenciación de especies bacterianas de la familia *Enterobacteriaceae*. Las especies encontradas fueron las siguientes familias, *Escherichia coli*, (40%), *Klebsiella pneumoniae*, (10%) *Enterobacter cloacae* (0,1%) *Shigella dysenteriae*, (10%) *Salmonella spp* (30 %) *Staphylococcus aureus* (10 %), concluyendo así que las aguas residuales provenientes de estas Unidades Hospitalarias tiene un porcentaje de toxicidad alta, los tratamientos brindados en estas instituciones no son los adecuados, ya que dichos patógenos identificados resisten a ciertos antibióticos, y son descargados a los alcantarillados de las ciudades y posteriormente a cuencas hídricas que el hombre utiliza para diferente usos.

Palabras claves:

<BIOTECNOLOGÍA>, <MICROBIOLOGÍA>, <TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES>, <*Escherichia Coli* (BACTERIA)>, <*Staphylococcus aureus* (BACTERIA)>, <*Salmonellas spp* (BACTERIA)>, < ANALISIS FÍSICO - QUÍMICOS >, <PRUEBAS BIOQUÍMICAS >.

SUMMARY

The objective was analyzing pathogens in sewage in 2 hospitals of the zonal coordination 3-health. A physical-chemical analysis was generated in which some parameters like pH, conductivity, salinity, total dissolved solids, blur, color, BODs, CODs, a microbiological analysis by means of growth of spillage on plate for identification and quantification of bacteria such as: *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonellas spp*. The quantification of microorganisms was done through the plate count method, later on, the microscopic analysis and description was done, Gram staining and biochemical tests, it was prepared an enrichment agar (blood) for the isolation of the colonies from which, a total of negative Gram Bacilli to 100% were identified, indicating the relevance of negative coccus Gram in sewage of those hospitals when performing the following identification biochemical tests. According to Alvarez, the Kligler test proves the capacity of bacteria to metabolize glucose and lactose; the SIM test, the capacity to degrade tryptophan to Indol; the citrate test the capacity to use this substance as unique source of carbon and lastly, the Urea test the capacity to split this substance through an alkalisation process. A differentiation of bacteria species of the *Enterobacteriaceae* family was developed. The species found were the following families, *Escherichia coli*, (40%), *Klebsiella pneumoniae*, (10%) *Enterobacter cloacae* (0,1%) *Shigella dysenteriae*, (10%) *Salmonella spp* (30%) *Staphylococcus aureus* (10%), concluding so that the sewage coming from these hospitals contain a high percentage of toxicity, the treatment carried out in these institutions are not adequate, since the pathogens identified are resistant to certain antibiotics, and are flushed into the sewer in the cities and eventually to water basins that inhabitants use for different purposes.

Key words:

<BIOTECHNOLOGY>, <MICROBIOLOGY>, <SEWAGE TREATMENT>, < *Escherichia Coli* (BACTERIA)>, < *Staphylococcus aureus* (BACTERIA)>, <*Salmonellas spp* (BACTERIA)> <PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS>, <BIOCHEMICAL TEST

INTRODUCCIÓN

Los efluentes líquidos provenientes de las unidades de salud abarcan un largo listado de componentes presentes principalmente en concentraciones pequeñas, pero con una toxicidad relativamente alta que causa un porcentaje significativo de peligrosidad. Además, los compuestos recalcitrantes y químicos, las descargas líquidas de las unidades médicas muestran concentraciones altas de bacterias y virus patogénicos. (LEÓN, 2015). Las aguas residuales hospitalarias contienen una variedad de sustancias tóxicas o persistentes tales como productos farmacéuticos, radionucleidos, solventes y desinfectantes para fines médicos en una amplia gama de concentraciones debido a actividades de laboratorio e investigación o excreción de medicamentos. (VERLICCHI, P.2010.) Estas aguas residuales generalmente se descargan en las aguas residuales urbanas sin tratamiento, y contienen una gran variedad de compuestos orgánicos tóxicos y persistentes, como antibióticos, radionúclidos, solventes y desinfectantes utilizados con fines médicos en un amplio rango de concentración debido a: actividades en laboratorios, investigación y excreción de pacientes En la mayoría de los casos, estos compuestos corresponden al grupo llamado "compuestos emergentes". El control y la gestión de las aguas residuales hospitalarias se consideran de gran importancia, no solo para la salud pública, sino también para el medio ambiente. De acuerdo con (KÜMRER, K. 2001).

Entre los principales compuestos que se encuentra en este tipo de líquidos, se encuentran los antibióticos de baja biodegradabilidad; el 90% de dichos compuestos luego de su administración no son metabolizados y si excretados por medio de la orina o heces. (GRISALES, 2012). En la actualidad existen estudios que han demostrado que aquellos componentes no son removidos cuantitativamente por medio de procesos convencionales, como derivación de esto son encontrados en fuentes de agua potable lo que constituye un potencial peligro para la salud de la humanidad.

Por lo general las plantas de tratamiento utilizan procesos biológicos sin mostrar resultados sobre aguas de tipo residual hospitalaria, ya que su capacidad de remoción en este tipo de compuestos recalcitrantes es baja. (GRISALES, 2012). Siendo los Compuestos recalcitrantes compuestos con estructura compleja que no se degradan fácilmente. La presencia de estos líquidos en el ambiente y en los sistemas acuáticos, componen un serio problema ya que estos líquidos son extremadamente resistentes a la degradación biológica y prácticamente escapan intactos al tratamiento de plantas convencionales; razón por la cual se ve necesario el uso de tecnologías no convencionales. (GRISALES, 2012).

Tecnologías no convencionales.

Como por ejemplo los procesos de oxidación avanzada (POA). Los POA se consideran una alternativa viable para la oxidación, la remoción de toxicidad y la reducción de la concentración en compuestos no biodegradable, ya que se basan en procesos fisicoquímicos capaces de producir cambios en la estructura química de los contaminantes por medio de la generación y el uso de especies transitorias poderosas principalmente el radical $\bullet\text{OH}$ que es un agente con alto poder de oxidación, tiempo de vida corto y ataca las moléculas orgánicas no selectivamente con velocidades constantes en el orden de $10^6 - 10^9 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. Los POA se clasifican en dos ramas principales los sistemas homogéneos donde no existe la presencia de catalizadores en forma sólida y los sistemas heterogéneos en los cuales se implementan catalizadores semiconductores, sustancias que aumentan la velocidad de reacción para lograr un equilibrio químico sin sufrir alteraciones químicas. (OLLER, I., MALATO, S.2011).

Si bien en Ecuador existe la legislación que regula la expulsión de residuos líquidos hacia acueductos de alcantarillado, legislación que no se da cumplimiento por falta de conocimiento en que se está eliminado hacia dichos lugares. No es extraño encontrar sustancias que sean vertidas al sistema de desagüe, posteriormente al alcantarillado seguido de cuencas hídricas, sin tomar conciencia del daño que le ocasionamos al ambiente, sustancias que se van acumulando, y muchas de ellas son no biodegradables contribuyendo a empeorar el problema. (LEÓN, 2015).

Resulta transcendental plantear una investigación que permita evaluar en qué medida se encuentra contaminando estos residuos líquidos hospitalarios que son vertidos al acueducto que conduce hacia la planta de Tratamiento, determinar en qué grado de incumplimiento de la Norma TULSMA, se encuentran tales residuos, como se verían afectados dichas cuencas hídricas.

Se podrá conocer si realmente los niveles de determinaciones físico químicas: pH, Conductividad, Salinidad, Sólidos disueltos totales, turbiedad, color, DBO_5 , DQO. Se encuentran dentro de los parámetros normales, o caso contrario si se encuentran elevados, se podrá sugerir medidas correctivas como una eliminación de residuos más adecuada por parte del personal que labora en cada servicio del Hospital. En razón de lo anterior se realiza la presente investigación, con el objetivo de evaluar patógenos en aguas residuales de hospitales. Realizando pruebas de laboratorio para la identificación de bacterias patógenas como: *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonellas spp* y respectivamente luego del procedimiento de identificación de cocos Gram Positivos se realizó pruebas bioquímicas para la identificación de familias Enterobacteriaceae. Tales como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* *Shigella dysenteriae*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*.

OBJETIVOS

Objetivo general

- ✓ Evaluar patógenos en aguas Residuales de 2 unidades Hospitalarias de la coordinación zonal 3- salud.

Objetivos específicos.

- ✓ Identificar los puntos de muestreo representativos en el caudal de circulación, para la toma de muestras de aguas Residuales en las Unidades Hospitalaria de la coordinación zonal 3- salud.
- ✓ Realizar un análisis microbiológico de las muestras recogidas de aguas Residuales de las unidades Hospitalarias de la coordinación zonal 3- salud en los laboratorios pertinentes.
- ✓ Evaluar las tipologías de patógenos presentes en las muestras analizadas de aguas Residuales de las unidades Hospitalarias de la coordinación zonal 3- salud.
- ✓ Establecer lineamientos para el para el manejo adecuado de estos vertidos, y mecanismos de evaluación de toxicidad.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO REFERENCIAL

1.1 Antecedentes de la Investigación.

Los problemas asociados a los líquidos residuales generados en centros de salud han sido motivo de preocupación internacional debido al peligro de una potencial propagación de enfermedades y a los riesgos ambientales derivados de la ausencia de tratamientos adecuados. Es por ello que estos problemas trascienden el campo técnico-sanitario e involucran aspectos sociales, económicos, políticos y ambientales, entre otros (FERREIRA LA ROSA Y COLS., 2000).

En nuestro país no se ha prestado la debida atención al estudio de las aguas residuales de los hospitales y centros de salud, la mayoría de hospitales y centros de salud vierten directamente dichas aguas al sistema de alcantarillado, sin tomar en cuenta que estas aguas pueden tener gran cantidad de residuos químicos peligrosos y microorganismos patógenos capaces de permanecer latentes por largos periodos de tiempo, siendo esta una alerta emergente ya que como es de conocimiento público las aguas del sistema de alcantarillado en la mayoría de ciudades de este país son vertidas directamente a los ríos sin recibir ningún tipo de tratamiento, por lo que cabe recalcar que las personas que pudieran tener un contacto directo o indirecto con dichas aguas pueden estar expuestas a un sinnúmero de infecciones y enfermedades.

En los residuos hospitalarios vertidos a los emisarios finales se encuentran la materia orgánica como la sangre y los fluidos, los residuos de medicamentos químicos y los desinfectantes. En la digestión anaerobia, la materia orgánica se descompone por la acción de microorganismos en la ausencia del oxígeno, y se producen metano y anhídrido de carbono. Es un proceso también muy utilizado para tratar aguas residuales fuertes, procedentes de industrias con una base biológica, en donde los residuos tienen un contenido de materia orgánica comparable a los lodos espesados, como los provenientes de la producción de levaduras y de la fabricación de almidón, además de las suspensiones de origen animal de las operaciones agrícolas intensivas.

De acuerdo (BASSI Y MORETTON, 2003) Los residuos sólidos y los efluentes líquidos que provienen de los hospitales representan un impacto en la salud pública cuya magnitud comenzó a evaluarse en los últimos años en ámbitos científicos.

En este contexto la División de Apoyo Operacional en Salud Ambiental y el Centro Europeo de Salud Ambiental de la OMS han formado un grupo internacional para estudiar el problema de los residuos en los centros de salud en países en desarrollo (PRUESS Y COLS, 1998).

En otros países como en Argentina se ha realizado estudios referentes a las aguas residuales de los hospitales como las Características Químicas, Biológicas y Toxicológicas de dichas aguas, que muestran la existencia de patógenos en las aguas de los hospitales pese al uso de desinfectantes. (PAZ, MUZIO, GEMINI, & MORETTON, 2004).

1.2 Bases teóricas.

1.2.1 Aguas Contaminadas.

Se entiende como la adición de algún material en el agua alterando su calidad y su composición química. Según la Organización Mundial de la Salud el agua está contaminada “cuando su composición se haya modificado de modo que no reúna las condiciones necesarias para el uso, al que se le hubiera destinado en su estado natural”. (ROLDAN, 1992).

1.2.2. Aguas Residuales de Hospitales.

La composición de las aguas residuales procedentes de los centros de salud presenta fluctuaciones más o menos evidentes en su descarga a la red de alcantarillado mixto de la ciudad debido a la gran diversidad de sustancias químicas y materiales biológicos eliminadas en los mismos.

Según BASSI Y MORETTON (2003) tanto los residuos sólidos como los efluentes líquidos provenientes de centros hospitalarios representan un impacto sobre la salud pública cuya magnitud ha comenzado a evaluarse en los últimos años en ámbitos científicos.

En este contexto la División de Apoyo Operacional en Salud Ambiental y el Centro Europeo de Salud Ambiental de la OMS han formado un grupo internacional para estudiar el problema de los residuos en los centros de salud en países en desarrollo (DUARTE C.,2013).

Los hospitales generan aproximadamente 750 litros de aguas residuales por cama por día, estos efluentes llevan una gran carga de microorganismos patógenos, farmacéuticos parcialmente elementos metabólicos, radiactivos y otras sustancias tóxicas y químicas. La dosis de contaminantes de origen hospitalario muestra que ciertas sustancias, tales como agentes antitumorales, antibiótico y compuestos organohalogenados al dejar las plantas de tratamiento de aguas residuales, estos compuestos químicos pueden provocar la contaminación del hábitat, un desequilibrio biológico además de causar efectos tóxicos agudos y mutagénicos en organismos vivos. (DUARTE C.,2013).

1.2.3. Microbiología del agua.

1.2.3.1. Microbiología.

La microbiología es la ciencia que estudia los organismos no visibles a simple vista al ojo humano, siendo necesario el uso de un microscopio. En el ámbito sanitario esta se ocupa del estudio de agentes que actúan directamente sobre el hombre, produciendo diferentes infecciones y enfermedades. (GARCIA & PICAZO, 1999)

1.2.3.2. Microorganismos.

Los microorganismos son seres diminutos que únicamente pueden ser observados con la ayuda de un microscopio. Estos pueden ser células de tipo eucariota, si poseen membrana y organelos, como es el caso de hongos y algas; o de tipo procariota, si su estructura interna es más sencilla como es el caso de las bacterias. (DE LA ROSA & PRIETO, 2011)

1.2.3.3. Crecimiento microbiano.

Cuando hablamos de crecimiento microbiano en realidad nos referimos al número de células, no al tamaño. Los microorganismos que están en etapa de crecimiento aumentan en cantidad y se agrupan en colonias, para un óptimo crecimiento se requieren nutrientes y las condiciones fisicoquímicas apropiadas. (TORTORA, FUNKE, & CASE, 2007)

1.2.3.4. Morfología bacteriana.

La rigidez de la pared celular determina la morfología de una célula bacteriana. Los principales tipos de formas presentes en las bacterias son: esféricas denominadas como cocos y bacilos las formas alargadas reciben el nombre de bacilos. (NEGRONI, MICROBIOLOGIA ESTOMATOLOGICA, 2009).

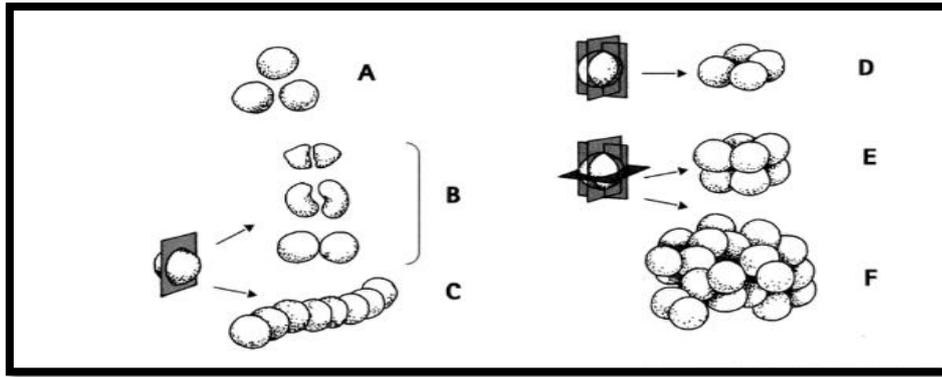


Figura 9-1: Formas y agrupaciones de los cocos a. micrococos B. diplococos C. Estreptococos D. tetracos E. Sarcina F. estafilococos.

Fuente (NEGRONI, MICROBIOLOGIA ESTOMATOLOGICA, 2009)

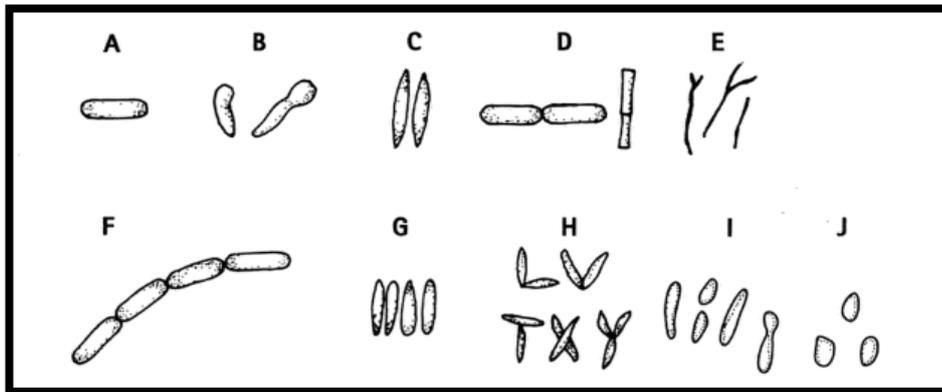


Figura 10-1: formas y agrupaciones de los bacilos

Fuente (NEGRONI, MICROBIOLOGIA ESTOMATOLOGICA, 2009).

1.2.3.4 Factores fisicoquímicos.

Son muchos los factores fisicoquímicos que pueden afectar el crecimiento de las bacterias, entre los principales están:

- Temperatura.

Es un factor muy importante en el crecimiento microbiano, temperaturas extremadamente elevadas y extremadamente bajas se utilizan para la conservación de microorganismos o para provocar su muerte respectivamente. Existe, entre ambos extremos, la temperatura optima de crecimiento en el que cierto tipo bacterias incorporan los nutrientes esenciales para que se d lugar

al crecimiento y la división celular. (APELLA & ARAUJO, MICROBIOLOGIA DEL AGUA CONCEPTOS BASICOS, 2005)

Tabla 1.1: Clasificación de los microorganismos según la temperatura.

Grupo	TEMPERATURA EN °C			
	Mínima	Optima	Máxima	Ejemplos
PSICRÓFILOS				
Obligados	<0	10-15	<20	<i>Flavobacterium</i>
Facultativos	0 15-20	15-30 30-40	>25 <45	Bacterias de deterioro de alimentos congelados.
MESÓFILOS				Mayoría de las bacterias.
TERMÓFILOS				
Facultativos	35	42-45	>50	<i>Thermus aquaticus</i>
Estrictos	45	50-75	>80	<i>Thermoproteus</i>
Extremos	65	80-105	>100	<i>Pyrolobus Fumarii</i>

Fuente: http://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf

- pH: Las concentraciones de iones hidrogeno en general tienen un pH comprendido entre 5 y 9 y la mayoría de las bacterias crecen dentro de este rango de pH, mientras que unas pocas pueden desarrollarse a valores superiores o inferiores de pH.

Tabla 16-1: Clasificación de los microorganismos según el rango del pH.

Tipo de microorganismo	Rango de Ph	Ejemplo
ACIDÓFILOS	1-5	<i>Thiobacillus</i> (eubacterias) <i>Sulfolobus</i> (archeas)
NEUTRÓFILOS	5,5-8	Mayoría de las bacterias
BASÓFILOS	8,5-11,5	<i>Bacillus alcalophilus.</i>

Fuente: http://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf

Otros factores fisicoquímicos importantes para el desarrollo de los microorganismos son: la disponibilidad de agua, la presión osmótica, la disponibilidad de O₂, tensión superficial, etc.

- DBO (*Demanda Bioquímica de oxígeno*)

Este parámetro se analiza ten aguas residuales y con muy poca frecuencia en aguas superficiales. En las aguas residuales suele variar entre 200 y 400mg/L (Queralt 2003), es la cantidad de oxígeno consumido (durante 5 días en la oscuridad a 20°C). Para oxidar la materia orgánica presente en el agua por medio de procesos anaerobios. (DELGADILLO, CAMACHO, PEREZ, & ANDRADE, 2010).

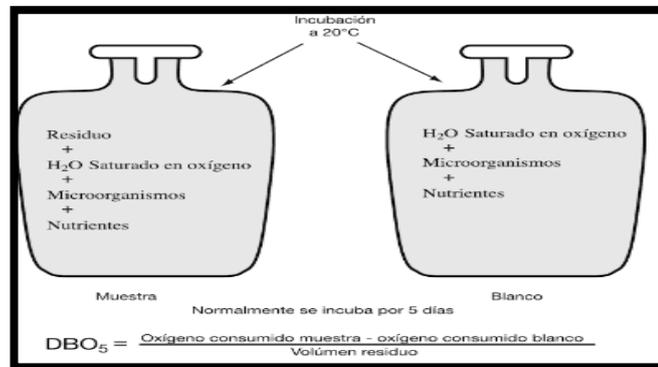


Figura 11-1: Proceso para determinas DBO5

Fuente (DELGADILLO, 2010, p.85)

- *DQO (Demanda Química de Oxígeno)*

El análisis de este parámetro se analizar tanto para aguas superficiales como para aguas residuales (Otoniel, 2004), es la cantidad de oxígeno necesario para descomponer químicamente la materia orgánica degradable y biodegradable en un periodo de 3 horas. (DELGADILLO, 2010, PG, 85).

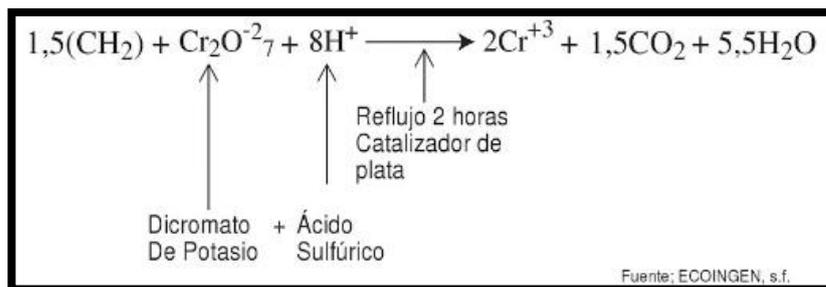


Figura 12-1: proceso de determinación de DQO en forma resumida

Fuente (DELGADILLO, 2010, p.86).

- *Sólidos totales*

Consiste en la cantidad de materia que queda como residuo después de una evaporación entre los 103° C a 105° C, se expresan en mg/l y su determinación es importante como indicio de la concentración de las aguas negras y de la intensidad de tratamiento necesario, se dividen en

sólidos suspendidos y sólidos disueltos involucrando a ambos parámetros a los sólidos volátiles y sólidos fijos.

- *Sólidos suspendidos*

Son pequeñísimas partículas de contaminantes en el agua, que contribuyen a su turbidez y que son perceptibles a simple vista, siendo factible su separación por procesos de sedimentación y/o filtración.

Su valor se refiere a la cantidad de sólidos en solución, tanto de tipo orgánico, como inorgánico

- Sólidos disueltos

Los sólidos disueltos corresponden a la materia orgánica e inorgánica en pequeñas cantidades, sales solubles y gases disueltos que se determinan en la muestra filtrada, evaporada y secada. Se subdivide en sólidos disueltos fijos y sólidos disueltos volátiles.

1.2.4. Enfermedades causadas por bacterias.

1.2.4.1. Escherichia coli.

Al colonizar tejidos extra-intestinales *Escherichia Coli* produce inflamaciones piógenas, son las principales causantes de la enterocolitis y otros problemas asociados a los problemas estomacales. Las septicemias de *Escherichia Coli* son muy preocupantes por la gravedad de su pronóstico. Se pueden instalar en el hígado, vías respiratorias y otros órganos causando graves daños. (ROMEO, 2007).

1.2.4.2. Salmonella spp.

La mayoría de infecciones presentes en los humanos es producida por la ingesta de organismos presentes en el agua o alimentos contaminados. Las infecciones pueden conducir a varios síndromes clínicos, que incluyen infecciones asintomáticas, gastroenteritis aguda, fiebre tifoidea o un estado de portador crónico asintomático. (ROMERO, 2007).

1.2.4.3. Staphylococcus aureus.

Es el agente de gran número de infecciones en el hombre, pueden producir procesos inflamatorios en cualquier tejido, los cuales pueden ser desde muy leves, hasta muy graves y muerte. Estos suelen fabricar toxinas crean cuadros clínicos con diversas manifestaciones, un aspecto muy importante a tomar en cuenta es que con gran facilidad desarrollan resistencia a muchos antibióticos, lo que significa que su colonización en los humanos es de gran peligro. Sobre todo, en individuos hospitalizados o infectados por cepas hospitalarias, altamente resistentes. (ROMEIO, MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA HUMANA, 2007).

Los *Staphylococcus aureus*: produce lesiones superficiales de la piel y abscesos localizados en otros sitios, causa infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis. Es causante de infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario, y es la principal causa de infecciones nosocomiales. (Bustos, 2006).

1.2.5. Medios de cultivo.

Un medio de cultivo está constituido por sustancias complejas que hacen posible el crecimiento de las bacterias, estas obtienen del medio las fuentes de C, N, P, O, Na, Mg y otros nutrientes esenciales para su crecimiento. (GARCIA & FERNANDEZ, 1994).

1.2.5.1. Clases de medios de cultivo.

Los medios de cultivo se clasifican en

1. Según la composición.

- Definidos: son aquellos en los que se conoce exactamente la identidad de las sustancias que los integran.
- Indefinidos: en ellos forman parte sustancias de naturaleza compleja cuya composición es difícil de establecer con precisión (peptonas, extractos de carne, extractos de levadura) estos medios se emplean más que los anteriores.

2. Según su estado físico.

- Líquidos: favorecen mucho al desarrollo y multiplicación de las bacterias ya que al difundirse estas por el medio encuentran con facilidad las sustancias que necesitan.
- Sólidas: en ellas las bacterias crecen con mayor dificultad puesto que los nutrientes se agotan rápidamente en el punto donde se desarrollan; pero son de gran utilidad

para el estudio de las características de crecimiento, de la producción de hemólisis y otras peculiaridades.

- Semisólidas; se utilizan especialmente para el estudio de algunas propiedades bioquímicas. (GARCIA & FERNANDEZ, 1994).

3. Según su aplicación.

- Generales: apropiadas para el cultivo de la mayoría de microorganismos por la facilidad con la que se desarrollan en ellos.
- Enriquecidos: permiten el crecimiento de bacterias difíciles de cultivar ya que contienen abundantes nutrientes.
- Especiales: son utilizados con fines de diferenciación. (GARCIA & FERNANDEZ, 1994)

1.2.6. Tipos de agares.

1.2.6.1. Agar SS. (Salmonella shigella).

Es un medio altamente selectivo para el aislamiento de *Shigella* (Colonias transparentes no fermentadoras de lactosa) y *Salmonella* (Colonias transparentes y negras no fermentadoras de lactosa).

Composición: Extracto de carne, peptona, lactosa, sales biliares, citrato sódico, citrato férrico, tiosulfato sódico, verde brillante, rojo neutro, agar y agua destilada. (GARCIA & FERNANDEZ, 1994)

1.2.6.2. Agar Manitol Salado

Se trata de un medio selectivo y diferenciador de los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus* las colonias de *Staphylococcus áureos* fermentan generalmente el manitol y son amarillos o anaranjadas diferentes de las colonias blancas de la mayoría de las otras colonias.

Composición: extracto de levadura, triptona, gelatina, manitol, ClNa, sulfato amónico, sulfato potásico, rojo fenol, agar y agua destilada. (GARCIA & FERNANDEZ, 1994).

1.2.6.3. Medio de cultivo Brilliant Green Bile.

Es un medio líquido, para la detección de *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas (coliformes), la composición es pectona 10g, lactosa 10g, bilis de buey 20g, verde brillante 0,0133g y agua destilada 1000ml. (Anderson & Calderon, 2000).

1.2.6.5. Agar Kligler.

Determinar la capacidad de un microorganismo para atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de producción basal, con producción de gas o sin ella, junto con la determinación de la producción de ácido sulfhídrico (H₂S). (de Alvear, 2003)

1.2.6.6. Agar Citrato.

Medio utilizado para la diferenciación de Enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía, contiene: MgSO₄·7H₂O- 0.2g, (NH₄)H₂PO₄-1.0g, K₂HPO₄-1.0g, Citrato de sodio-2.0g, NaCl-5g, Agar-15g, Azul de bromotimol-0,08g, agua destilada 1L. (Rodriguez, Gamboa, Hernandez, & Garcia).

1.2.7. Tinción Gram.

Diferencia a las bacterias por su morfología t taxonomía. Las bacterias se clasifican en dos grandes grupos según retengan o no el colorante base, que es el violeta de genciana o el cristal violeta.

- Las bacterias Gram positivas aparecen en el citoplasma teñidas de azul uniformemente por el azul violeta.
- Las bacterias Gram negativos se tiñen de rojo por el colorante usado como contrastador (safranina). (GARCIA & FERNANDEZ, 1994).

La diferencia entre unas y otras radica en la composición química de la pared celular y su permeabilidad. La pared de las Gram negativos es más delgada y presenta un contenido lipídico diez veces mayor que el de las Gram positivas, lo cual dificulta la retención del colorante en el citoplasma.

Las técnicas de tinción varían según sus autores, una técnica estándar podría ser:

- Violeta de genciana o cristal violeta.....2 minutos
- Lavar con agua destilada
- Solución de Lugol.....1 minuto
- Alcohol acetona al 30% o alcohol etílico.....30 segundos
- Lavar con agua destilada
- Fuchina diluida al 5% o safranina.....1 minuto
- Lavar con agua destilada
- Dejar secar al aire. (GARCIA & FERNANDEZ, 1994).

1.2.8. Pruebas Bioquímicas de identificación.

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias, algunas son rápidas y evalúan la presencia de una enzima, su lectura va desde segundos hasta unas pocas horas, pero la mayoría requieren un poco más de tiempo, pues necesitan incubar al microorganismo durante unas 24 a 48h o más, esto para detectar componentes metabólicos o sensibilidad a alguna sustancia. (FERNÁNDEZ, ANA., et al. 2010. p. 6)

1.2.8.1. Prueba Agar Kligler.

Mediante esta prueba se puede determinar la capacidad de un microorganismo para metabolizar un hidrato de carbono específico (glucosa, lactosa), la producción de gases CO₂, H₂ como productos finales del metabolismo de hidratos de carbono y la producción de ácido sulfhídrico. (ÁLVAREZ, María., & BOQUET, Ernesto. 1990. p. 115).

1.2.8.2. Prueba Citrato.

Esta prueba determina la capacidad que poseen algunos microorganismos de utilizar al citrato como única fuente de carbono, produciendo alcalinidad. El medio usado para esta prueba es el Agar Simmons Citrato. (ÁLVAREZ, M., & BOQUET, E. 1990. p. 115).

1.2.8.3. Prueba SIM (Sulfuro- Indol- Movilidad).

Determina la presencia en bacterias de la enzima triptofanasa, la cual degrada el aminoácido triptófano a Indol, manifestado por la aparición de un anillo rojizo debido a que el reactivo de Kovacks reacciona con el indol. A partir del tiosulfato de sodio los microorganismos pueden generar ácido Sulfhídrico y debido al agar se puede detectar la movilidad. (ÁLVAREZ, M., & BOQUET, E. 1990. p. 115).

1.2.8.4. Prueba UREA.

Determina si un microorganismo tiene la capacidad de desdoblar urea mediante un proceso de alcalinización producida en el medio de cultivo y detectada mediante un indicador de pH que en este caso es el rojo fenol. (ÁLVAREZ, M., & BOQUET, E. 1990. p. 115).

1.2.9. Técnicas de inocular.

Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inoculo) en un medio adecuado, las bacterias se cultivan en materiales estériles, de preferencia de vidrio, como tubos de ensayo, cajas Petri, Erlenmeyer y tubos de fermentación.

El procedimiento de inoculación se debe hacer con un hisopo estéril, un asa de cultivo o una aguja de siembra, los dos últimos deben pasar por una llama al rojo para destruir cualquier forma de vida que pueda existir en la superficie.

1.2.9.1 Inoculación en medios sólidos:

- Cajas Petri.

Por vaciado en placa: se coloca sobre la superficie el inoculo y se lo esparce por el medio con la ayuda de un hisopo.

En estría: cruzada, en Z, simple o Masiva. En esta siembra el inoculo se disemina de atrás para adelante, con el propósito de agotar el inoculo hasta obtener colonias aisladas. (BAILÓN, Lucía., et al. 2003. p.20).

- Tubos pico de flauta

Puede hacerse por picadura, esto es en plano inclinado, atravesando todo el fondo del agar con el asa recta; por estría, o por picadura y estría a la vez. (BAILÓN, Lucía., et al. 2003. p.20).

- Inoculación en medios semisólidos

Por picadura: se realiza en tubos con agar inclinado que constituye un medio adecuado para el desarrollo de bacterias con características como la formación de pigmentos, que se observan más fácilmente sobre estos medios. La prueba que se valora comúnmente es la motilidad, para lo cual solo se pica el agar con la aguja, con un movimiento recto. (BAILÓN, Lucía., et al. 2003. p.20).

- Inoculación en medios líquidos

En estos medios el crecimiento bacteriano se observa como un enturbiamiento, un velo o sedimento. (BAILÓN, Lucía., et al. 2003. p.20).

CAPITULO II.

2. MARCO METODOLOGICO.

2.1 Materiales y Métodos.

2.1.1. *Tipo y diseño de Investigación.*

Esta investigación es cuasi experimental de tipo transversal que busca vincular la relación entre la variable dependiente (crecimiento de microorganismos patógenos) y la variable independiente (Temperatura).

2.1.2. *Unidad de análisis.*

La unidad de análisis en esta investigación será el agua residual producida en las unidades médicas, Hospital Andino (cantón Riobamba), Hospital General Puyo (Cantón Puyo) durante los meses marzo, abril y mayo según las operaciones que dichas entidades realicen en cada una de las áreas del hospital y el lugar donde el efluente es descargado.

2.1.3. *Población de Estudio*

La población de estudio es:

Hospital Andino: cajas de revisión de las áreas de Emergencia, Hospitalización, laboratorio y quirófano.

Hospital general puyo: cajas de revisión tanto de entrada como la salida de la planta de tratamiento del Hospital.

2.1.4. *Tamaño de la muestra.*

Hospital Andino: El tamaño de la muestra corresponde a 1000 ml de agua residual para realizar los análisis físico-químicos, del efluente, además 250 ml de agua residual por punto para los análisis microbiológicos.

Hospital general puyo: El tamaño de la muestra corresponde a 1000 ml de agua residual para realizar los análisis físico-químicos, del efluente, además 250 ml de agua residual por punto seleccionado para los análisis microbiológicos.

2.1.5. Selección de la muestra

El muestreo, manejo y conservación de muestras de las aguas residuales, se realizó bajo los criterios técnicos establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:2013 y el Manual de métodos analíticos para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en aguas. (SEVERICHE, et al, 2013, p.8)

Siguiendo este procedimiento:

- 1) Definición del plan de muestreo.
- 2) Ejecución del muestreo
- 3) Determinación de parámetros in situ.
- 4) Conservación, transporte y almacenaje.

2.1.5.1. Sitio de experimentación.

Las unidades de salud donde se tomaron las muestras para esta investigación se encuentran ubicadas en:

Hospital Andino: calles Pastaza s/n y Manabí (Cdla. 24 de Mayo). Del Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo.

Hospital General Puyo: 9 de Octubre y Bolívar Feicán Pastaza, Puyo.

Tabla 1-2: Coordenadas geograficas del Hospital Andino, UTM WGS84 ZONA 17 S.

Punto	X	Y
Punto 1	0384142	78404650
Punto 2	0384109	78404485
Punto 3	0384285	78404615
Punto 4	0384230	78404441

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.



Figura1-2: Ubicación del Hospital Andino

Fuente: Google Earth, 2017.

Tabla 2-2: Coordenadas geográficas del Hospital General Puyo, UTM WGS84 ZONA 17 S.

Punto	X	Y
Punto 1	130300	7801298
Punto 2	130312	780779
Punto 3	130866	7801325
Punto 4	130811	780752

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017



Figura 2-2: Ubicación del Hospital General Puyo

Fuente: Google Earth, 2017.

2.1.5.2. Materiales, equipos y medios de cultivo.

2.1.5.2.1 Materiales.

- Durante el muestreo de agua Residual.

Tabla 3-2: Materiales usados.

Cooler con hielos para el transporte de muestras.	Balde
Cronómetro.	Cuerda
Termómetro	Cámara fotográfica.
Envases estériles para la toma de muestras biológicas.	Libreta
Envases plásticos de 1 Litro para muestras físico químicas.	Termómetro
Marcador permanente.	Guantes desechables
Mandil	Mascarilla

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

- Durante la fase experimental llevada a cabo en el laboratorio de Bacteriología y de Bioanálisis clínico.

Tabla 4-2: Materiales usados.

Asa metálica.	Placas portaobjetos.
Balanza Analítica.	Tubos con Tapa rosca esterilizables.
Cajas Petri.	Gasas estériles.
Fundas de esterilización.	Algodón.
Gradilla para tubos.	Papel aluminio
Hisopos estériles.	Puntas azules para pipeta
Matraces Erlenmeyer.	Espátula
Mechero Bunsen.	Varilla
Micropipeta de 1000 uL.	Reverbero
Microscopio	Lámpara de alcohol

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

- Equipos.

Tabla 5-2 Equipos usados.

Equipos	Reactivos
Cámara de Flujo laminar.	Agua destilada
Autoclave	Aceite de inmersión.
Estufa bacteriológica.	Alcohol potable.
Microscopio	Violeta de Genciana
Lugol	

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

- Medios de cultivo.

Tabla 6-2 Medios de cultivo usados.

Agar Brilliant Green Bile	Agar Citrato (MERCK)
Agar BBL Eosin	Agar Urea (MERCK)
Agar SS	Agar SIM Medium (MERCK)
BBLTM Mannitol Salt Agar	Peptone
Agar Kligler (MERCK)	

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

2.2. Análisis e interpretación de la información.

2.2.1. Obtención de microorganismos a partir de muestras de Aguas Residuales.

2.2.1.1. Sitio de muestreo para la obtención de microorganismos.

La toma de muestras de aguas residuales para la obtención de microorganismos- patógenos se realizó en las cajas de revisión de las áreas de Emergencia, Hospitalización, laboratorio y quirófano del Hospital Andino, perteneciente al cantón Riobamba.

La toma de muestras de aguas residuales para la obtención de microorganismos- patógenos se realizó de igual manera en la planta de tratamiento tanto del afluente como del efluente del Hospital general Puyo, perteneciente al cantón Puyo.

2.2.3. Procedimiento

Para la obtención de microorganismos patógenos a partir de muestras de Aguas Residuales ubicada en las cajas de revisión del Hospital Andino (cantón Riobamba) y el Hospital General Puyo (cantón Puyo), se usó como guía los criterios técnicos estipulados en el Manual de disposición de aguas residuales, punto 7. 1. Muestreo de agua. (CZYSZZ, et al, 1991, pp.871-872).

El primer paso consistió en la determinación de la profundidad en todos los puntos pre-seleccionados para el muestreo, arrojando diferentes datos en cada punto, por lo que fue necesario homogenizar la muestra. La toma de muestras en los 6 diferentes puntos se realizaron a una misma profundidad (5 cm) con relación a la parte inferior de las cajas de revisión en cada unidad de salud.

Se procedió a extraer aproximadamente 1000 ml de agua residual para realizar los análisis físico-químicos, del efluente, además 250 ml de agua residual por punto para los análisis microbiológicos, debidamente rotulada y colocadas en un Cooler con hielos para el traslado al laboratorio de Bacteriología y Bioanálisis Clínico perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3. Análisis de laboratorio.

Los análisis físico químicos del efluente de aguas Residuales de las unidades médicas Hospital Andino y Hospital General Puyo se realizó el laboratorio de análisis de aguas (ESPOCH) los

parámetros medidos fueron pH , Conductividad, Salinidad, solidos totales disueltos turbiedad , color, DBO, DQO , los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de Bacteriología y Bioanálisis clínico (ESPOCH) Los parámetros analizados fueron *Escherichia coli* , *Salmonella spp* , *Staphylococcus aureus* . Además, se tomaron in situ los análisis de T°.

2.3.1. Técnica de medición de pH.

- Presionamos la opción ON, para encender el peachimetro.
- Calibramos el peachimetro presionamos la opción CAL.
- Una vez calibrado el peachimetro procedemos a la medición.
- Limpiamos los electrodos y el termómetro (sonda) con agua destilada.
- Sumergimos los electrodos y el termómetro (sonda) en la sustancia (agua residual).
- Buscamos digitalmente la opción medición de pH y presionamos la opción respectiva.
- Registramos la medida del pH que arroja la sustancia medida.
- Limpiar los electrodos y el termómetro (sonda).
- Apagamos el peachimetro presionando la opción OFF.

2.3.2. Técnica de medición de Conductividad.

- Presionamos la opción ON, para encender el conductímetro.
- Calibramos el conductímetro
- Una vez calibrado el conductimetro procedemos a la medición.
- Limpiar bien el exterior de la cubeta (la muestra) y colocar la cubeta en el soporte porta cubetas
- Seleccionar en la pantalla: Medición
- Medir la conductividad de la muestra en units s/cm.
- Registramos la medida de la conductividad que arroja la sustancia medida.
- Limpiar las cubetas.
- Apagamos el conductímetro presionando la opción OFF.

2.3.3. Medición de Salinidad.

- Presionamos la opción ON, para encender el peachimetro.
- Calibramos el peachimetro presionamos la opción CAL.
- Una vez calibrado el peachimetro procedemos a la medición.
- Limpiamos los electrodos y el termómetro (sonda) con agua destilada.

- Sumergimos los electrodos y el termómetro (sonda) en la sustancia (agua residual).
- Buscamos digitalmente la opción medición de salinidad y presionamos la opción respectiva.
- Registramos la medida de salinidad que arroja la sustancia medida.
- Limpiar los electrodos y el termómetro (sonda).
- Apagamos el peachimetro presionando la opción OFF.

2.3.4. Medición de Sólidos totales disueltos.

- Presionamos la opción ON, para encender el peachimetro.
- Calibramos el peachimetro presionamos la opción CAL.
- Una vez calibrado el peachimetro procedemos a la medición.
- Limpiamos los electrodos y el termómetro (sonda) con agua destilada.
- Sumergimos los electrodos y el termómetro (sonda) en la sustancia (agua residual).
- Buscamos digitalmente la opción medición de STD y presionamos la opción respectiva.
- Registramos la medida del STD que arroja la sustancia medida.
- Limpiar los electrodos y el termómetro (sonda).
- Apagamos el peachimetro presionando la opción OFF.

2.3.6. Medición de color.

- Seleccionar en la pantalla: **programas almacenados.**
- Seleccionar el test **125 COLOR 465 nm.**
- Llenar una cubeta cuadrada de una pulgada de 10 ml hasta la marca de 10 ml con muestra.
- **Preparación del blanco:** llenar otra cubeta cuadrada de una pulgada de 10 ml hasta la marca con agua destilada.
- Limpiar bien el exterior de la cubeta (el blanco) y colocar el blanco en el soporte porta cubetas con la marca de llenado hacia la derecha.
 - Seleccionar en la pantalla: Cero
 - La pantalla indicara: 0 units PtCo.
- Limpiar bien el exterior de la cubeta (la muestra) y colocar la cubeta en el soporte porta cubetas con la marca de llenado hacia la derecha.
 - Seleccionar en la pantalla: Medición
 - Medir el color de la muestra en units PtCo.

2.3.7. Medición de DBO5.

- Se introduce una varilla agitadora (imán) en el interior del biómetro.
- Se añade el inhibidor de la nitrificación en una proporción equivalente a 20 gotas de la disolución de alícuota por litro de muestra.
- Se ponen dos perlitas de OHNa en la cápsula diseñada a tal efecto.
- Se añade un volumen de muestra determinado en el biómetro. El volumen a utilizar depende del rango de DBO esperado, y está especificado en las instrucciones de uso del biómetro.
- Se coloca la cápsula conteniendo OHNa sobre la parte superior del biómetro, una vez que la muestra esté estable y no se observen burbujas de aire.
- Se cierra el biómetro con el correspondiente tapón-registrador, y se pone la lectura a cero.
- Se introduce el biómetro en cámara a 25°C y se enciende el agitador magnético. Se mantiene agitación suave constante durante todo el ensayo.
- Se realiza la lectura a los cinco días, siguiendo el procedimiento de lectura de la casa fabricante del biómetro.

2.3.8. Medición de DQO.

- Se enciende la placa calefactora.
- Se pesan 0,44 g de HgSO₄ en matraz para reflujo de 100 ml. La cantidad propuesta de HgSO₄ es suficiente en la mayoría de los casos, para eliminar las posibles interferencias por Cl en la muestra. - Se colocan unas bolitas de vidrio en el matraz para favorecer la ebullición.
- Se añaden 20 ml de muestra. - Se añaden lentamente 30 ml de la solución de sulfato de plata en ácido sulfúrico, con una pipeta de vertido, mezclando bien para disolver el HgSO₄, y enfriar.
- Se añaden 12,5 ml de solución de dicromato potásico 0,25 N y se mezclan bien todos los productos añadidos.
- Sobre el matraz se dispone el elemento refrigerante (condensador del reflujo), y se somete a reflujo durante 2 horas.

2.4. Obtención y aislamiento de microorganismos en el laboratorio.

2.4.1. Preparación de los medios de cultivo.

2.4.1.1. Diluciones

El primer paso consiste en preparar diluciones seriadas de los microorganismos presentes en las aguas residuales de las unidades médicas. Para esta práctica se esterilizo agua de peptone 9 ml por tubo haciendo tres replicas por muestra y se agregó 1 ml de muestra de agua residual de esta manera se obtuvo una dilución 1:10 o 10^{-1} , por cada muestra de agua Residual.

Tras concluir con este proceso se tomó una alícuota de 1ml de todas las muestras madre anteriormente preparadas y se colocó en los tubos estériles con 9 ml de agua de peptone, de esta manera se obtiene una de dilución de 1:100 o 10^{-2} por cada muestra de agua residual. Posteriormente, se tomó un 1ml de dilución 10^{-2} y se la colocó en otro frasco estéril con 9 ml de agua estéril obteniendo una dilución 10^{-3} .

Estas diluciones se realizaron sucesivamente hasta obtener una dilución final de 10^{-4} .

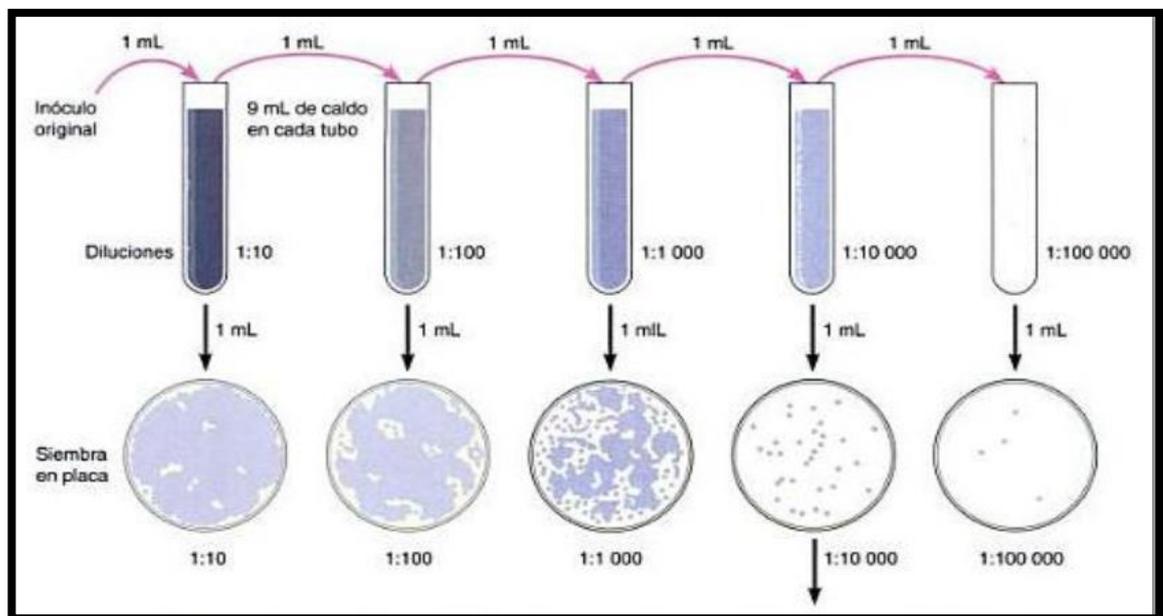


Figura 3-2: Recuento en placas y diluciones seriadas.

Fuente: (TORTORA, et al., p. 179)

2.4.2. Crecimiento de *Escherichia coli*.

2.4.2.1 Preparación del medio de Cultivo (*Brilliant Green Bile*).

Se realizó un cálculo para cada muestra con 3 réplicas para cada una

$$40g \rightarrow 1000mL$$

$$x \rightarrow 200mL$$

$$X = 8 \text{ g de Agar en } 200 \text{ ml}$$

Medir 200 ml de agua destilada, Pesar 8 gr de Brilliant Green Bile, diluir el medio de cultivo pesado en 200 ml de agua destilada. Colocar la solución en un Erlenmeyer de 500 ml someter a calor hasta que llegue al punto de burbujeo (3 repeticiones). Autoclavar por 30 min el medio de cultivo.

2.4.2.2. Procedimiento para la siembra.

- Medir 1ml de solución en una pipeta correctamente graduada y colocar 9 ml de solución en cada tubo previamente secos y esterilizados
- Colocamos de manera invertida los tubos Durham en cada tubo que contiene la solución.
- Colocamos 1 ml de muestra (agua residual- hospital)
- Incubamos en la estufa de tiempo de 24 a 48 horas.

2.4.2.3. Preparación del medio de cultivo (BBL Eosin).

- Identificamos los tubos que reaccionaron positivamente (*E. Coli*) Brilliant Green Bile incubados anteriormente por un periodo de 24 – 48 horas.
- Determinación del volumen total para la preparación del medio:

$$1 \text{ caja} \rightarrow 20 \text{ mL}$$

$$30 \text{ cajas} \rightarrow X$$

$$x = 600 \text{ mL}$$

- Preparación del medio de cultivo:

$$36 \text{ g} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$x \rightarrow 600 \text{ mL}$$

$$X = 21,6 \text{ g de Agar en } 600 \text{ ml}$$

- Pesar 21,6 g de medio de cultivo BBL Eosin.
- Medir 600 ml de agua destilada
- Diluir el medio de cultivo en el agua destilada.
- Esterilizar el medio.
- En la cámara de flujo área totalmente estéril procedemos a colocar 20 ml de agar en cada caja.
- Dejamos que las cajas junto con el medio se solidifiquen.

- Colocamos 1ml de muestra (agua residual – hospitales) en cada caja, haciendo tres replicas por muestra.
- Realizamos el método de vertido y extensión en placa y dejamos que se seque por un tiempo considerado.
- Etiquetamos y sellamos correctamente.
- Incubamos a 37 °C por un periodo de 24- 48 horas.
- Observar los resultados.

2.5.2. Crecimiento de *Salmonella spp.*

2.5.2.1. Solución de peptone.

- **Preparación del medio de cultivo:**

$$1g \rightarrow 1000mL$$

$$x \rightarrow 100 mL$$

- $X = 0,1 g$ de Agar en 100 ml
- Pesamos 0,1 g de peptone.
- Medimos 100 ml de agua destilada.
- Diluimos la peptone en el agua destilada.
- Esterilizar por 30 min.
- Colocamos 9 ml de la solución más 1 ml de muestra de agua residual en tubos previamente esterilizados y agitamos.

2.5.2.2. Preparación del medio de cultivo.

- Colocamos 480mL de agua destilada en un Erlenmeyer de 1000mL de volumen
- Realizamos una regla de tres para saber la cantidad de Agar *Salmonella* (Agar SS) que colocamos en 480mL.

$$60gr \quad 1000mL$$

$$x \quad 480mL$$

$$x = 28,8gr$$

- Pesamos 28,8gr de Agar SS.
- Colocamos los 28,8gr de Agar SS en los 480mL de agua destilada.
- Llevar el medio a la estufa hasta que llegue al punto de burbujeo (3 repeticiones).
- Autoclavar el medio por 30min.

- Colocamos el medio en cajas Petri en una cantidad de más o menos 20mL dejamos que el medio se solidifique.
- Procedemos a colocar 1mL de muestra diluida en agua de peptona.
- Realizamos el método por estría en placa, y dejamos que se seque por un tiempo considerado.
- Etiquetamos y sellamos correctamente.
- Incubamos a 37°C por un periodo de 24h a 48h.
- Observar los resultados.

2.6.2. Crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

2.6.2.1. Preparación del medio de cultivo.

- Colocamos 480mL de agua destilada en un erlenmeyer de 1000mL de volumen
- Realizamos un cálculo para la cantidad de *BBLTM* Mannitol Salt Agar que colocamos en 480mL.

$$\begin{array}{r} 111gr \quad 1000mL \\ x \quad 480mL \\ x = 53,28gr \end{array}$$

- Pesamos 53,28gr de *BBLTM* Mannitol Salt Agar utilizando la balanza digital del laboratorio.
- Colocamos los 53,28gr de *BBLTM* Mannitol Salt Agar en los 480mL de agua destilada.
- Llevar el medio a la estufa hasta que llegue al punto de burbujeo (3 repeticiones).
- Autoclavar el medio por 30min.
- Colocamos el medio en cajas Petri en una cantidad aproximada de 20mL dejamos que el medio se solidifique.
- Procedemos a colocar 1mL de muestra diluida en agua de peptona.
- Realizamos el método por estría en placa, y dejamos que se seque por un tiempo considerado.
- Etiquetamos y sellamos correctamente.
- Incubamos a 37°C por un periodo de 24h a 48h.
- Observar los resultados.

2.7.2. Pruebas bioquímicas.

Para realizar las pruebas Bioquímicas en primer lugar procedemos hacer la técnica de Tinción de Gram para identificar si las muestras que estamos analizando arrojan resultados como Bacilos Gram negativos o Bacilos Gram positivos.

2.7.2.1. Tinción de Gram.

La tinción Gram es una técnica de coloración que nos permite separar dos grupos de bacterias los Gram Positivas que se tiñen de color violeta azulado y las bacterias Gram negativas de color rojo-rosado permitiendo su diferenciación. (CASTILLO Y SALAVERT. 2012. p. 8)

El procedimiento utilizado para esta investigación siguió los lineamientos establecidos por (TORTORA et al.2007. p. 160-179) y es el siguiente:

1. Colocamos una gota de agua destilada sobre la placa porta objetos.
2. Flameamos el asa metálica, se deja enfriar, se toma un pequeño inóculo de la colonia bacteriana deseada y se realiza un frotis amplio sobre la placa porta objetos.
3. Esperamos unos segundos y flameamos rápidamente 3 veces la placa porta objetos para fijar la muestra.
4. Empapamos el porta objetos que contiene nuestra muestra fijada con violeta de genciana y esperamos 60 segundos para enjuagar toda la placa con ayuda de una pipeta llena de agua destilada.
5. Empapamos la placa porta objetos con Lugol y esperamos 60 segundos para proceder con el enjuague tal y como se describió en el punto anterior.
6. Empapamos la placa porta objetos con alcohol cetona para decolorar la muestra hasta que no se pueda observar color violeta en el lavado. Una vez que se deje de observar color violeta nos detenemos inmediatamente y enjuagamos con agua destilada la placa porta objetos.
7. Empapamos la placa porta objetos con Safranina y esperamos al menos 45 segundos antes de proceder con el enjuagado de la placa porta objetos.
8. Se deja secar la placa porta objetos al aire preferentemente sobre papel absorbente.
9. Una vez que la placa porta objetos este completamente seca limpiamos su lado posterior con un poco de alcohol (esto nos ayudara a visualizar mejor la muestra).
10. Identificamos la bacterias con ayuda de un microscopio, utilizando el 100 x y aceite de inmersión.

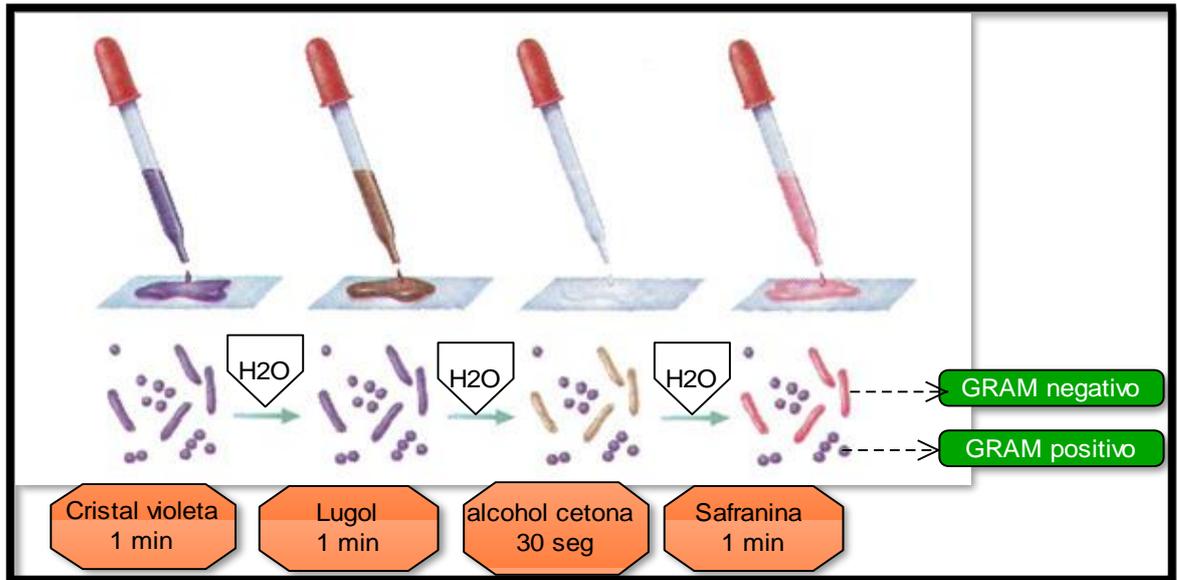


Figura 4-2: Tinción Gram.

Fuente: GUATEMALA. BACTERIAS DE INTERÉS CLÍNICO, 2014.

Al obtener los resultados deseados en las muestras analizadas y luego de hacer la tinción de Gram dando como resultado bacilos Gram negativos se procedió a realizar las siguientes pruebas Bioquímicas.

2.7.2.2. Agar Kligler.

2.7.2.2.1. Preparación del medio de cultivo.

- Colocamos 40mL de agua destilada en un Erlenmeyer de 100mL de volumen.
- Realizamos una regla de tres para saber la cantidad de Agar Kligler colocamos en 40mL.

$$\begin{array}{ccc} 52gr & & 1000mL \\ x & & 40mL \\ x = 2,08gr & & \end{array}$$

- Pesamos 2,08gr de Agar Kligler utilizando la balanza digital del laboratorio.
- Colocamos los 2,08gr de Agar Kligler en los 40mL de agua destilada.
- Llevar el medio a la estufa hasta que llegue al punto de burbujeo (3 repeticiones).
- Autoclavar el medio por 30min.
- Colocamos el medio en tubos de ensayo en una cantidad de 5mL dejamos que el medio se solidifique en pico de flauta.
- Introducimos el asa de platino en la muestra (agua residual hospital) realizamos la siembra en estría en la superficie inclinada.

- Etiquetamos y sellamos correctamente.
- Incúbanos a 37°C por un periodo de 24h.
- Observar los resultados.

Interpretación de resultados.

- Producción de ácido a partir de glucosa: la parte inferior de medio hay un cambio de color debido al indicador de pH que pasa de rojo a amarillo.
- Producción de gas glucosa (CO₂ y H₂): se aprecian por la aparición de burbujas en la parte inferior del tubo, producción de grietas o incluso la elevación del medio.
- Producción de lactosa: se parecía por un cambio de color en el pico de flauta que pasa de rojo a amarillo.
- Producción de sulfhídrico: se aprecia por un ennegrecimiento del medio en la línea de inoculación o sobre la capa superficial, en algunos casos llega a ennegrecerse todo el medio. (ÁLVAREZ, M., Y BOQUET, E. 1990. p. 140).



Figura 13-2: Prueba Bioquímica Agar Kligler.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

2.7.2.3. Agar Simmons Citrato.

2.7.2.3.1. Preparación del medio de cultivo.

- Colocamos 40mL de agua destilada en un Erlenmeyer de 100mL de volumen
- Realizamos una regla de tres para saber la cantidad de Agar Citrato colocamos en 40mL.

$$\begin{array}{rcl}
 24,2gr & & 1000mL \\
 x & & 40mL \\
 x = 0,968gr & &
 \end{array}$$

- Pesamos 0,968gr de Agar Citrato utilizando la balanza digital del laboratorio.
- Colocamos el 0,968 gr de Agar Citrato en los 40 ml de agua destilada.
- Llevar el medio a la estufa hasta que llegue al punto de burbujeo (3 repeticiones).
- Autoclavar el medio por 30min.
- Colocamos el medio en tubos de ensayo en una cantidad de 5mL dejamos que el medio se solidifique en pico de flauta.
- Introducimos el asa de platino en la muestra (agua residual hospital) realizamos la siembra en estría en la superficie inclinada.
- Etiquetamos y sellamos correctamente.
- Incubamos a 37°C por un periodo de 24h.
- Observar los resultados.

Interpretación de resultados.

- La positividad de la prueba se confirma si se observa crecimiento sobre el pico de flauta o si existe una variación de color de verde a azul, debido a la alcalinización del medio, ocasionado por la liberación de sodio del citrato utilizado. (ÁLVAREZ, M., Y BOQUET, E. 1990. p. 142).

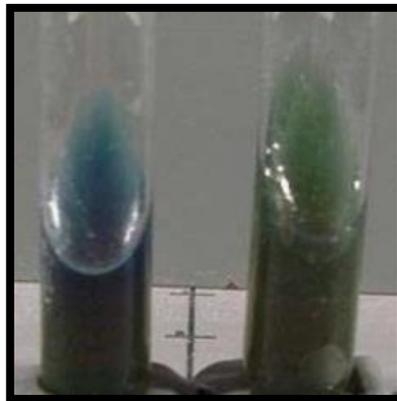


Figura 14-2: Prueba Bioquímica Agar Simmons Citrato

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

2.7.2.4. Agar base Urea.

2.7.2.4.1. Preparación del medio de cultivo.

- Colocamos 40mL de agua destilada en un Erlenmeyer de 100mL de volumen
- Realizamos una regla de tres para saber la cantidad de Urea que colocamos en 40mL.

$$\begin{array}{r} 21gr \\ x \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000mL \\ 40mL \end{array}$$

$$x = 0,84gr$$

- Pesamos 0,84gr de Urea utilizando la balanza digital del laboratorio.
- Colocamos el 0,84 gr de Urea en los 40 ml de agua destilada. Llevamos el medio al Autoclave para esterilizar el medio por 30 minutos.
- Llevar el medio a la estufa hasta que llegue al punto de burbujeo (3 repeticiones).
- Autoclavar el medio por 30min.
- Colocamos el medio en tubos de ensayo en una cantidad de 5mL dejamos que el medio se solidifique en pico de flauta.
- Introducimos el asa de platino en la muestra (agua residual hospital) realizamos la siembra en estría en la superficie inclinada.
- Etiquetamos y sellamos correctamente.
- Incubamos a 37°C por un periodo de 24h.
- Observar los resultados.

Interpretación de resultados.

La prueba se considera positiva si el medio se torna de un tono rosado, y negativa si mantiene su color original. (ÁLVAREZ, M., Y BOQUET, E. 1990. p. 142).

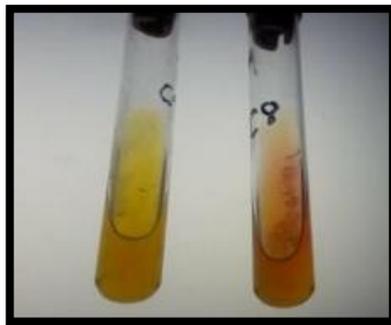


Figura 15-2: Prueba Bioquímica Agar base Urea

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

2.7.2.5. Agar SIM (Sulfuro – Indol – Movilidad).

2.7.2.5.1. Preparación de medio de cultivo.

- Colocamos 40mL de agua destilada en un Erlenmeyer de 100mL de volumen
- Realizamos una regla de tres para saber la cantidad de SIM Medium colocamos en 40mL.

$$\begin{array}{r} 30gr \\ x \end{array} \qquad \begin{array}{r} 1000mL \\ 40mL \end{array}$$

$$x = 1,12gr.$$

- Pesamos 1,12gr SIM Medium utilizando la balanza digital del laboratorio.
- Colocamos el 1,12 gr de SIM Medium en los 40mL de agua destilada.
- Llevar el medio a la estufa hasta que llegue al punto de burbujeo (3 repeticiones).
- Autoclavar el medio por 30min.
- Colocamos el medio en tubos de ensayo en una cantidad de 5mL dejamos que el medio se solidifique en forma vertical.
- Introducimos el asa de platino en la muestra (agua residual hospital) sembrar por punción profunda con aguja de inoculación recta.
- Etiquetamos y sellamos correctamente.
- Incubamos a 37°C por un periodo de 24h.
- Observar los resultados.

Interpretación de resultados.

Movilidad.

- Se produce una turbidez en el medio, esta debe extenderse más allá de la línea de siembra.

Producción de SH₂

- Positivo: Existe una coloración negra en el medio de cultivo
- Negativo: El medio no cambia de color Prueba de Indol

Prueba de Indol

- Se añade al medio de cultivo unas 3 gotas del reactivo de Erich.
- Positivo: Existe una coloración roja o la formación de un anillo rojo.
- Negativo: El color del reactivo revelador no cambia y permanece de incoloro -amarillo.

(ÁLVAREZ, M., Y BOQUET, E. 1990. p. 140).

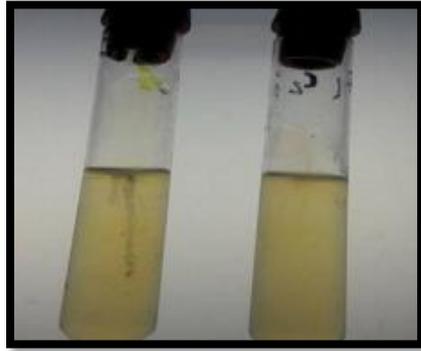


Figura 16-2: Prueba Bioquímica Agar SIM (sulfuro-Indol-movilidad)

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

2.7.2. Identificación Bacteriana.

A continuación de realizar todas las pruebas descritas hasta este momento, los resultados obtenidos se compararon con la tabla de características diferenciales para las especies de las familias más frecuentes, como el que se muestra en la Figura 17-2.

	KLIGLER				Citrato	Fenilalanina desaminasa	Indol	Lisina decarboxilasa	Manitol	Movilidad	Ureasa
	GLU	Gas/glucosa	LAC	SH ₂							
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	+	V ⁺	-
<i>Escherichia coli</i> inactivo	+	-	V ⁻	-	-	-	+	V	+	-	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	+	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	+	-	-	-	-	-	V	-	+	-	-
<i>Shigella boydii</i>	+	-	-	-	-	-	V ⁻	-	+	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+
<i>Klebsiella ozaenae</i> (1)	+	V	V ⁻	-	V ⁻	-	-	V	+	-	V ⁻
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> (1)	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	V ⁺
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>Enterobacter agglomerans</i>	+	V ⁻	V	-	V	V ⁻	V ⁻	-	+	V ⁺	V ⁻
<i>Enterobacter gergoviae</i>	+	+	V	-	+	-	-	+	+	+	+
<i>Enterobacter sakazakii</i>	+	+	+	-	+	V	V ⁻	-	+	+	-
<i>Serratia marcescens</i>	+	V	-	-	+	-	-	+	+	+	V ⁻
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	V	V ⁻	-	+	-	-	V ⁺	+	+	-
<i>Serratia rubidaea</i>	+	V	+	-	+	-	-	V	+	V ⁺	-
<i>Morganella morganii</i>	+	V ⁺	-	-	-	+	+	-	-	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+	V ⁺	-	+	V ⁺	+	-	-	-	+	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	V ⁺	-	+	V ⁻	+	+	-	-	+	+
<i>Providencia alcalifaciens</i>	+	V ⁺	-	-	+	+	+	-	-	+	-
<i>Providencia rettgeri</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>Providencia stuartii</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	V ⁻

Figura 9-2: Características Bioquímicas para diferenciación de especies bacterianas de la familia Enterobacterias

Fuente: ÁLVAREZ, María., & BOQUET, Ernesto. 1990. p. 74

CAPÍTULO III.

3. MARCO DE ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

3.2. Análisis de laboratorio.

3.3. Caracterización del agua residual mediante determinaciones de los parámetros físicos químicos y biológicos.

3.3.1. Análisis físico químico del efluente de aguas residuales de hospitales.

Los datos detallados en las tablas 1-3 y 1-4 manifiestan los resultados del análisis físico- químico de las aguas residuales del Hospital Andino (cantón Riobamba), y hospital General Puyo (Cantón Puyo) indicando que el parámetro temperatura se tomó in-situ en el lugar del muestreo.

Tabla 1-3: Valores de las características físico-químicas reportadas por el laboratorio de aguas de la ESPOCH (agua residual Hospital Andino)

Muestra	Temperatura	pH	Color	Conductividad	Turbiedad	Salinidad	Solidos disueltos totales	DBO₅	DQO	Fuente de Verificación
Unidad	° C	-	UNITS Pt Co	us /cm	NTU		mg/l	mg/l	mg/l	
M1	19	8	293	550000	19,00	0,6	250	108	278	TULSMA Libro VI anexo 1
M2	20	7	263	540000	19,04	0,2	300	103	222	TULSMA Libro VI anexo 1
M3	18,5	7,6	274	620000	18,06	0,6	300	106	240	TULSMA Libro VI anexo 1
M4	20	8	300	600000	19,5	0,5	280	110	237	TULSMA Libro VI anexo 1
M5	19	8	275	690000	18,03	0,4	300	108	235	TULSMA Libro VI anexo 1

Tabla 1-3: Continuación.

M6	20	7	279	570000	19,00	0,6	300	109	275	TULSMA Libro VI anexo 1
M7	20	7,5	293	560000	18,03	0,2	290	104	277	TULSMA Libro VI anexo 1
M8	21	7	300	700000	19,00	0,3	250	103	223	TULSMA Libro VI anexo 1
M9	19	8	293	550000	19,00	0,5	300	107	222	TULSMA Libro VI anexo 1
M10	20	7	300	530000	19,00	0,6	300	108	235	TULSMA Libro VI anexo 1

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.1. Temperatura.

La temperatura registrada durante el periodo de muestreo arrojó un promedio de 19,6 ° C Fuente de Verificación Rango normal < a 40 ° C según la NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA (TULSMA Libro VI anexo 1).

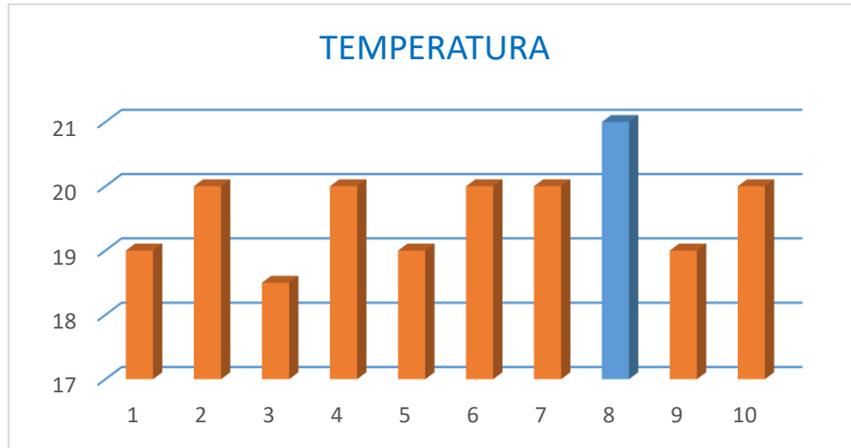


Gráfico 1-3: Valores de temperatura del agua residual Hospital Andino

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.2. pH.

El pH registrado durante el periodo de muestreo arrojó un promedio de 7,5. Fuente de Verificación Rango normal 5-9 según la NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA (TULSMA Libro VI anexo 1).

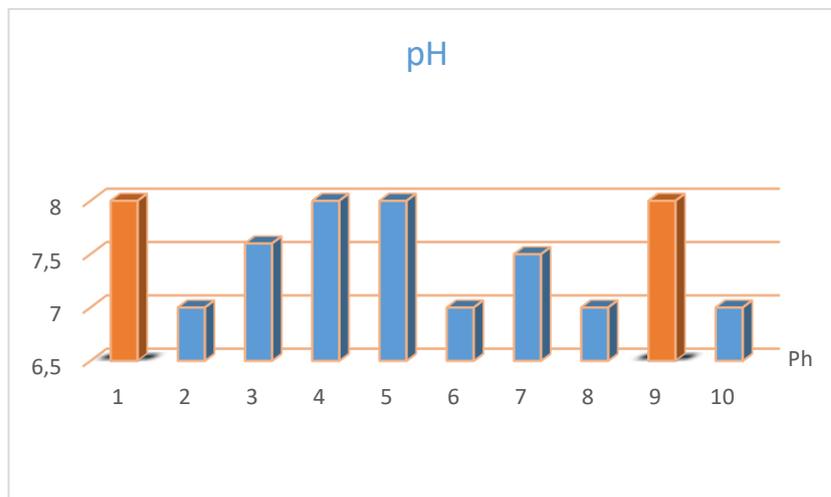


Gráfico 2-3: Valores de pH del agua residual Hospital Andino

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.3. Color.

El promedio de color fue de 287 UNITS Pt Co (263-300) UNITS Pt Co.

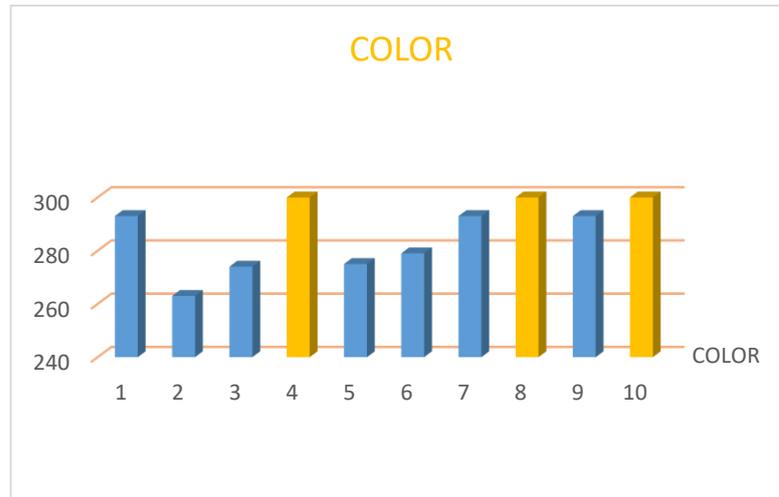


Gráfico 3-3: Valores de color del agua residual Hospital Andino.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.4. Conductividad.

La conductividad presento valores promedio de 591000 us /cm (530000- 700000) us /cm.

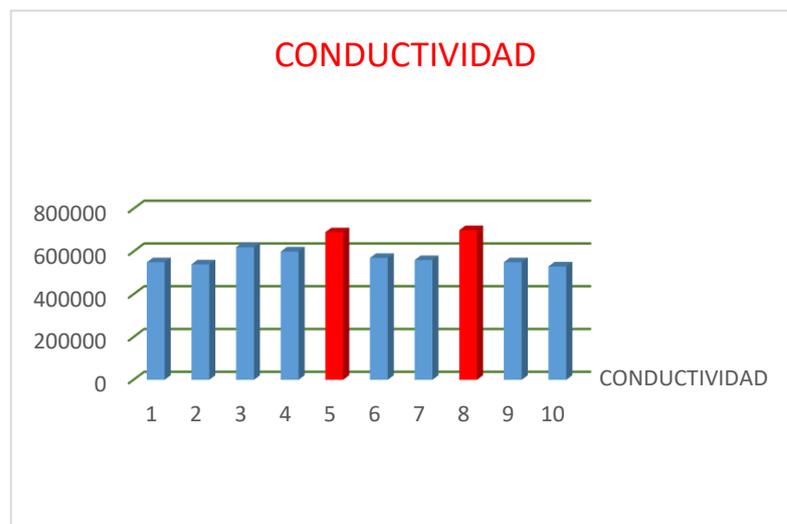


Gráfico 4-3: Valores de conductividad del agua residual del Hospital Andino

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.5. Turbidez.

El valor promedio de la turbidez fue **18,76** NTU (18,03- 19,00) NTU

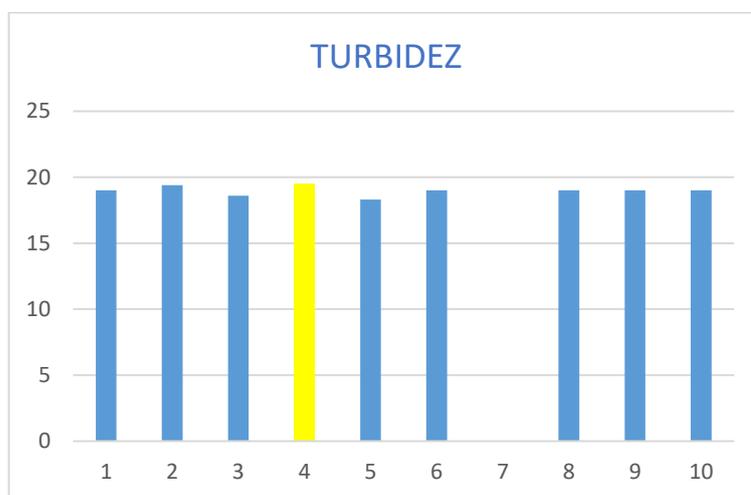


Gráfico 5-3: Valores de turbidez del agua residual del Hospital Andino

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.6. Salinidad.

Se determinó el valor promedio de 0,45 (0,2-0,6)

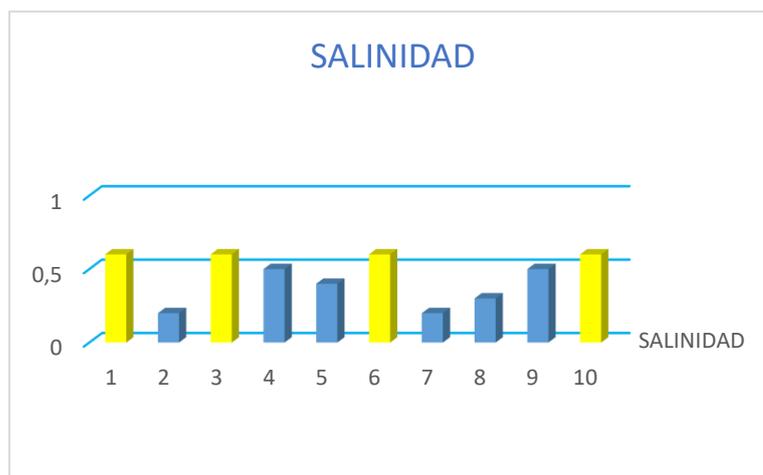


Gráfico 6-3: Valores de salinidad del agua residual del Hospital Andino.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.7. Sólidos disueltos totales.

Los sólidos disueltos totales presentaron valores medios de ≥ 200 y < 500 presentando un valor promedio de 287 mg/l (250-300) mg/l

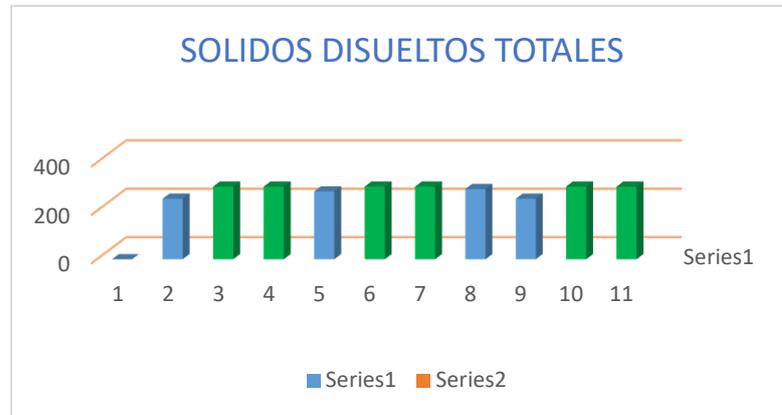


Gráfico 7-3: Valores de sólidos disueltos totales del agua residual del Hospital Andino

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

3.3.1.8. DBO₅.

El valor promedio de DBO₅ es 106,6 mg/l (103-110) mg/l.

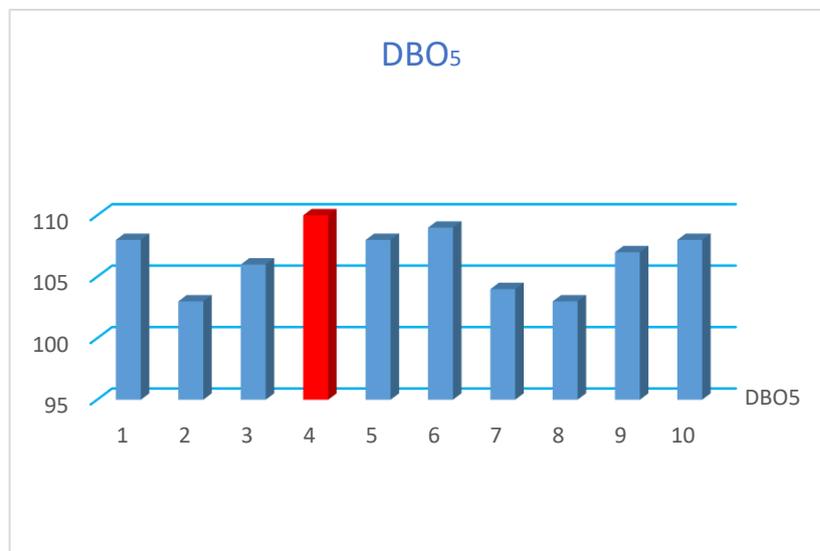


Gráfico 8-3: Valores de DBO₅ del agua residual del Hospital Andino.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.9. DQO.

Se aprecia en la fig. 9-3 que el parámetro DQO presento valores promedio de 244,4 mg/l (222-278) mg/l

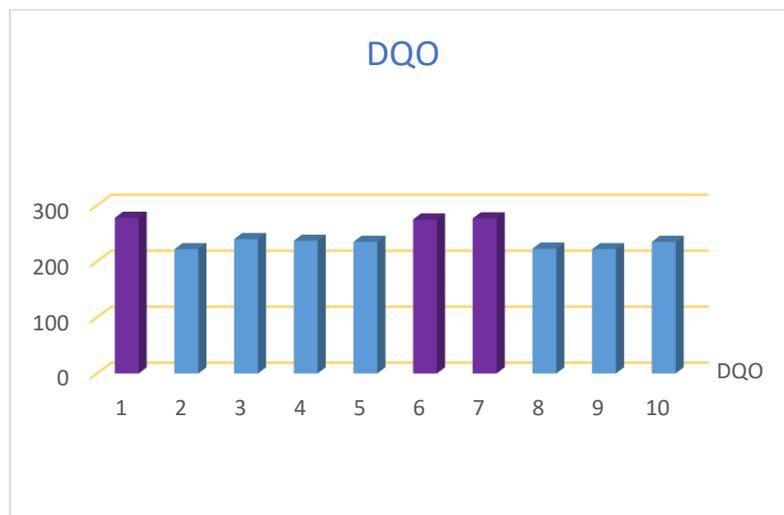


Gráfico 9-3: valores de DQO del agua residual del Hospital Andino

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 2-3: Valores de la caracterización físico-química reportado por el laboratorio de aguas de la ESPOCH (Hospital General el Puyo).

Muestra	Temperatura	pH	Color	Conductividad	Turbiedad	Salinidad	Solidos disueltos totales	DBO₅	DQO	Fuente de Verificación
Unidad	° C	-	UNITS Pt Co	us /cm	NTU		mg/l	mg/l	mg/l	
M1	21	6,82	278	540000	19,5	0,3	300	101	220	TULSMA Libro VI anexo 1
M2	20	6,94	295	570000	22,04	0,3	280	102	223	TULSMA Libro VI anexo 1
M3	22	7,1	260	520000	18,02	0,2	270	105	224	TULSMA Libro VI anexo 1
M4	20	7,3	300	550000	21,5	0,3	300	107	222	TULSMA Libro VI anexo 1
M5	21	7	270	600000	21,01	0,2	280	106	226	TULSMA Libro VI anexo 1
M6	21	6,95	275	580000	22,02	0,3	400	102	200	TULSMA Libro VI anexo 1
M7	22	7,2	293	550000	19,5	0,2	300	104	221	TULSMA Libro VI anexo 1
M8	20	7	290	540000	22,04	0,3	290	108	230	TULSMA Libro VI anexo 1

Tabla 2-3: Continuación.

<i>M9</i>	20	6,8	285	560000	19,04	0,3	300	102	228	TULSMA Libro VI anexo 1
<i>M10</i>	20 °C	7	290	600000	19,5	0,2	300	105	225	TULSMA Libro VI anexo 1

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.10. Temperatura.

La temperatura registrada durante el periodo de muestreo arrojó un promedio de 20,7 ° C Fuente de Verificación Rango normal < a 40 ° C según la NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA (TULSMA Libro VI anexo 1).

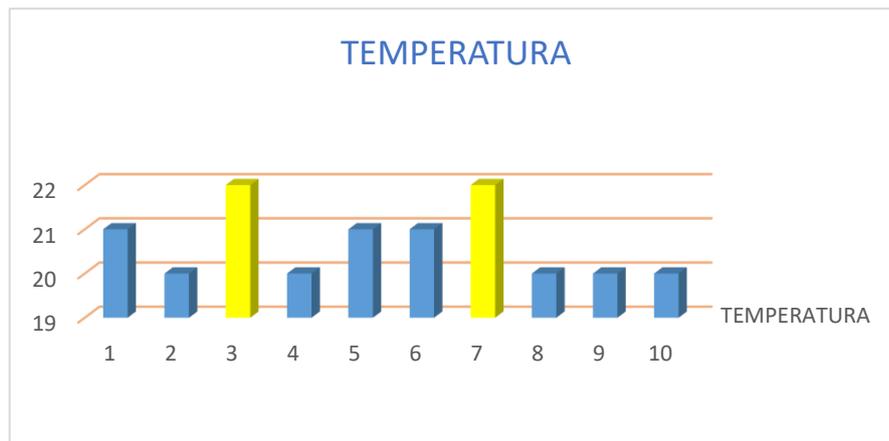


Gráfico 10-3: valores de temperatura del agua residual del Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.11. pH.

El pH registrado durante el periodo de muestreo arrojó un promedio de 7. Fuente de Verificación Rango normal 5-9 según la NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA (TULSMA Libro VI anexo 1).

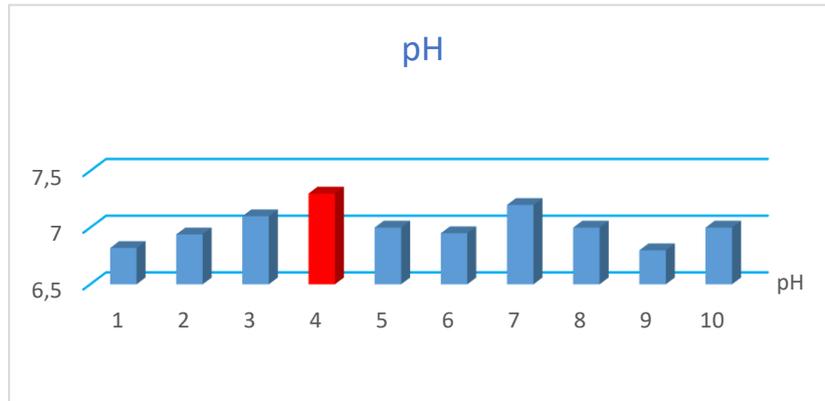


Gráfico 11-3: Valores de pH del agua residual del Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.12. *Color.*

El promedio de color fue de 283,6 UNITS Pt Co (260-300) UNITS Pt Co.

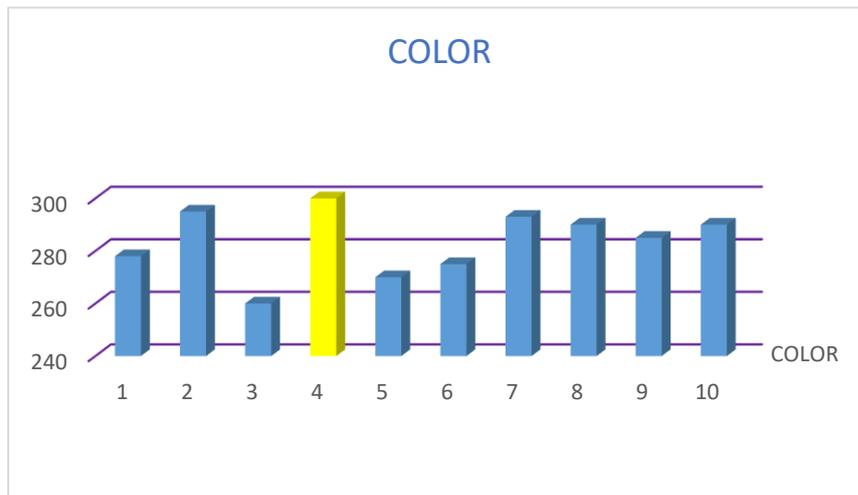


Gráfico 12-3: Valores de color del agua residual del Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

3.3.1.13. *Conductividad.*

La conductividad presento valores promedio de 561,000 us /cm (520000- 600000) us /cm.



Gráfico 13- 3: Valores de conductividad del agua residual del Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.14. Turbidez.

El valor promedio de la turbidez fue 20,42 NTU (18,02- 22,04) NTU.

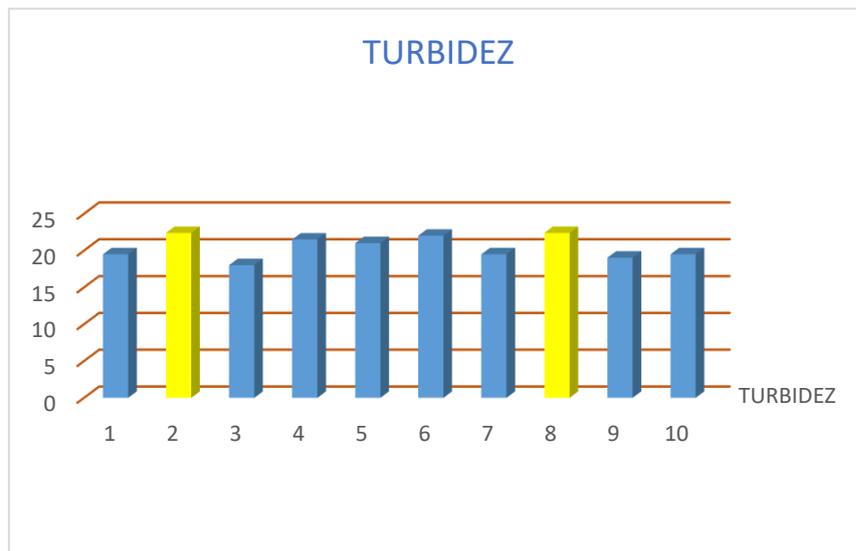


Gráfico 14-3: Valores de turbidez del agua residual del Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

3.3.1.15. Salinidad.

Se determinó el valor promedio de 0,26 (0,2-0,3).

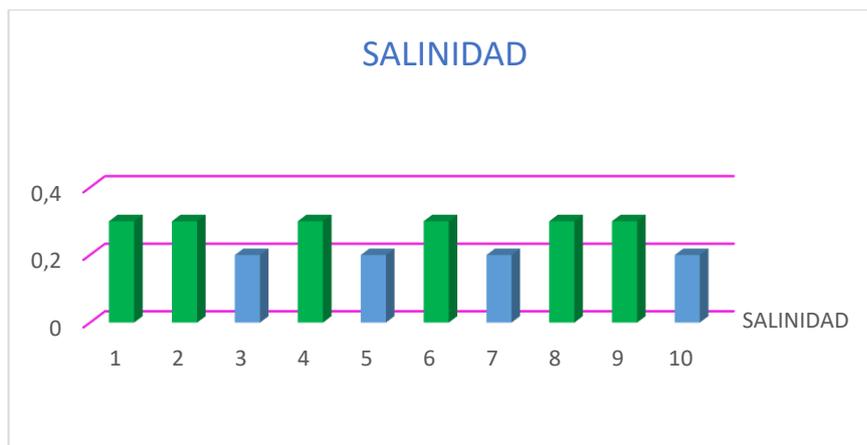


Gráfico 15-3: Valores de salinidad del agua residual del Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.16. Sólidos disueltos totales.

Los sólidos disueltos totales presentaron valores medios de ≥ 200 y < 500 presentando un valor promedio de 302 mg/l (270-400) mg/l



Gráfico 16-3: Valores de sólidos disueltos totales del agua residual del Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

3.3.1.17. DBO₅.

El valor promedio de DBO₅ es 104,2 mg/l (101-108) mg/l.

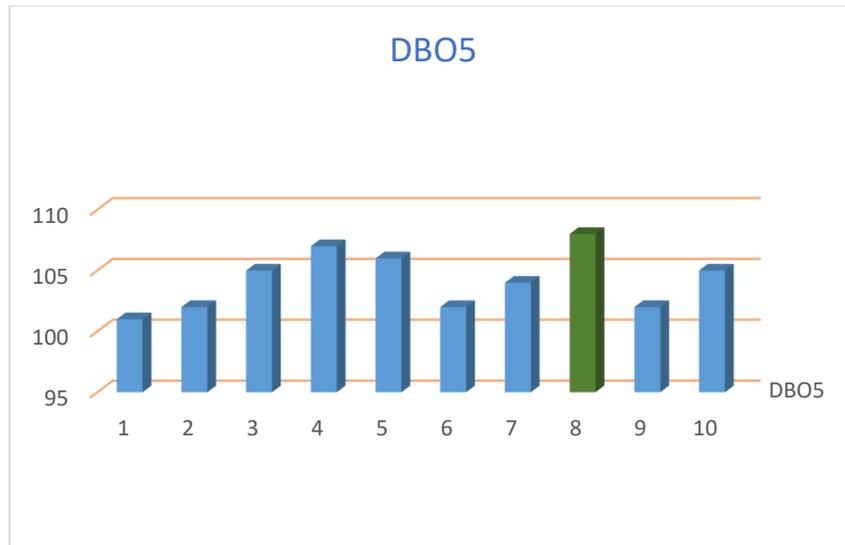


Gráfico 17-3: Valores de DBO5 del agua residual del Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

3.3.1.18. DQO.

Se aprecia en la fig. 18-3 que el parámetro DQO presento valores promedio de 221,9 mg/l (200-228) mg/l

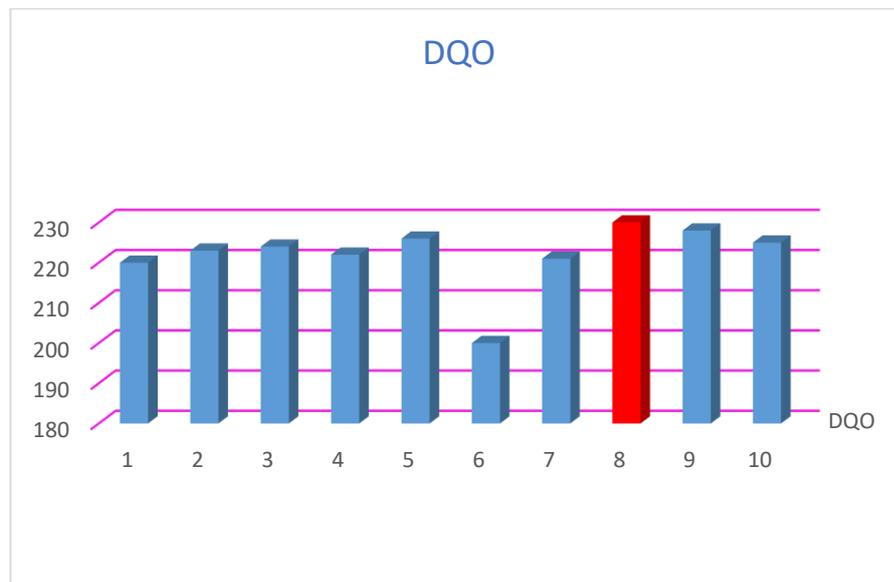


Gráfico 18-3: Valores de DQO del agua residual del Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

3.4. Conteo de microorganismos en U.F.C.

Para el conteo de colonias de los microorganismos patógenos se determinó a través de la siguiente fórmula:

$$UFC /ml = \frac{\# \text{ de colonias por placa } \times \text{ el factor de dilucion (inversa de la dilucion)}}{\text{ml de la muestra sembrada}}$$

Fuente: (Tortora, et al., 2007).

Tabla 17-3: Muestreo 1 Hospital Provincial Puyo

MUESTRA 1 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	84	840000	50	500000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	80	800000	54	540000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	87	870000	49	490000
Salida de la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	96	960000	40	400000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	90	900000	57	570000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	90	900000	50	500000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 18-3: Muestreo 2 Hospital Provincial Puyo

MUESTRA 2 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Concentraciones	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	88	880000	47	470000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	90	900000	40	400000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	92	920000	45	450000
Salida de la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	84	840000	39	390000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	79	790000	51	510000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	83	830000	59	590000

Realizado por: Silvana Córdova, Mayra Escudero, 2017.

Tabla 19-3: Muestreo 3 Hospital Provincial Puyo

MUESTRA 3 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	75	750000	54	54
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	81	810000	60	60
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	69	690000	56	56

Tabla 20-3: Continuación.

Salida de la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	98	980000	53	53
	2	10^{-4}	100	>1000000	87	870000	44	44
	3	10^{-4}	100	>1000000	96	960000	47	47

Realizado por: Silvana Córdova, Mayra Escudero, 2017.

Tabla 21-3: Muestreo 4 Hospital Provincial Puyo

MUESTRA 4 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	74	740000	44	440000
	2	10^{-4}	100	>1000000	76	760000	50	500000
	3	10^{-4}	100	>1000000	76	760000	57	570000
Salida de la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	79	790000	55	550000
	2	10^{-4}	100	>1000000	85	850000	37	370000
	3	10^{-4}	100	>1000000	90	900000	45	450000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 22-3: Muestreo 5 Hospital Provincial Puyo

MUESTRA 5 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	67	670000	38	380000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	70	700000	54	540000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	68	680000	56	560000
Salida de la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	83	830000	50	500000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	85	850000	40	400000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	76	760000	40	400000

Realizado por: Silvana Córdova, Mayra Escudero, 2017.

Tabla 23-3: Muestreo 6 Hospital Provincial Puyo

MUESTRA 6 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	62	620000	48	480000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	69	690000	60	600000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	65	650000	24	240000

Tabla 24-3: Continuación

Salida de la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	81	810000	57	570000
	2	10^{-4}	100	>1000000	77	770000	50	500000
	3	10^{-4}	100	>1000000	83	830000	47	470000

Realizado por: Silvana Córdova, Mayra Escudero, 2017.

Tabla 25-3: Muestreo 7Hospital Provincial Puyo.

MUESTRA 7 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	97	970000	39	390000
	2	10^{-4}	100	>1000000	91	910000	38	380000
	3	10^{-4}	100	>1000000	96	960000	39	390000
Salida de la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	60	600000	36	360000
	2	10^{-4}	100	>1000000	67	670000	42	420000
	3	10^{-4}	100	>1000000	73	730000	47	470000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 26-3: Muestreo 8 Hospital Provincial Puyo

MUESTRA 8 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	80	800000	54	540000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	92	920000	55	550000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	90	900000	50	500000
Salida de la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	79	790000	50	500000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	68	680000	48	480000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	68	680000	45	450000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

Tabla 27-3: Muestreo 9 Hospital General Puyo.

MUESTRA 9 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	87	870000	48	480000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	81	810000	37	370000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	83	830000	43	430000

Tabla 28-3: Continuación.

Salida de la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	90	900000	51	510000
	2	10^{-4}	100	>1000000	89	890000	49	490000
	3	10^{-4}	100	>1000000	86	860000	50	500000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 29-3: Muestreo 10 Hospital Provincial puyo.

MUESTRA 10 HOSPITAL GENERAL PUYO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Entrada a la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	77	770000	44	440000
	2	10^{-4}	100	>1000000	80	800000	40	400000
	3	10^{-4}	100	>1000000	94	940000	40	400000
Salida de la planta de tratamiento	1	10^{-4}	100	>1000000	90	900000	55	550000
	2	10^{-4}	100	>1000000	97	970000	56	560000
	3	10^{-4}	100	>1000000	91	910000	50	500000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 30-3: Muestreo 1 Hospital Andino.

MUESTRA 1 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Área- Hospitalización	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	100	1000000	84	840000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	96	960000	80	800000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	86	860000	87	870000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	96	960000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	45	450000	90	900000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	39	390000	90	900000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	51	510000	88	880000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	59	590000	90	900000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	54	540000	92	920000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	84	840000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	99	990000	79	790000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	90	900000	83	830000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 31-3: Muestreo 2 Hospital Andino.

MUESTRA 2 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Area- Hopitalizacion	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	79	790000	75	750000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	47	470000	81	810000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	44	440000	69	690000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	98	980000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	57	570000	87	870000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	55	550000	96	960000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	80	800000	99	990000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	76	760000	100	1000000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	92	920000	76	760000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	54	540000	79	790000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	85	850000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	90	900000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 32-3: Muestreo 3 Hospital Andino.

MUESTRA 3 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Area- Hopitalizacion	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	67	670000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	70	700000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	48	480000	68	680000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	83	830000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	85	850000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	54	540000	76	760000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	62	620000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	46	460000	69	690000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	38	380000	65	650000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	81	810000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	77	770000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	83	830000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 33-3: Muestreo 4 Hospital Andino.

MUESTRA 4 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Área- Hospitalización	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	45	450000	97	970000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	48	480000	91	910000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	96	960000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	41	410000	60	600000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	39	390000	67	670000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	37	370000	73	730000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	80	800000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	58	580000	92	920000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	90	900000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	79	790000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	59	590000	68	680000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	55	550000	68	680000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 34-3: Muestreo 5 Hospital Andino.

MUESTRA 5 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Area- Hopitalizacion	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	35	350000	87	870000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	39	390000	81	810000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	42	420000	83	830000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	90	900000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	89	890000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	45	450000	86	860000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	48	480000	77	770000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	80	800000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	41	410000	94	940000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	39	390000	90	900000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	37	370000	97	970000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	91	910000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 18- 3: Muestreo 6 Hospital Andino.

MUESTRA 6 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Area- Hopitalizacion	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	58	580000	92	920000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	90	900000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	79	790000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	59	500000	68	680000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	55	550000	68	680000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	35	350000	87	870000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	39	390000	81	810000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	42	420000	83	830000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	45	450000	90	900000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	49	490000	89	890000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	58	580000	86	860000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	75	750000	77	770000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 19-3: Muestreo 7 Hospital Andino.

MUESTRA 7 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Área- Hospitalización	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	80	800000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	47	470000	94	940000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	90	900000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	45	450000	97	970000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	39	390000	91	910000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	51	510000	78	780000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	59	590000	90	900000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	54	540000	85	850000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	91	910000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	69	690000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	53	530000	83	830000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	44	440000	69	690000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 20-3: Muestreo 8 Hospital Andino

MUESTRA 8 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Área- Hospitalización	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	47	470000	67	670000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	44	440000	70	700000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	68	680000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	57	570000	83	830000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	55	550000	85	850000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	37	370000	76	760000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	45	450000	62	620000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	38	380000	69	690000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	54	540000	65	650000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	81	810000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	77	770000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	83	830000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 21-3: Muestreo 9 Hospital Andino.

MUESTRA 9 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Area- Hopitalizacion	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	97	970000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	48	480000	91	910000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	96	960000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	60	600000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	54	540000	67	670000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	73	730000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	46	460000	80	800000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	38	380000	92	920000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	90	900000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	79	790000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	50	500000	68	680000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	45	450000	68	68

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 22-3: Muestreo 10 Hospital Andino.

MUESTRA 10 HOSPITAL ANDINO								
	Repeticiones	Dilución	Colonias <i>Escherichia coli</i>	UFC	Colonias <i>Salmonella spp</i>	UFC	Colonias <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC
Area- Hopitalizacion	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	48	480000	87	870000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	40	400000	94	940000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	41	410000	90	900000
Área- Quirófano	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	39	390000	97	970000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	37	370000	91	910000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	78	780000
Área- Laboratorio	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	58	580000	80	800000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	85	850000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	56	560000	91	910000
Área- Emergencia	1	10 ⁻⁴	100	>1000000	59	590000	90	900000
	2	10 ⁻⁴	100	>1000000	55	550000	83	830000
	3	10 ⁻⁴	100	>1000000	60	600000	94	940000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 201

3.5. Pruebas Bioquímicas.

En la siguiente tabla se muestra un esquema de las pruebas bioquímicas que se realizaron a las cepas aisladas de las aguas residuales de las unidades médicas, Hospital Andino (cantón Riobamba), Hospital General Puyo (Cantón Puyo), incluido el detalle de código o número de cada bacteria, el lugar del cual provienen, placas en las que hubo crecimiento, sus respectivas características macroscópicas y los resultados obtenidos de la tinción Gram.

De las placas sembradas enriquecimiento (sangre) observamos el crecimiento de colonias de las cuales con un asa de platino tomamos las colonias dependiendo de su forma y tamaño para colocarla en un porta objetos para realizar la tinción Gram.

3.5.1. Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas.

Tabla 23-3: Recuento bacteriano Gram positivas y Gram negativas

SITIO DE MUESTREO	TINCION GRAM		
	GRAM (+)	GRAM (-)	TOTAL
Hospital Andino-área-Hospitalización	0	100	100
Hospital Andino-área-Laboratorio	0	100	100
Hospital Andino-área-Quirófano	0	100	100
Hospital Andino-área-Emergencia	0	100	100
Hospital Puyo-entrada-Planta de tratamiento	0	100	100
Hospital Puyo- Salida -Planta de tratamiento	0	100	100

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

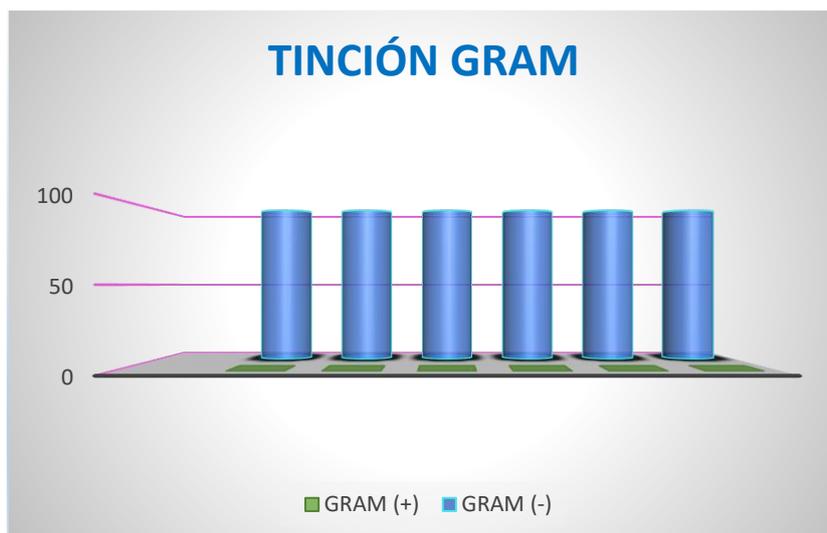


Gráfico 19-3: Tinción Gram.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Al analizar la Tabla 23-3 se identifica que el porcentaje de cepas aisladas en las aguas residuales de las unidades Hospital Andino y Hospital General Puyo corresponden a bacterias Gram Negativas, 100% (número de bacterias) y en cantidades poco representativas las bacterias Gram Positivas 0 % (número de bacterias). Demostrando que la microbiota propia de este tipo de aguas residuales está constituido principalmente por bacilos Gram negativos. Diferencia que se puede atribuir, que las bacterias Gram positivas poseen mayor estabilidad en altas temperaturas demostrando que no son comunes en este tipo de aguas. (MOSSO, María, et al.1999. p.439).

Tabla 24-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Hospitalización.

Muestra	Agar Kliger					Agar SIM			Agar Citrato	Agar Urea	Tipo de Microorganismo
	Color	ácido sulfhídrico	Glucosa	lactosa	Gas	ácido sulfhídrico	Movilidad	Motilidad	Color	color	
M 1-5- 6-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-5-7-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-8	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-7-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-5-8	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2- 5-6	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2- 4- 6	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3- 4-7	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-7-9-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 25-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Laboratorio.

Muestra	Agar Kligler					Agar SIM			Agar Citrato	Agar Urea	Tipo de Microorganismo
	Color	ácido sulfhídrico	glucosa	lactosa	gas	ácido sulfhídrico	Movilidad	Motilidad	color	color	
M 1-4-4-5	pico rojo + fondo amarillo	-	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Shigella dysenteriae</i>
M 1-6-7	pico rojo + fondo amarillo	-	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Shigella dysenteriae</i>
M 1-4-6	pico rojo + fondo amarillo	-	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Shigella dysenteriae</i>
M 1-7	pico rojo + fondo amarillo	-	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Shigella dysenteriae</i>
M 2-4-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-6-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-5-8	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-5-8	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Tabla 25-3: Continuación

M 3-5-9-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-7-9-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-7-9	Negro	+	+	-	+	-	+	-	+	-	<i>Salmonella</i>

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

Tabla 26-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Quirófano.

Muestra	Agar Kliger					Agar SIM			Agar Citrato	Agar Urea	Tipo de Microorganismo
	Color	ácido sulfhídrico	glucosa	lactosa	Gas	ácido sulfhídrico	Movilidad	motilidad	color	color	
M 1-4-7-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-7-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-4-7	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-5-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-6-9-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-5-8	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-6-8	Amarillo +	-	+	+	+	-	+	-	+	-	<i>Enterobacter aerogenes</i>

Tabla 26-3: Continuación.

M 2-7-8	Amarillo +	-	+	+	+	-	+	-	+	-	<i>Enterobacter aerogenes</i>
M 3-5-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-5-6	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 27-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital Andino, área- Emergencias.

Muestra	Agar Kliger					Agar SIM			Agar Citrato	Agar Urea	Tipo de Microorganismo
	Color	ácido sulfhídrico	glucosa	lactosa	Gas	ácido sulfhídrico	Movilidad	motilidad	color	color	
M 1-4-7-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-7-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-6-7-	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-6-7	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>

Tabla 27-3: Continuación.

M 2	pico rojo + fondo amarillo	-	+	-	+	-	+	-	-	-	<i>Morganella morganil</i>
M 2	pico rojo + fondo amarillo	-	+	-	+	-	+	-	-	-	<i>Morganella morganil</i>
M 2-5-8- 10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-5-8-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 3-5-8-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 3-5-8- 10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 28-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital General Puyo, entrada a la planta de tratamiento.

Muestra	Agar Kliger					Agar SIM			Agar Citrato	Agar Urea	Tipo de Microorganismo
	Color	ácido sulfhídrico	glucosa	lactosa	gas	ácido sulfhídrico	Movilidad	motilidad	color	color	
M 1-4	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>

Tabla 28-3: Continuación.

M 1-4	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-5-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-5-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-5-8-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-5-8-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-6-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 2-6-7-8	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-6-7-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-6-7-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3-7-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M 3	Amarillo +	-	+	+	+	-	+	-	+	-	<i>Enterobacter cloacae</i>

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Tabla 29-3: Resultado pruebas bioquímicas del efluente de aguas residuales del Hospital General Puyo, salida de la planta de tratamiento.

Muestra	Agar Kliger					Agar SIM			Agar Citrato	Agar Urea	Tipo de Microorganismo
	Color	ácido sulfhídrico	glucosa	lactosa	gas	ácido sulfhídrico	Movilidad	motilidad	color	color	
M 1-4-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M-1-4-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 1-4-8-10	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-5-7	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-5-7	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-5-7	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 2-5-7	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>

Tabla 29-3: Continuación.

M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
M 3-6-9	Amarillo +	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

Las pruebas realizadas en esta investigación fueron las siguientes:

Pruebas bioquímicas de identificación fueron las siguientes. Según Álvarez, la prueba de Kligler comprueba la capacidad de una bacteria para metabolizar glucosa y lactosa; la prueba SIM la capacidad de degradar triptófano a Indol; la prueba de citrato la capacidad de utilizar esta sustancia como única fuente de carbono y por último la prueba de Urea la capacidad de desdoblar esta sustancia por un proceso de alcalinización. (ALVAREZ, María & BOQUET, Ernesto.1990. p.115).

La caracterización de las bacterias se determinó mediante la diferenciación de géneros Enterobacteriaceae, identificando así en cada una de las áreas (Hospitalización, Laboratorio, Quirófano, Emergencia.) correspondiente al Hospital Andino. Para la caracterización del hospital General puyo de los puntos de muestreo entrada y salida de la planta de tratamiento de aguas residuales. Las especies encontradas fueron las siguientes familias, *Escherichia coli*, (40%), *Klebsiella pneumoniae*, (10%) *Enterobacter cloacae* (0,1%) *Shigella dysenteriae*, (10%) *Salmonella spp* (30 %) *Staphylococcus aureus* (10 %).

3.6. Análisis estadístico y prueba de hipótesis.

3.6.1. Análisis descriptivo comparativo con 3 y con 2 variables.

Las aguas residuales provenientes de los hospitales Andino y Puyo previamente expuestas a antibióticos, sustancias tóxicas o persistentes tales como productos farmacéuticos, radionucleidos, solventes y desinfectantes para fines médicos en una amplia gama de concentraciones debido a actividades de laboratorio e investigación o excreción de medicamentos. Encontrando una alta prevalencia de cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *salmonellas spp* y *Staphylococcus aureus*.

3.6.1.1. Escherichia coli - Hospital Andino - Hospital General Puyo.

Estudios reportados por Núñez (2012, p.5), Se observó una mayor resistencia a ampicilina con un 34.0% de bacterias coliformes resistentes, seguida por las bacterias resistentes a cefalotina (17.0%) y alcanzando valores máximos de 100.0 % y 37.0 % respectivamente. Con respecto a los bacilos Gram negativos no coliformes, también se detectó una mayor resistencia a ampicilina, seguida por la cefalotina alcanzando valores máximos de 87.0% y 40.0% respectivamente. Los aislamientos de coliformes resistentes fueron identificados como *Escherichia coli*, los cuales presentaron multiresistencia, relacionando así con nuestra investigación en los Hospitales Andino y Puyo este tipo de patógeno tiene un crecimiento relativamente alto comprobando la multiresistencia a tratamientos convencionales dados en cada unidad Hospitalaria presentando los siguientes resultados: La relación de crecimiento de *Escherichia coli* para el Hospital Andino y el Hospital General Puyo es la misma en cuanto al crecimiento de cepas bacterianas.

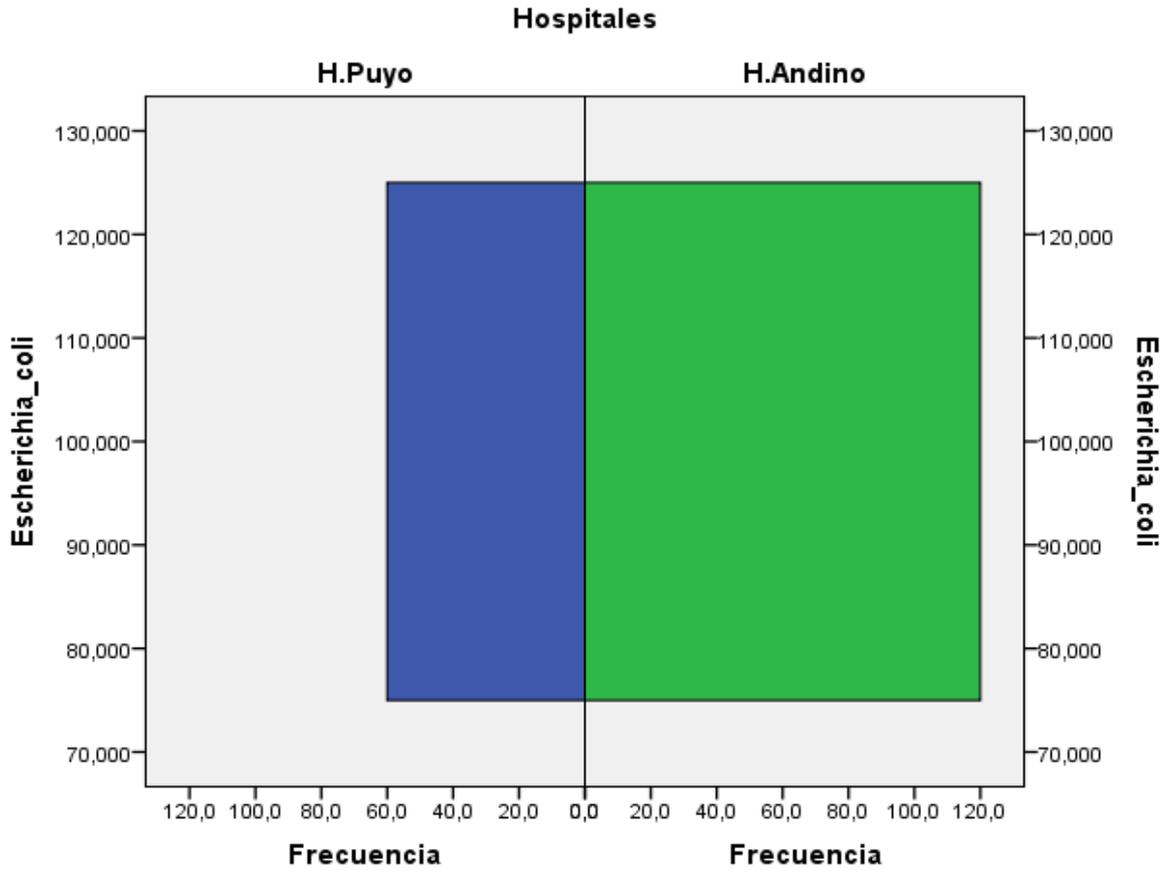


Gráfico 20-3: Frecuencia de crecimiento de Escherichia Coli- Hospital Andino-Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La frecuencia de crecimiento del patógeno Escherichia coli tanto para el Hospital Andino como para el Hospital General Puyo presentan una igualdad de condiciones entre las dos variables, presentando un crecimiento igual a 100,000 UFC en las dos unidades.

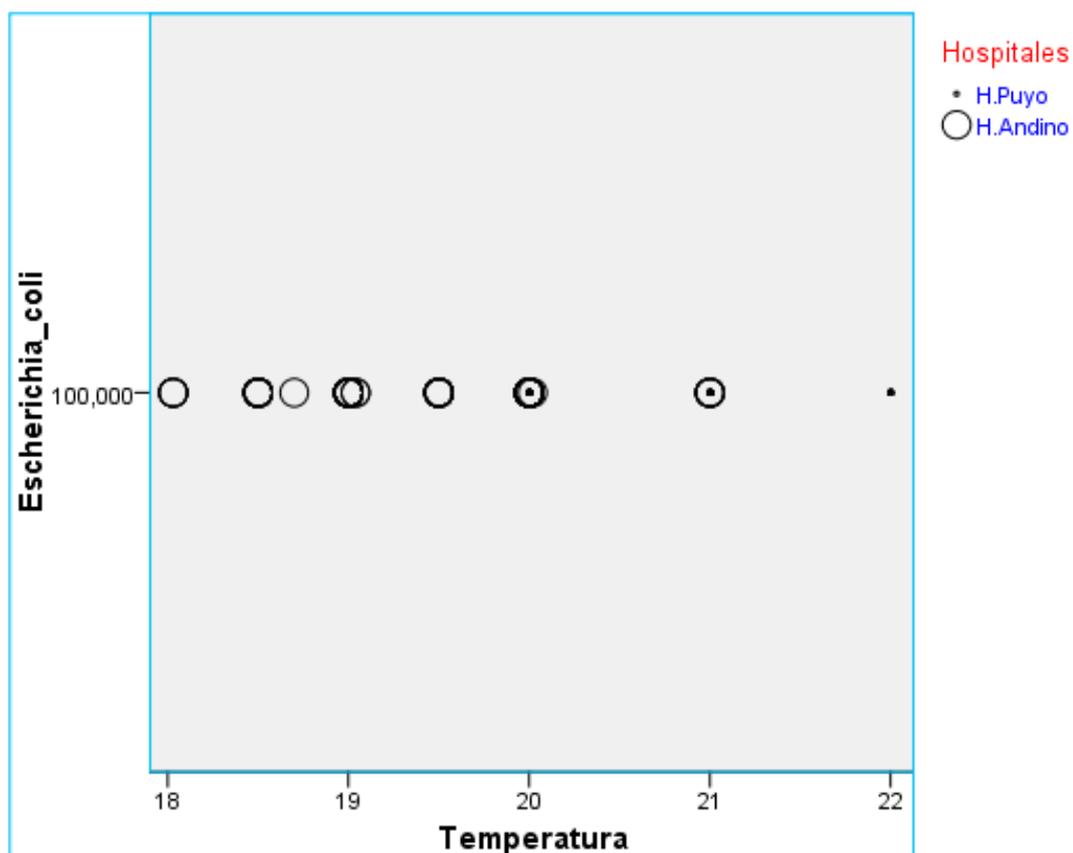


Gráfico 21-3: Temperatura- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Dentro del parámetro temperatura en el Hospital Andino presenta un crecimiento en rangos de (18 – 21) °C, en el Hospital General Puyo en rangos de (20 – 22) °C estas unidades médicas presentan un crecimiento bacteriano de (100,000) UFC.

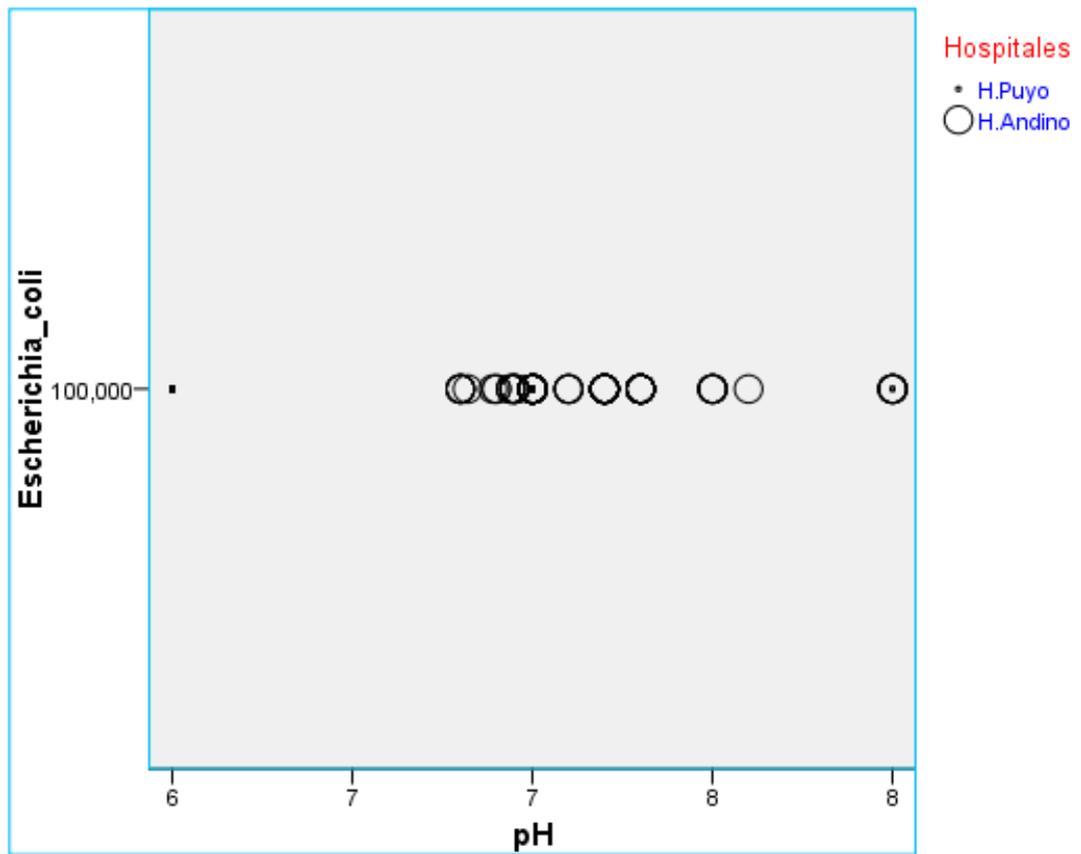


Gráfico 22-3: pH- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

En cuanto a rangos de pH para el Hospital Andino (7- 8) y para el Hospital General Puyo en rangos de (6-8) obteniendo una equidad de crecimiento de (100,000) UFC.

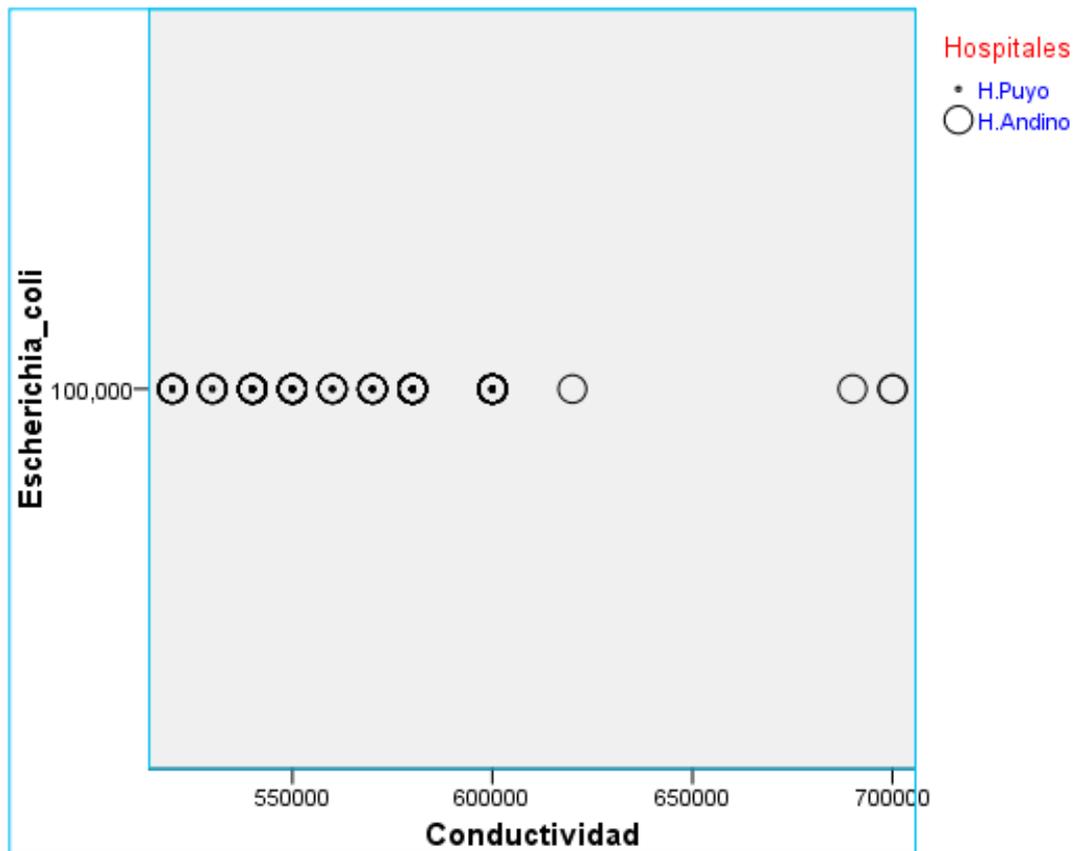


Gráfico 23-3: Conductividad- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

La conductividad expresada en us /cm presenta un crecimiento en el Hospital Andino dentro del rango de (< 550000 – 700000) us /cm mientras que el Hospital General Puyo (< 550000 – 600000) us /cm un crecimiento de cepas bacterianas de las dos unidades de (100,000) UFC.

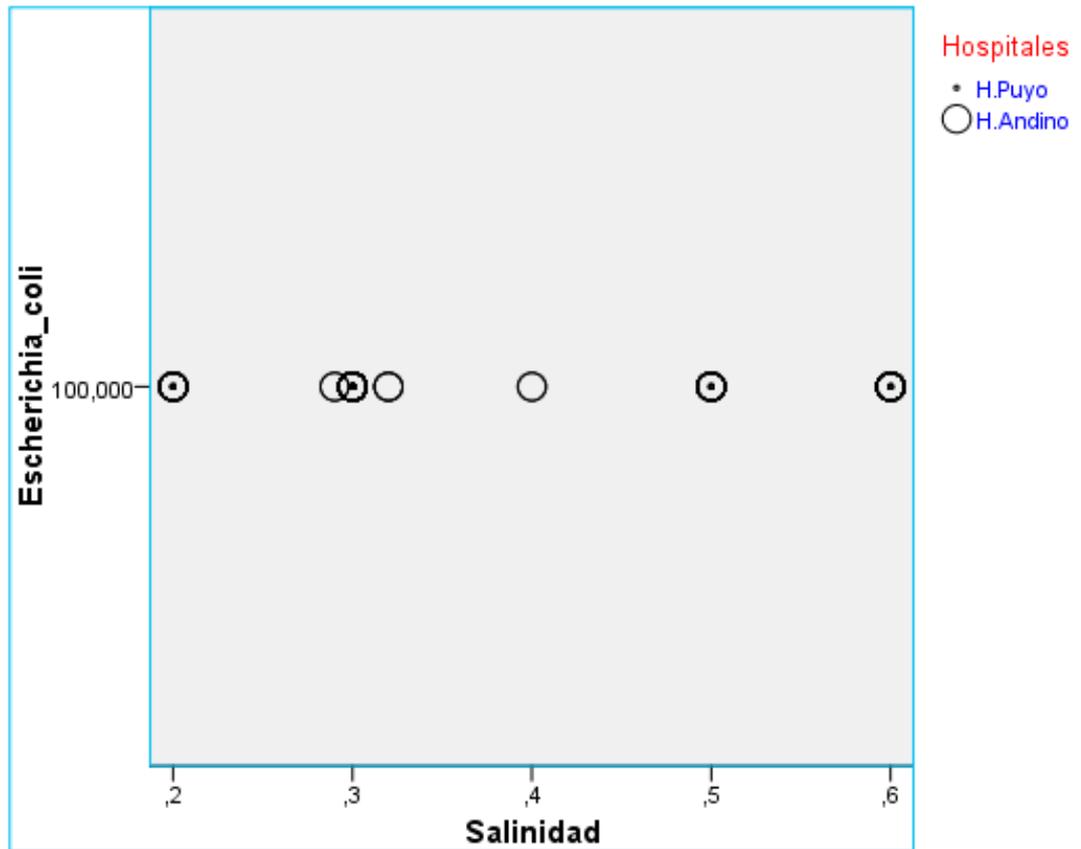


Gráfico 24-3: Salinidad- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2018.

En cuanto al parámetro Salinidad, en los dos hospitales Andino y Puyo comparten el mismo rango de (0,2 – 0,6) presentando un crecimiento bacteriano de (100,000) UFC.

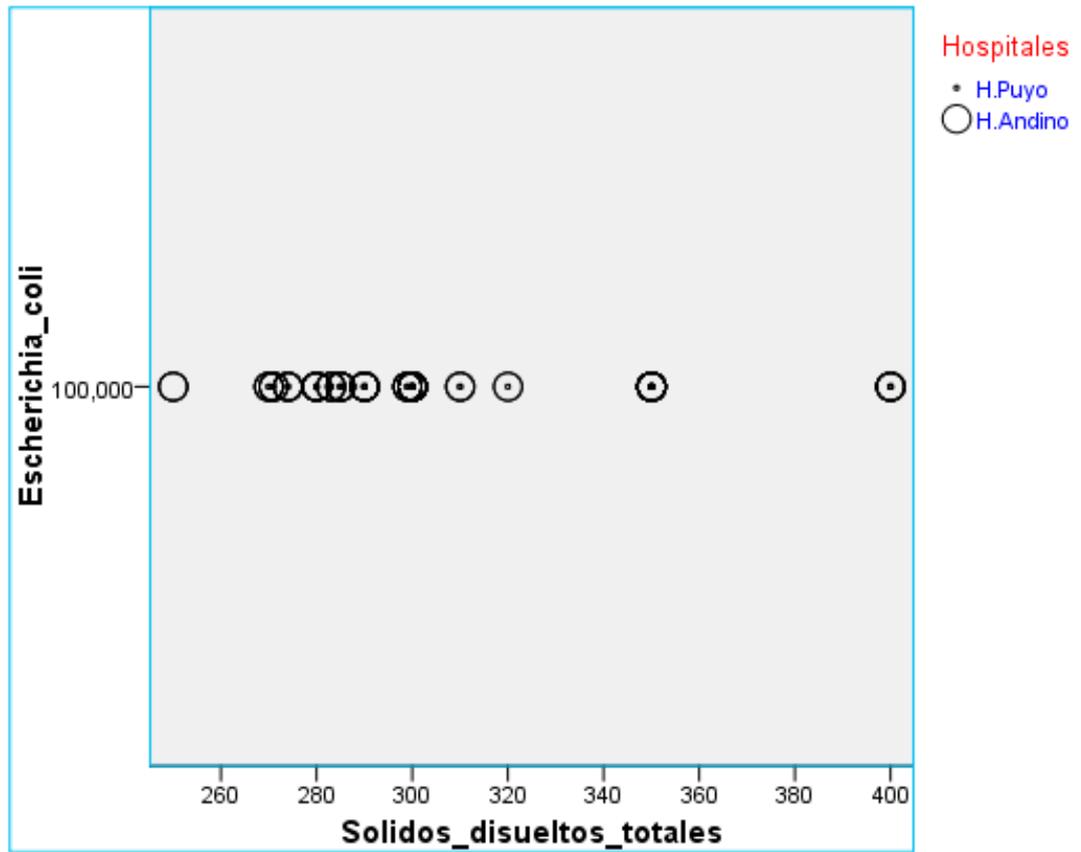


Gráfico 25-3: Sólidos disueltos totales- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Los sólidos disueltos totales presentan rangos de (< 260 – 400) mg/l perteneciente al hospital Andino y (270 – 400) mg/l rango del Hospital General Puyo arrojando un crecimiento de (100,000) UFC.

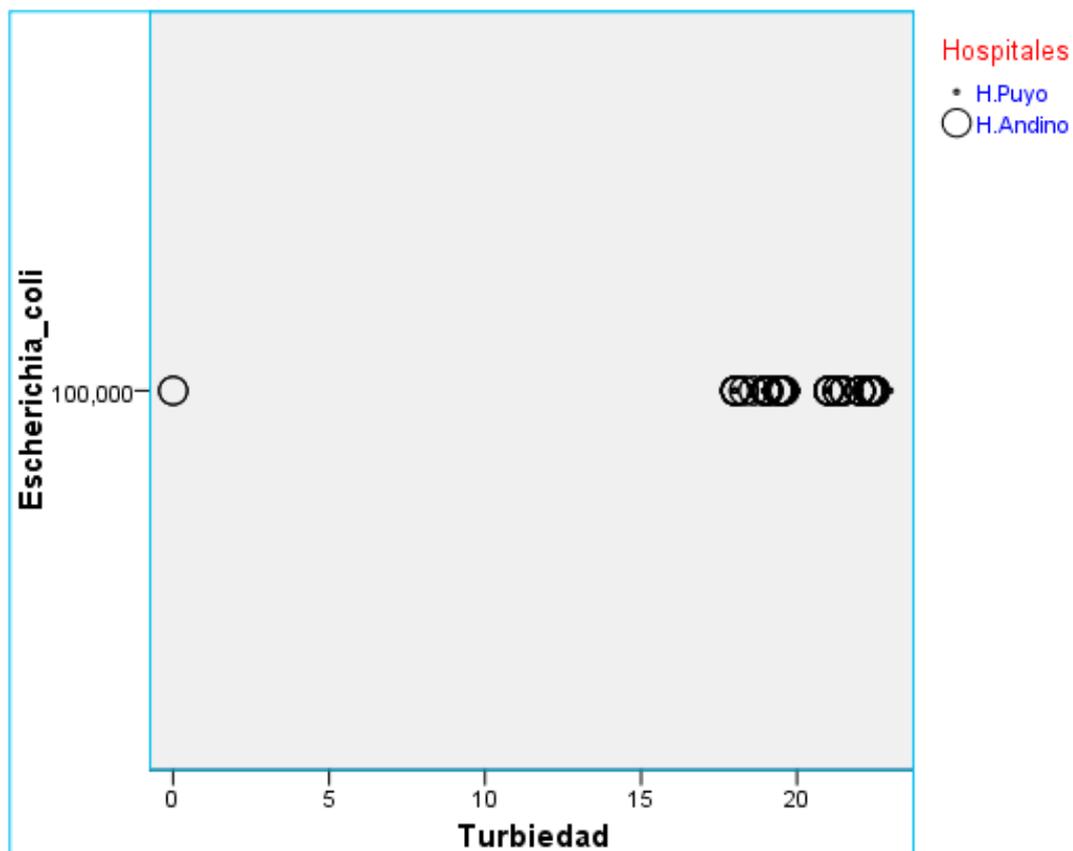


Gráfico 26-3: Turbiedad- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

El Hospital Andino y el Hospital General Puyo muestran rangos de Turbiedad de (17 - > 20) NTU alcanzando un crecimiento del patógeno *Escherichia coli* de (100,000) UFC.

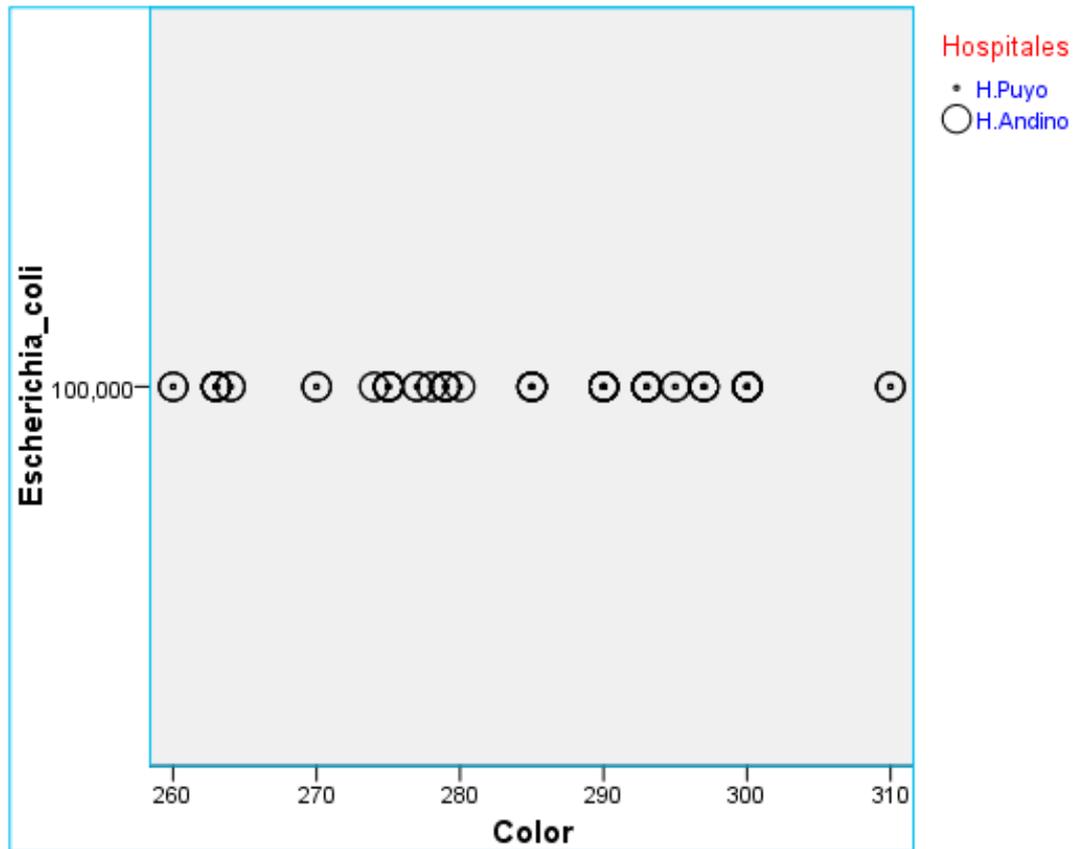


Gráfico 27-3: color- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

En cuanto al parámetro color expresado en UNITS Pt Co para las dos unidades hospitalarias rige el mismo rango de (260 – 310) UNITS Pt Co dando un crecimiento de (100,000) UFC.

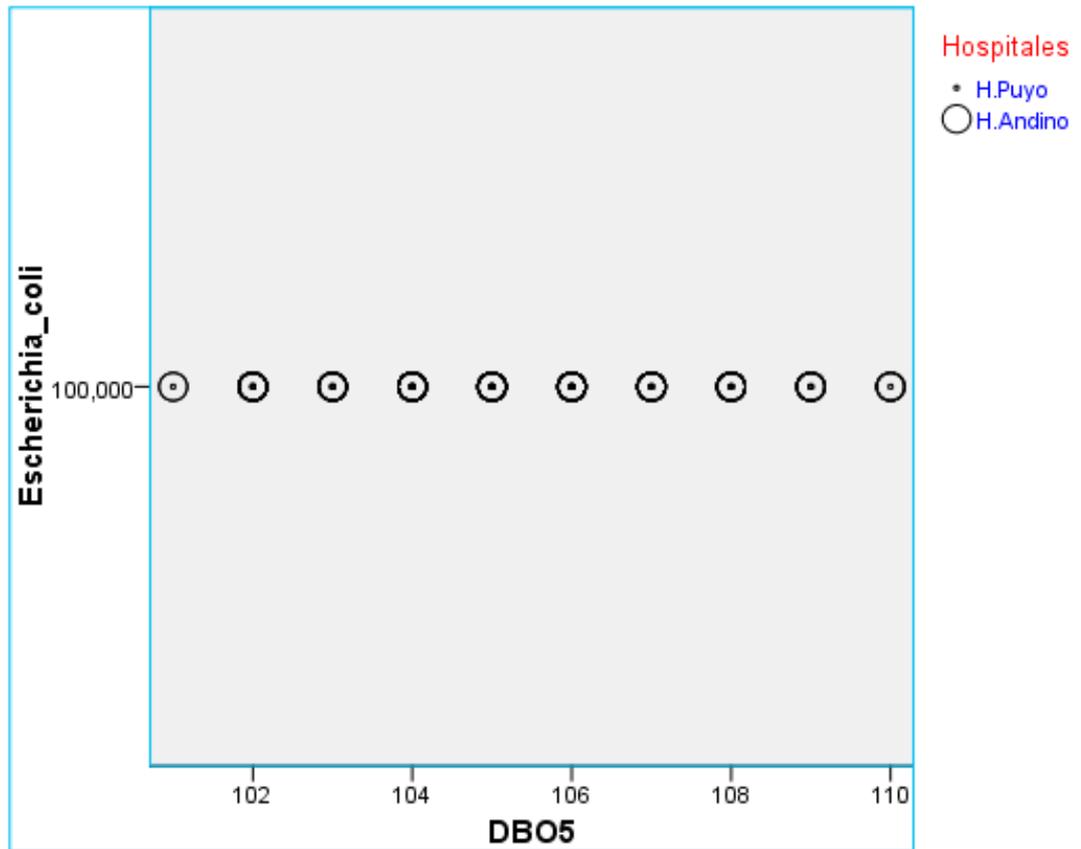


Gráfico 28-3: DBO5- Escherichia Coli-Hospital Andino-Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

El DBO₅ para el Hospital Andino y el Hospital General Andino muestran un mismo rango de (102 – 110) mg/l presentando un crecimiento de (100,000) UFC.

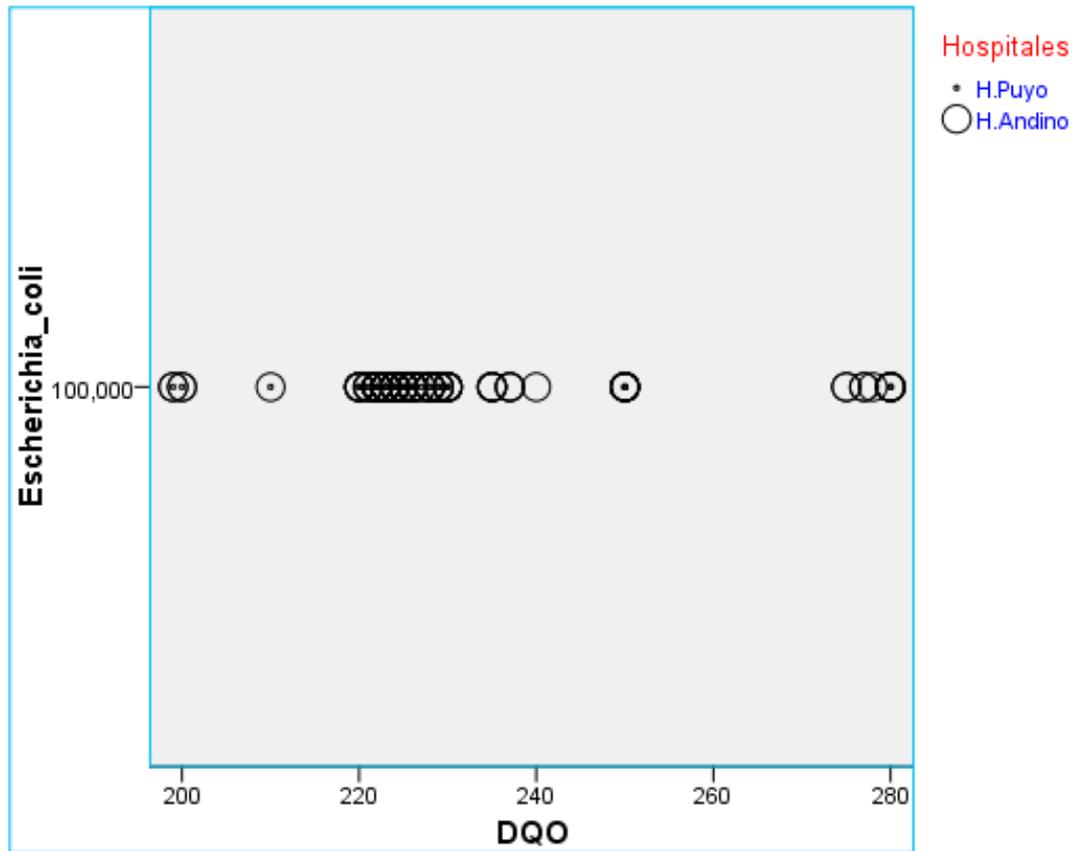


Gráfico 29-3: DQO - *Escherichia Coli*-Hospital Andino-Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

El DQO para el hospital Andino como para el Hospital General Puyo presenta un crecimiento de (100,000) UFC dentro del rango de (200 – 280) mg/l.

3.6.1.2. *Salmonella spp* - Hospital Andino - Hospital General Puyo.

De acuerdo con Cejas.D, 2014 indica que *Salmonella spp*. Es el causante agente de salmonelosis, una gastroenteritis autolimitada, lo que conduce a enfermedades invasivas que requieren tratamiento antimicrobiano. Fluoroquinolonas y las cefalosporinas de amplio espectro se utilizan con frecuencia en infecciones severas de *Salmonella*¹⁰. Desde fines de los años 80, *Salmonella* aisló mostrando resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido existiendo así una propagación bacterias *salmonella spp*. Que resisten a diferentes antibióticos descargados en aguas residuales de Hospitales, en la investigación mostrada comprobamos el crecimiento de este patógeno obteniendo los siguientes resultados:

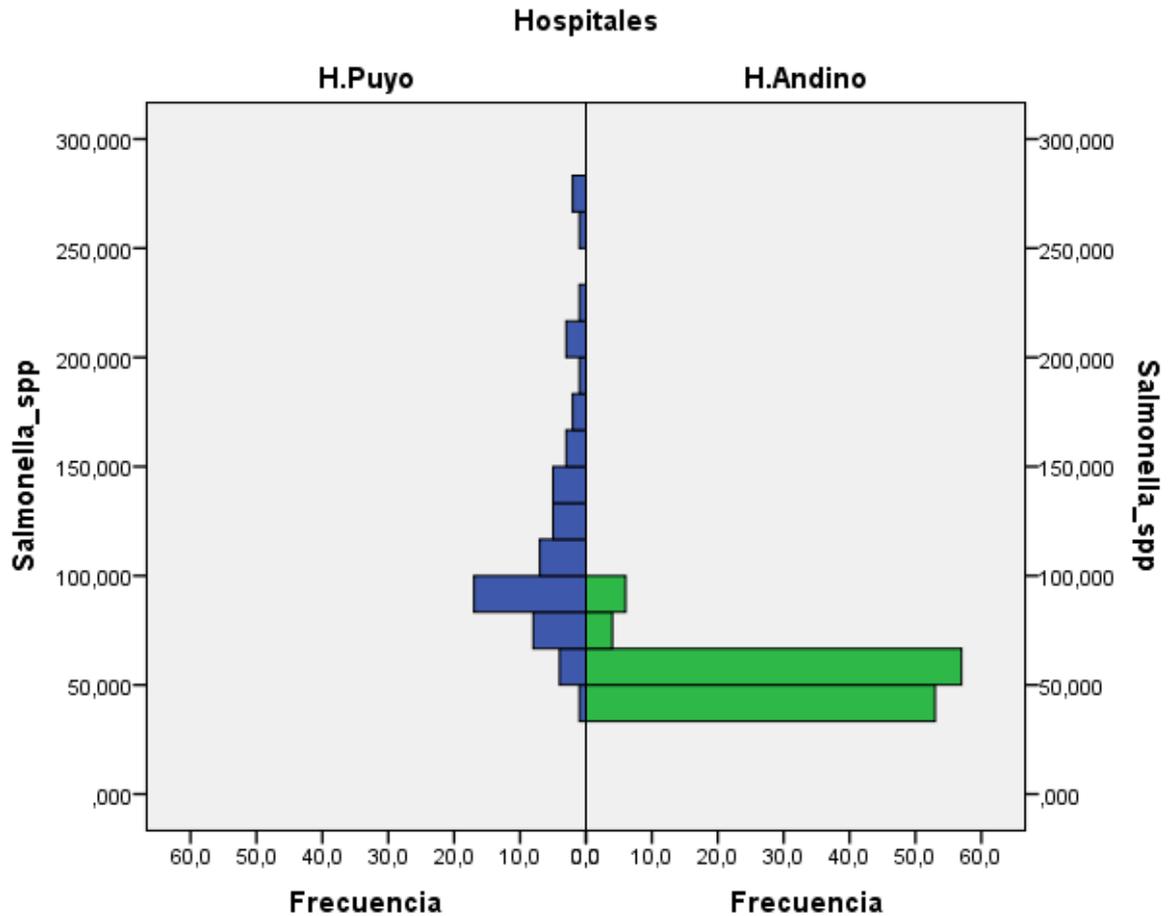


Gráfico 30-3: Frecuencia de crecimiento – *Salmonella spp*- Hospital Andino- Hospital General Puyo

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

El crecimiento microbiológico del patógeno *salmonella spp*, presenta una frecuencia mayor en el Hospital General Puyo > a 250,000 UFC, mientras que el hospital Andino presenta un crecimiento de 100,000 UFC teniendo esta unidad una frecuencia menor en comparación al Hospital Andino.

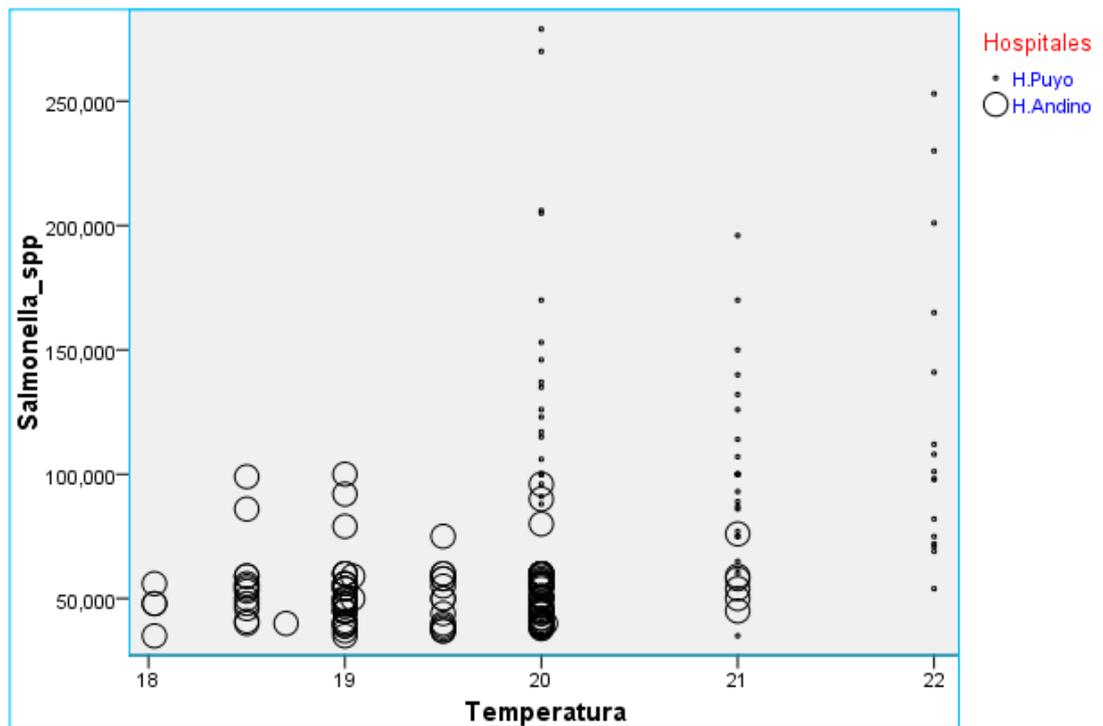


Gráfico 31-3: Temperatura- *Salmonella spp.*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La relación temperatura – *salmonella spp.* Arroja los siguientes resultados en el Hospital Andino se enfoca en un rango de (18 – 21) °C el crecimiento de cepas bacterianas (< 50,000 – 100,000) UFC en relación al Hospital General Puyo que representa un crecimiento extremadamente alto dentro del rango de temperatura (20 – 22) °C con un crecimiento de (> 50,000 - > 250,000) UFC.

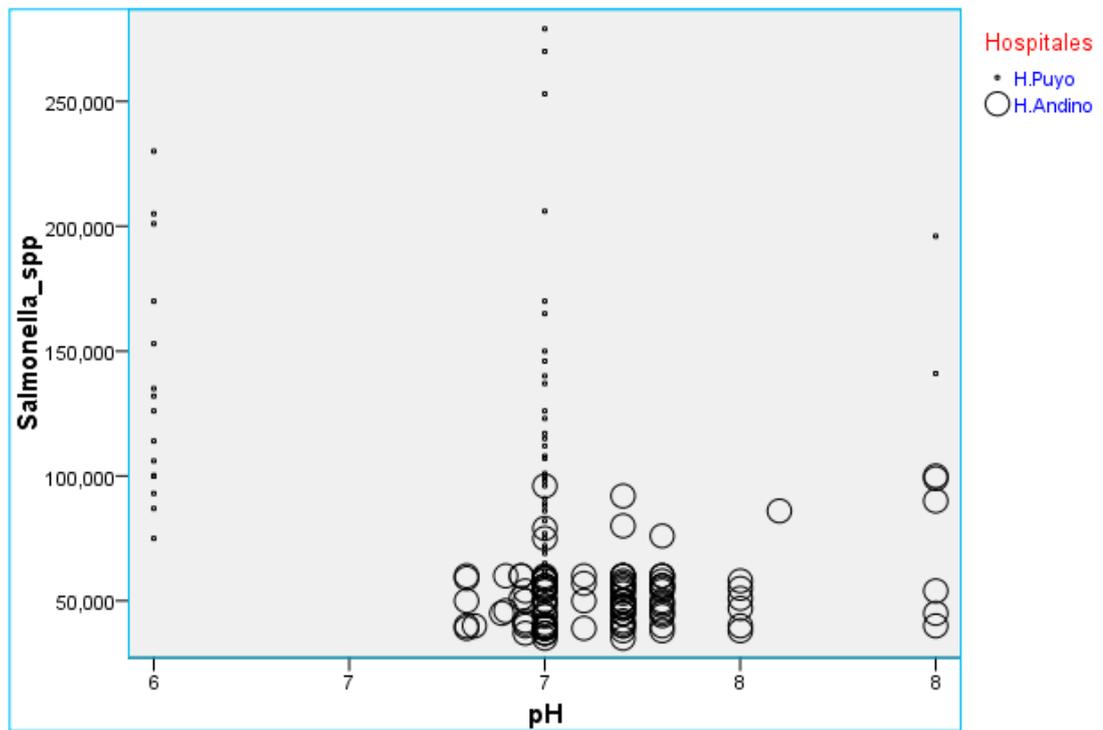


Gráfico 32-3: *pH-Salmonella spp*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

En cuanto al pH en el Hospital Andino estas bacterias crecen en rangos neutro – alcalinos (7 – 8) crecimiento de (< 50,000 – 100,000) UFC, en el Hospital General Puyo en pH (6 – 8) hay un crecimiento de (> 50,000 - > 250,000) UFC.

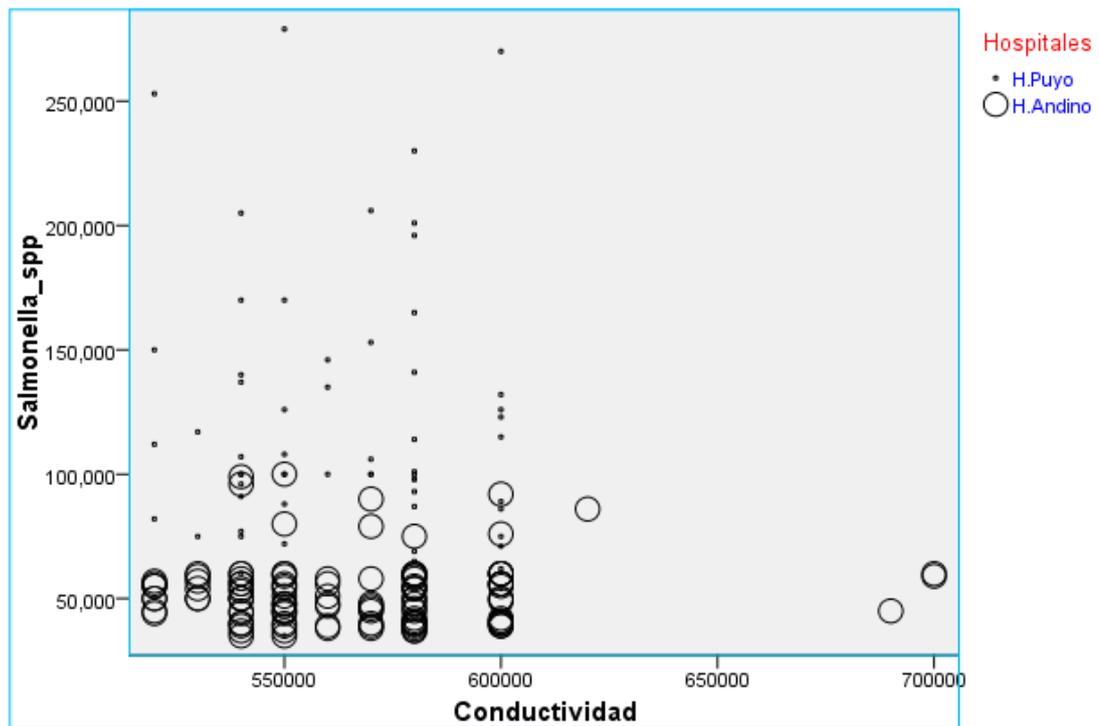


Gráfico 33-3: Conductividad-*Salmonella spp.*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

En el Hospital Andino en cuanto al parámetro Conductividad en los siguientes rangos (< 550000 – 600000) us /cm hay crecimiento de (< 50, 000 – 100,000) UFC, mientras que en el Hospital General Puyo en el mismo rango del Hospital Andino arrojando un crecimiento de (> 50,000 - > 250,000) UFC.

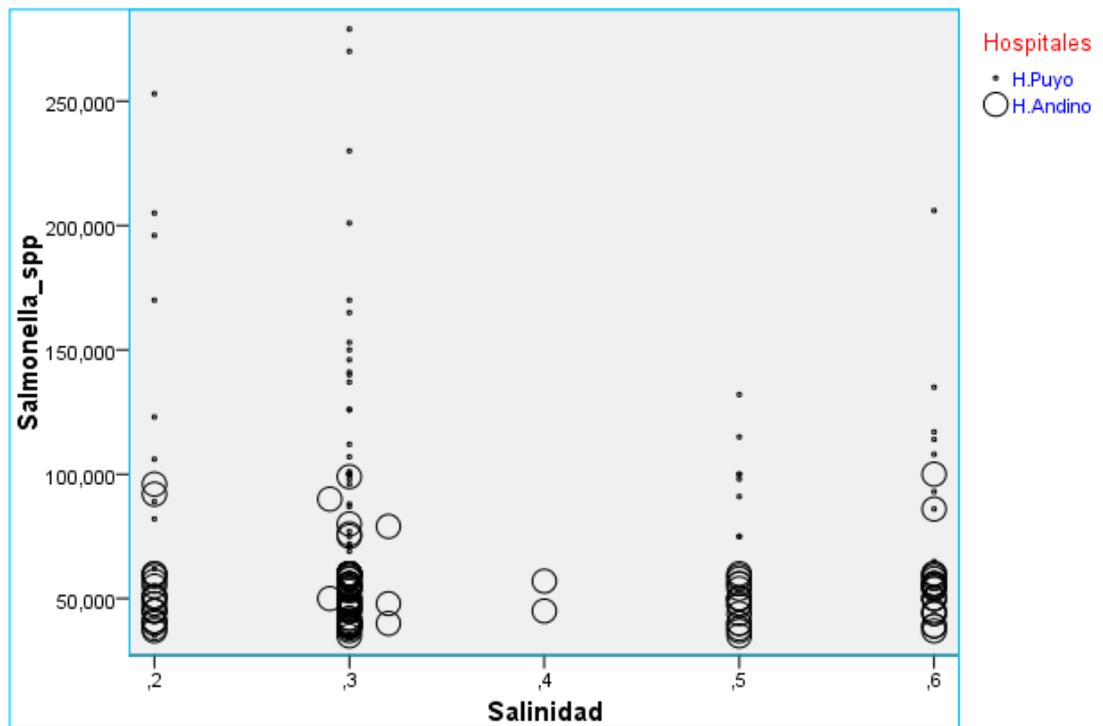


Gráfico 34-3: Salinidad-*Salmonella spp*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La Salinidad de las aguas residuales del Hospital Andino hay crecimiento dentro de los rangos (0,2 – 0,6) (<50,000 – 100,000) UFC, mientras que en el Hospital General Puyo hay crecimiento en el mismo rango (> 50,000 - > 250,000) UFC

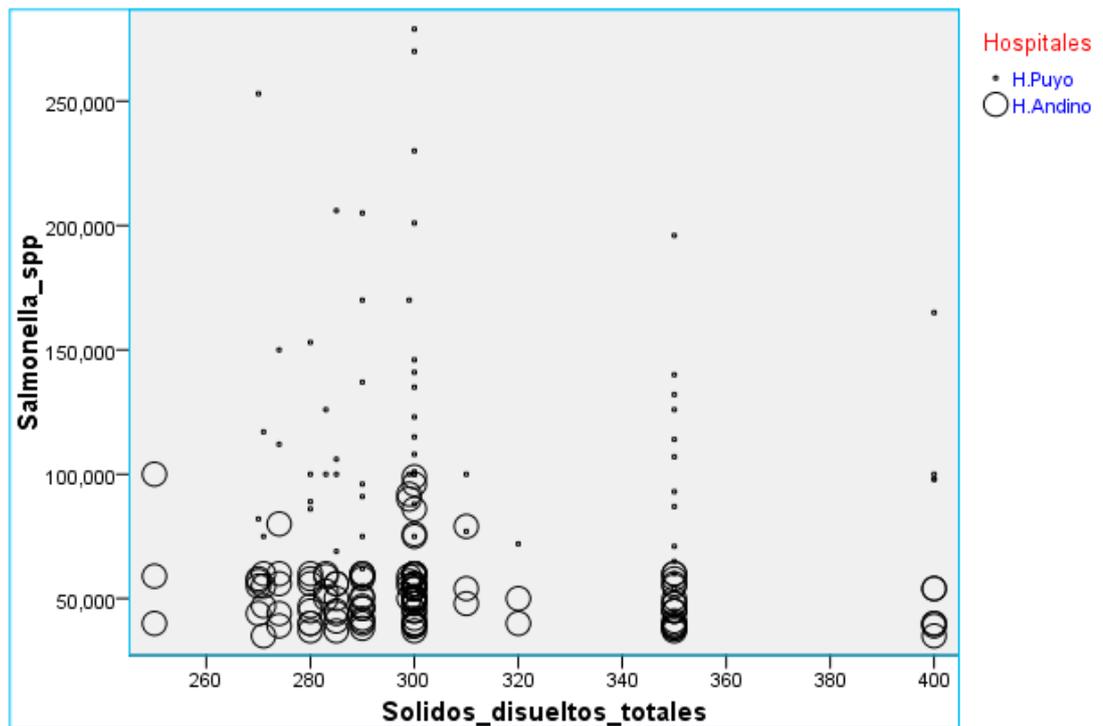


Gráfico 35-3: Sólidos disueltos totales-*Salmonella spp*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

En el Hospital Andino solidos disueltos totales hay crecimiento en los siguientes rangos (< 260 – 400) mg/l un crecimiento bacteriano de (< 50,000 – 100,000) UFC, en el Hospital General Puyo en el siguiente rango (270 – 400) mg/l presenta un crecimiento de (> 50,000 - > 250,000) UFC.

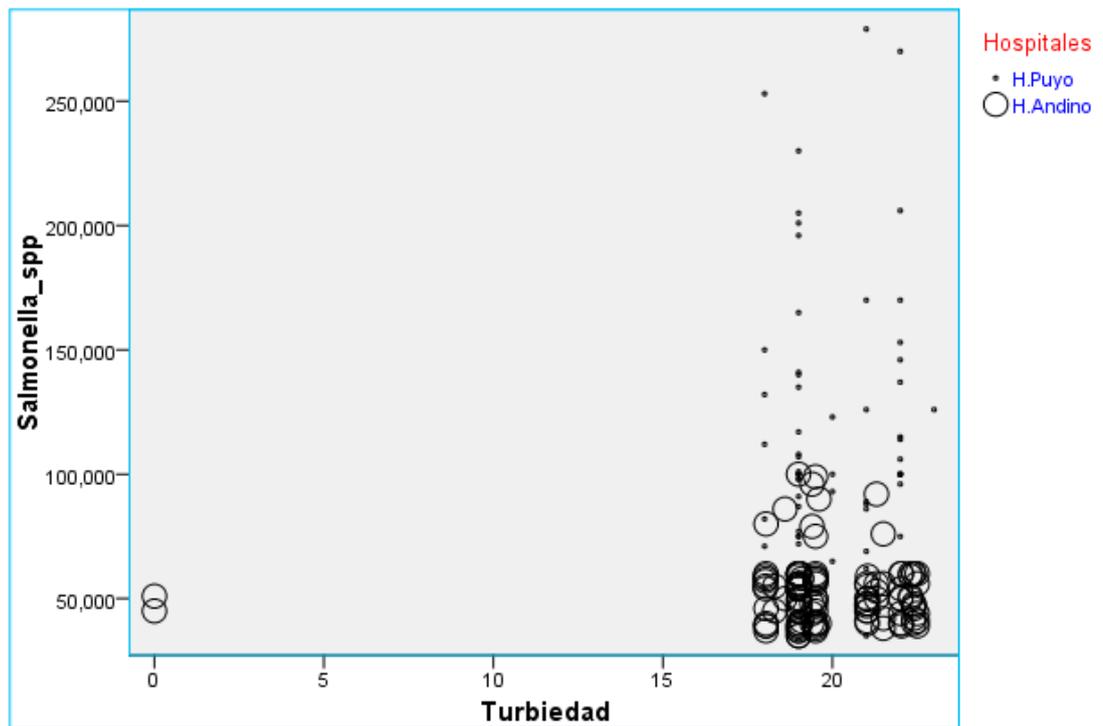


Gráfico 36-3: turbiedad-*Salmonella spp*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La turbiedad influye en el crecimiento bacteriano en el Hospital Andino en los siguientes rangos (18 - > 22) NTU un crecimiento de (< 50,000 – 100,000) UFC. En comparación al Hospital General Puyo un crecimiento de (> 50,000 - > 250,000) UFC en el mismo rango del Hospital anterior.

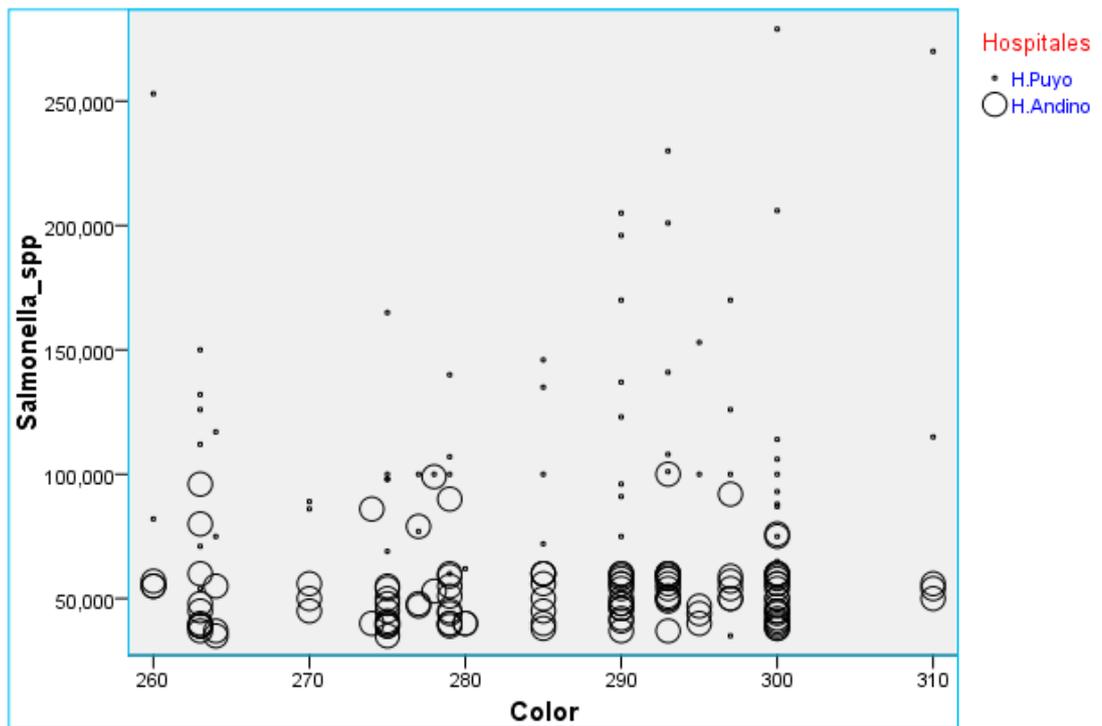


Gráfico 37-3: Color-*Salmonella spp*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

El color influye en el crecimiento de cepas en rangos (260 – 310) UNITS Pt Co para el Hospital Andino reportando (< 50,000 – 100,000) UFC, mientras que en el Hospital General Puyo hay un crecimiento de (> 50,000 - > 250,000) UFC.

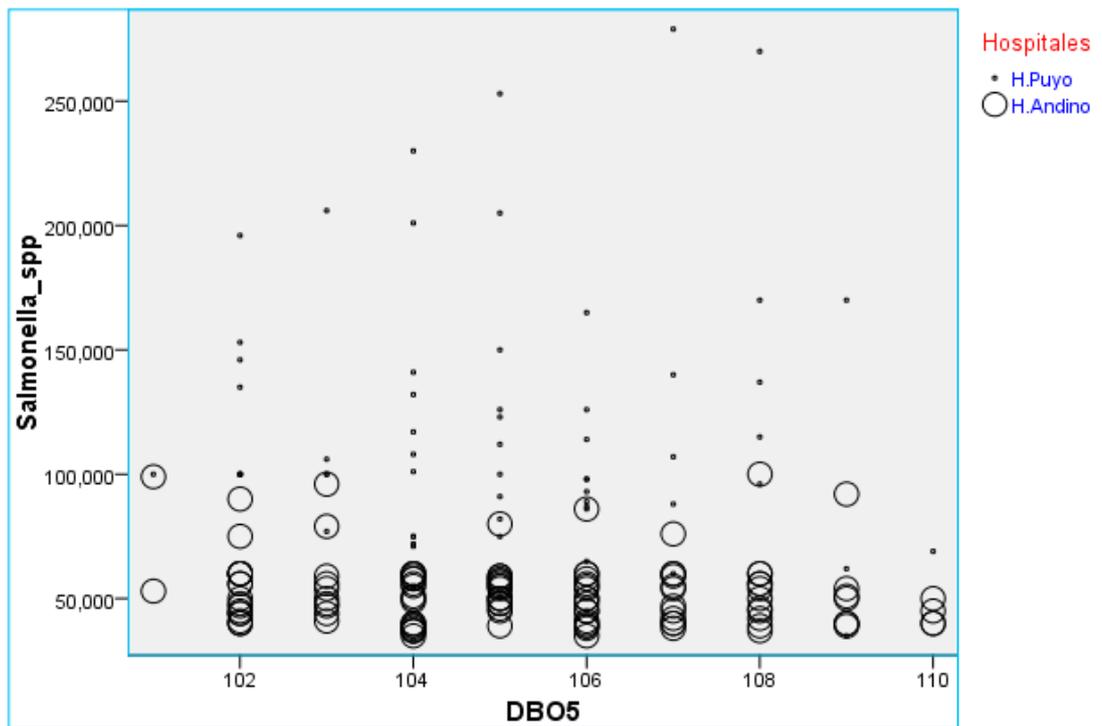


Gráfico 38-3: DBO₅-*Salmonella spp*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

En el Hospital Andino en cuanto al parámetro DBO₅ hay crecimiento en el siguiente rango (< 102 – 110) mg/l cepas entre (< 50,000 – 100,000) UFC, en el hospital General Puyo en el mismo rango de DBO₅ del Hospital Andino hay un crecimiento bacteriano de (> 50,000 - > 250,000) UFC.

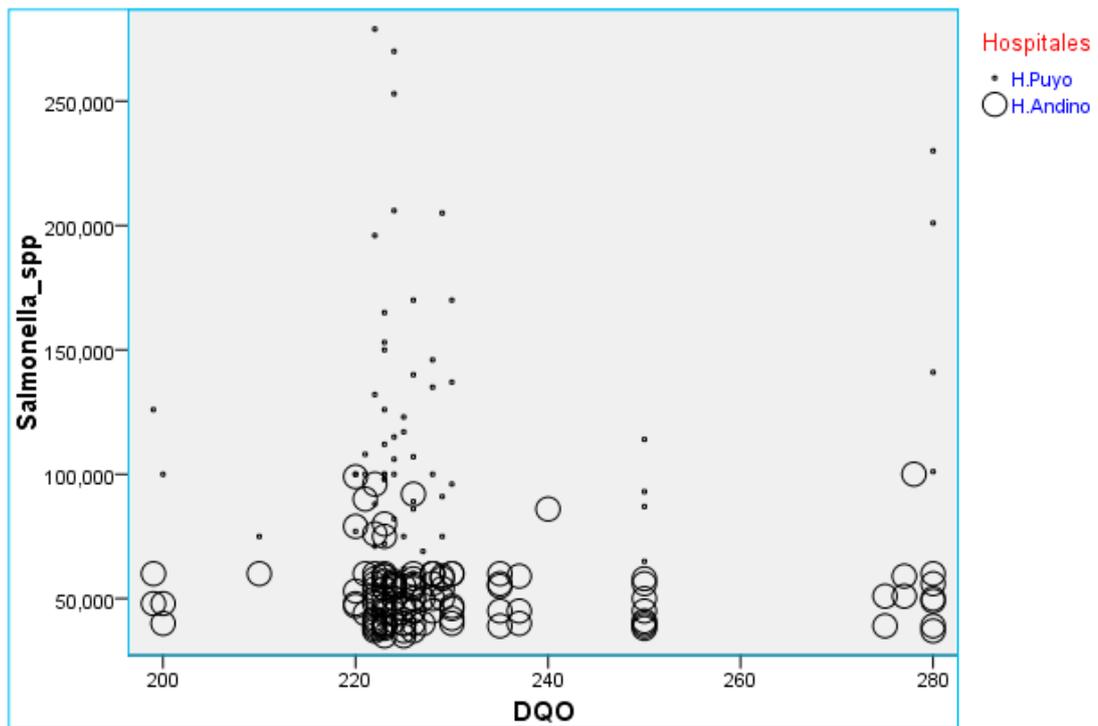


Gráfico 39-3: DQO-*Salmonella spp.*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Los rangos de crecimiento en cuanto a DQO en el Hospital Andino (200 – 280) mg/l un crecimiento de (< 50,000 – 100,000) UFC, mientras que el Hospital General Puyo muestra un crecimiento de (> 50,000 - > 250,000) UFC en el mismo rango de DBO₅ del Hospital Andino.

3.6.1.3. *Staphylococcus aureus* - Hospital Andino - Hospital General Puyo.

Según la investigación de (Méndez 2004) los *Staphylococcus aureus* por su capacidad para crecer en presencia de 6,5% de cloruro de sodio, a pH 9,6, entre 10 y 45°C. Son bacterias esféricas, Gram positivas, fisiológicamente relacionadas con las bacterias lácticas que dan negativa la prueba de la catalasa. Afirma que el crecimiento de este patógeno es extremadamente alto en temperaturas relativamente bajas aunque existe crecimiento en menor proporción en temperaturas altas. Presentando así la comparación entre estos dos hospitales en cuanto a *Staphylococcus aureus* es mucho mayor en el Hospital Andino en relación al Hospital General puyo.

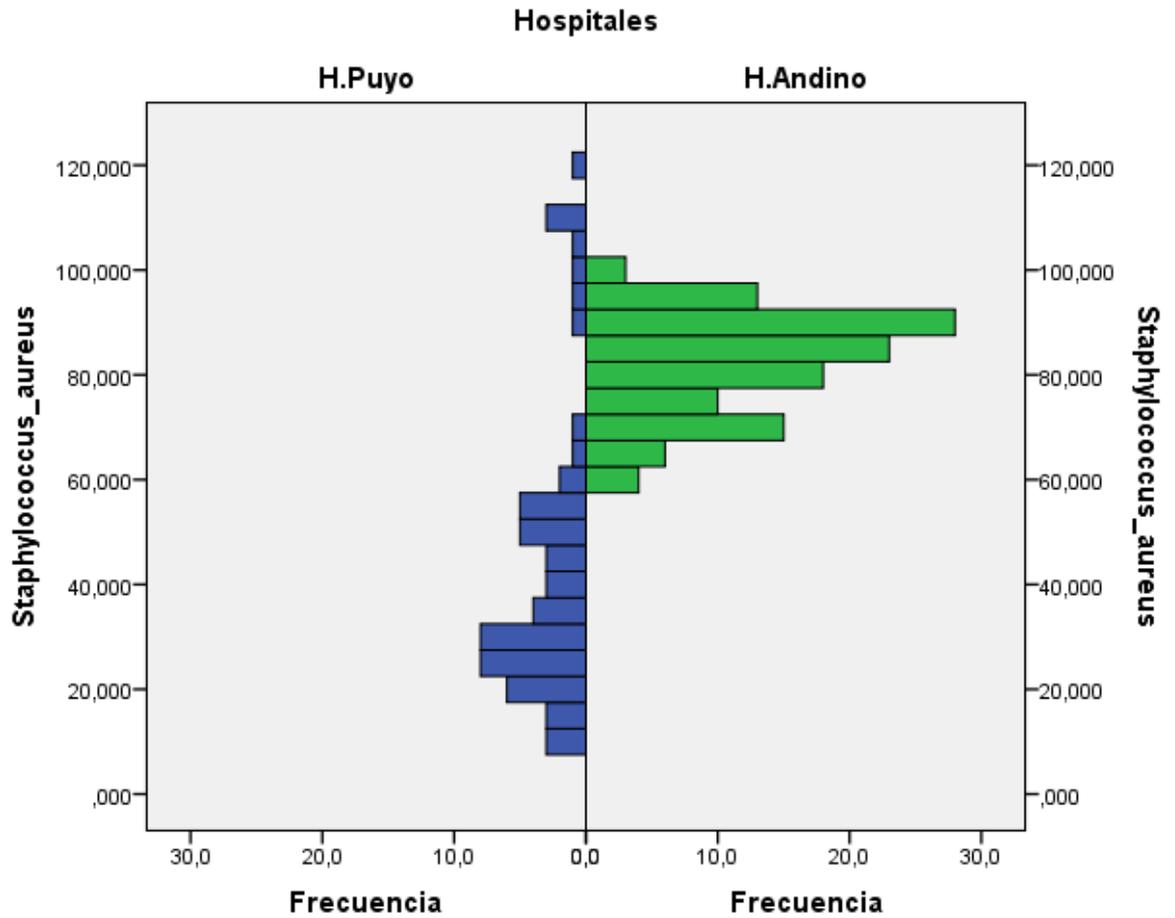


Gráfico 40-3: Frecuencia de crecimiento- *Staphylococcus aureus*- Hospital Andino-Hospital General Puyo.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La frecuencia de crecimiento del patógeno *Staphylococcus aureus* en el hospital Andino hay una relevancia mayor de crecimiento hasta 100,000 UFC. En comparación al Hospital General Puyo que presenta crecimiento en menor frecuencia cepas bacterianas menores a 80,000 UFC.

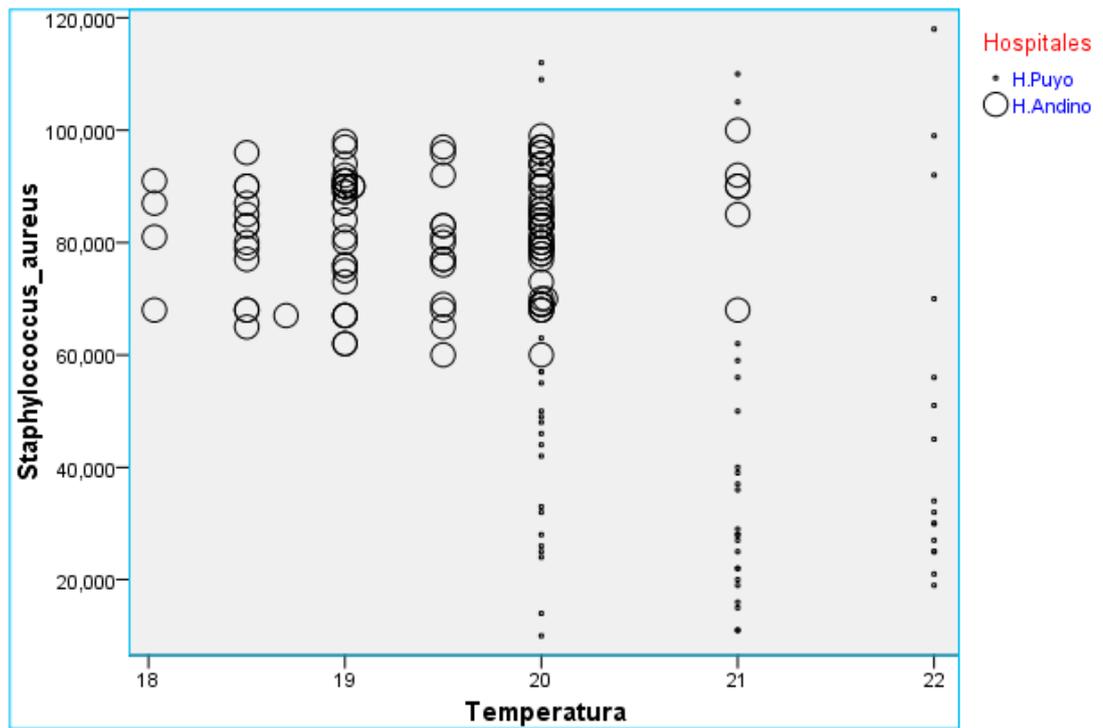


Gráfico 41-3: Temperatura-*Staphylococcus aureus*.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

El crecimiento viene en un rango de temperatura de (18- 21) °C un crecimiento extremadamente alto cepas reportadas entre (60,000 - > 100.000) UFC, a diferencia en el hospital General Puyo con un crecimiento menor de *Staphylococcus aureus* en un rango de temperatura de (20- 22) ° C la cantidad de colonias (< a 20,000) a temperaturas entre (20) °C, presenta un crecimiento escaso en temperaturas de (22° C) colonias (> a 100, 000) UFC.

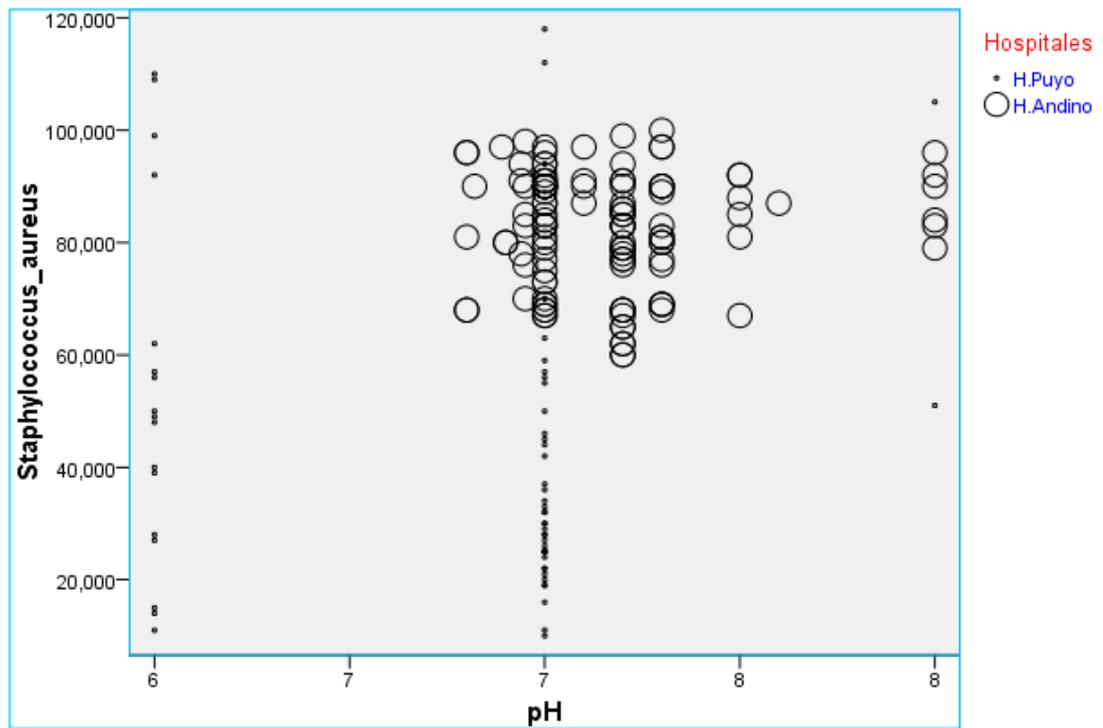


Gráfico 42-3: pH-*Staphylococcus aureus*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Estas colonias de *Staphylococcus aureus* presentan un excesivo crecimiento a un pH neutro para el hospital Andino prevalece un crecimiento en rangos de pH de (< a 7 – 8) encontrando cepas de crecimiento tanto en pH ácido como alcalino reportando un crecimiento de (60,000 – 100,000) UFC, en el Hospital General Puyo las cepas encontradas van desde (< a 20,000 – 120,000) UFC, en rangos de pH de (6- 8).

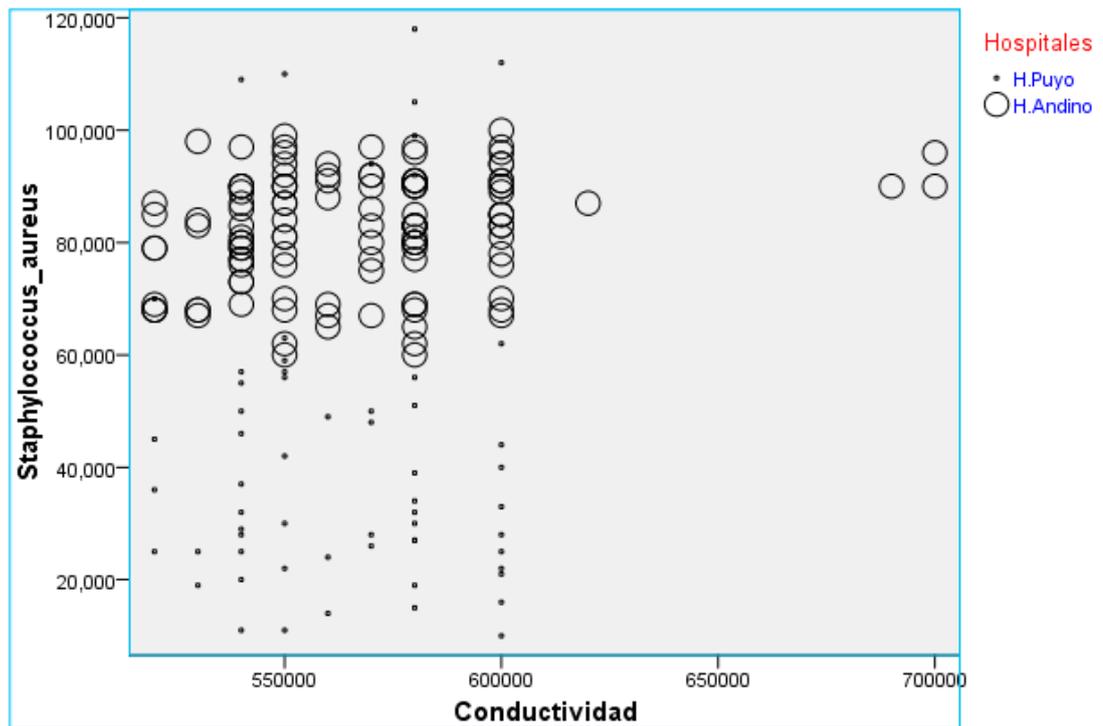


Gráfico 43-3: Conductividad-*Staphylococcus aureus*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La conductividad expresada en us /cm presenta rangos entre (< a 55,0000 – 70,0000) us /cm reporta un crecimiento en el Hospital Andino de (60,000 – 100,000) UFC, mientras que en el Hospital General Puyo tiene rangos de conductividad de (< a 55,0000 – 60,0000) con un crecimiento de cepas bacterianas de (< 20,000 – 60,000) UFC y escasas cepas (> 100,000) UFC.

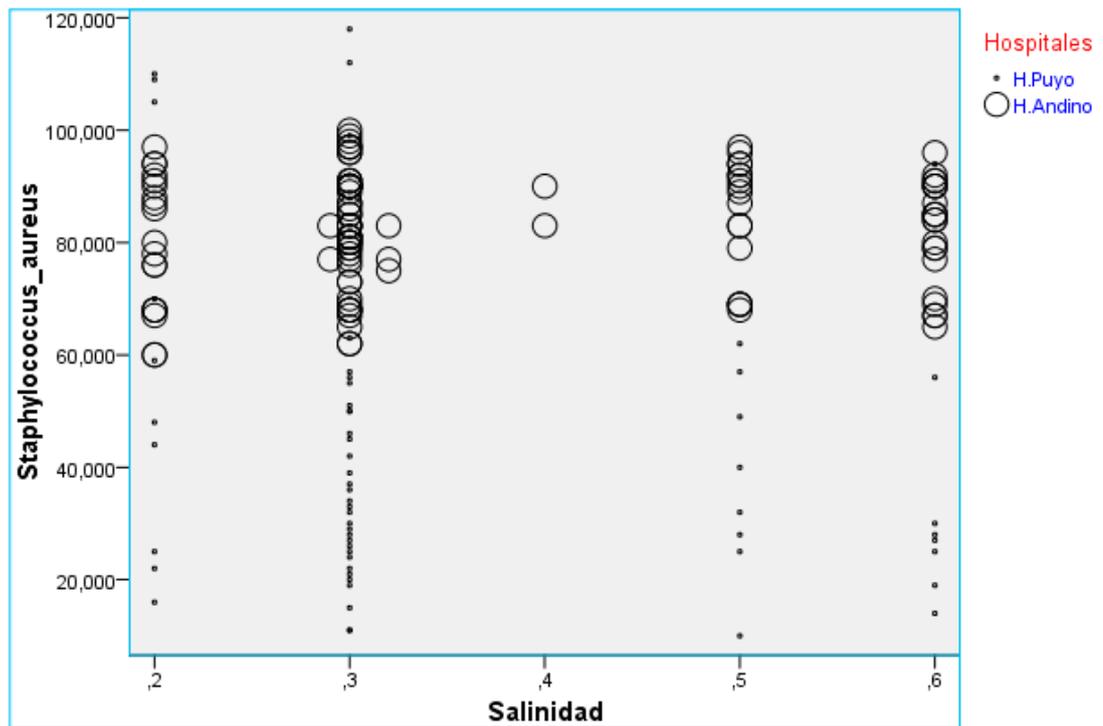


Gráfico 44-3: salinidad-*Staphylococcus aureus*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Otro parámetro medido es la salinidad presentando los siguientes resultados en el Hospital Andino hay crecimiento en rangos de (0,2 – 0,6) crecimiento de cepas de (60,000 a 100,000) UFC, con relación al Hospital General Puyo presenta dos rangos de crecimiento de (0,2 – 0,3 y 0,5 – 0,6) una cantidad de cepas de (< 20,000 – 70,000) UFC presenta un crecimiento escaso en el rango de salinidad de (0,2 – 0,3) cepas (> 100,000) UFC.

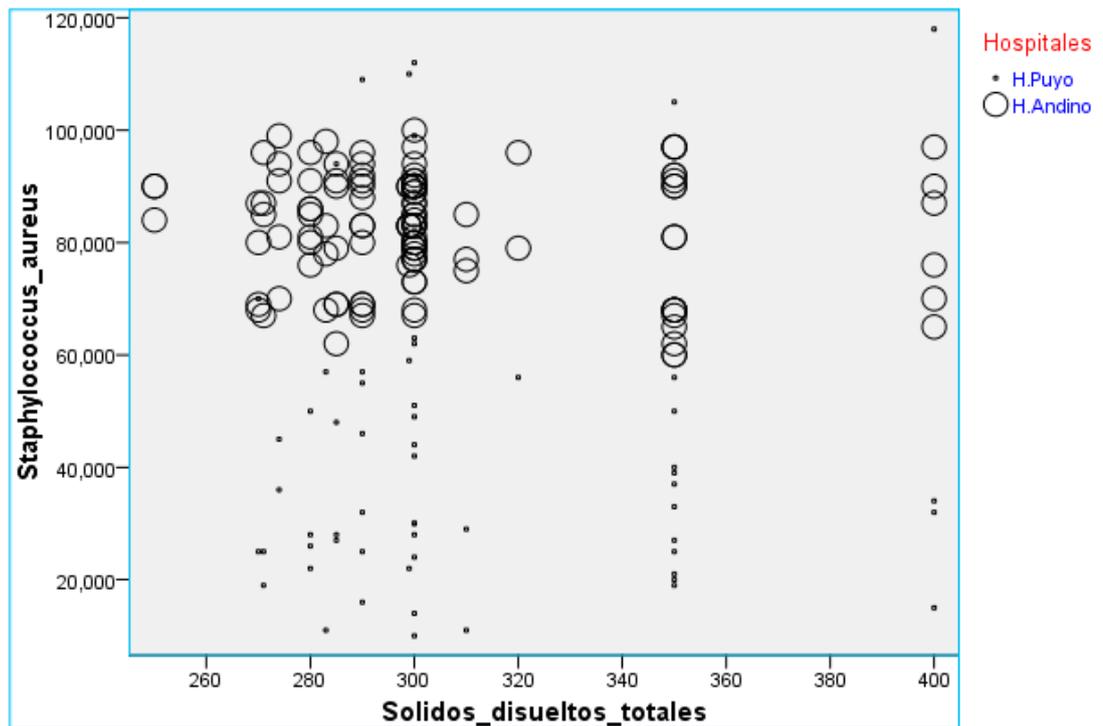


Gráfico 45-3: sólidos disueltos totales-*Staphylococcus aureus*

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La medición de Sólidos disueltos totales en el Hospital Andino arroja lo siguiente: en el rango de (< 260 – 320) mg/l presenta un crecimiento de (60,000 - > 100,000) UFC en el rango de (350) mg/l (55,000 – 100,000) UFC, en (400) mg/l (> 60,000 – 100,000) UFC. En el Hospital General Puyo en rangos de (270 – 320) mg/l la cantidad de cepas de (< 20,000 – 70,000) UFC, (350) mg/l (20,000 – 100,000) UFC, y en (400) mg/l (< 20,00) UFC.

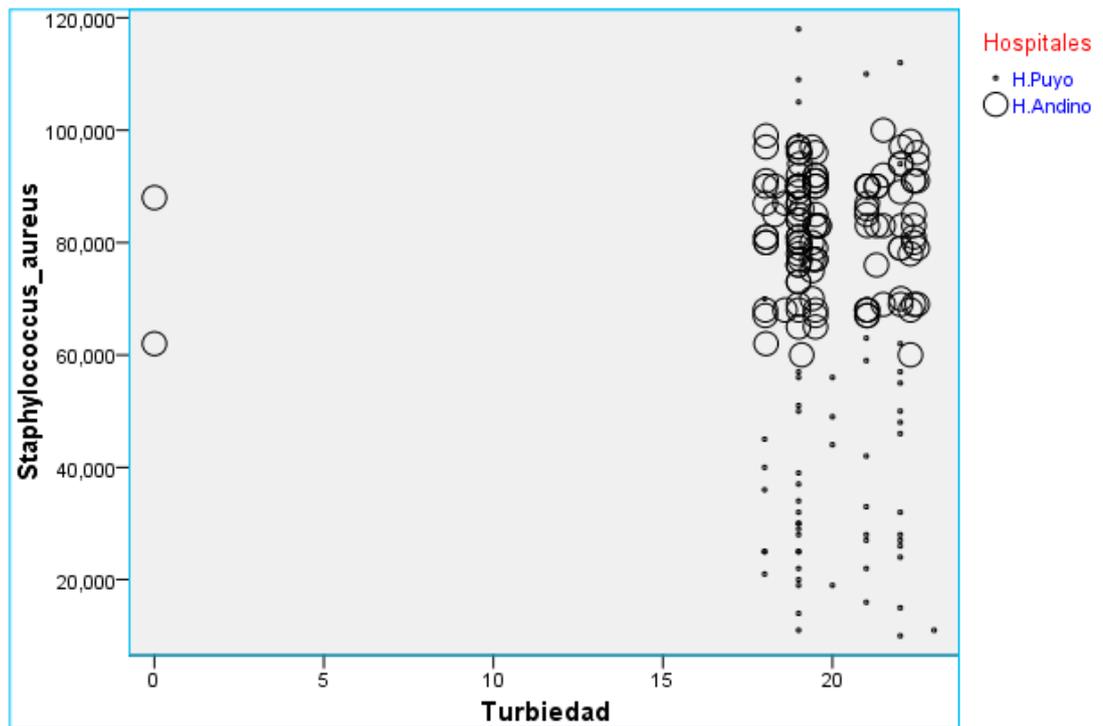


Gráfico 46-3: Turbiedad-*Staphylococcus aureus*.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

La Turbiedad expresada en NTU en el Hospital Andino presenta rangos de crecimiento de (18 – 20) (60,000 – 100,000) UFC, en relación a la otra unidad médica en el mismo rango presenta un crecimiento de cepas bacterianas de (< 20,000 – 70,000) UFC y escasas cepas (> 100,000) UFC

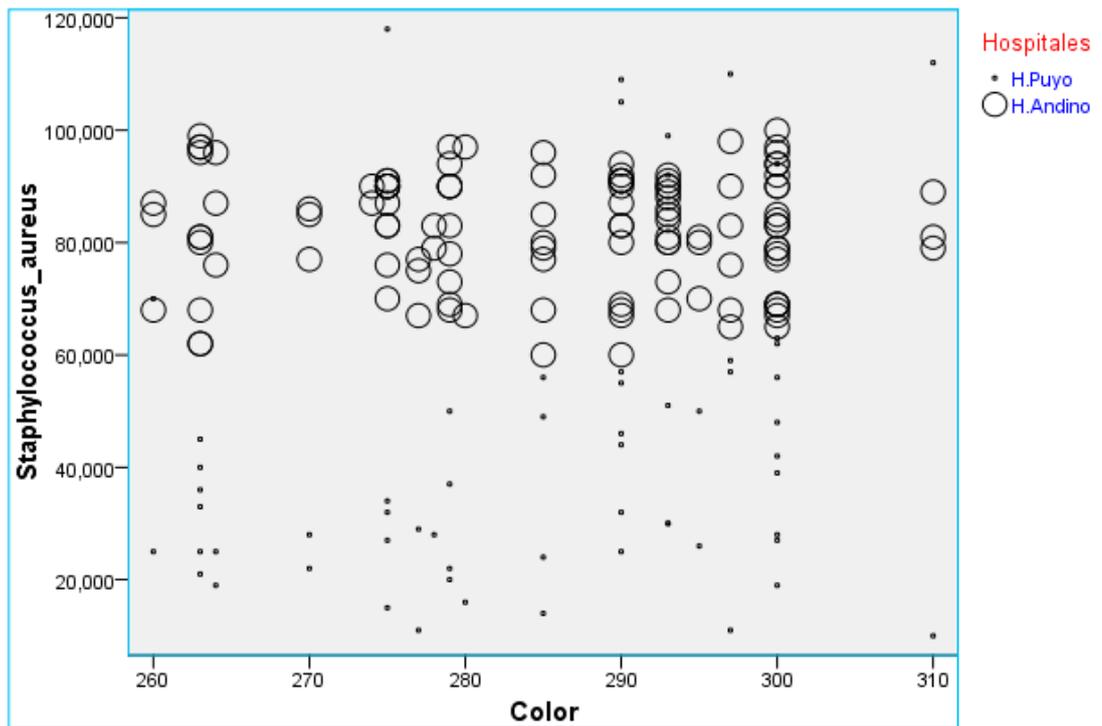


Gráfico 47-3: Color-*Staphylococcus aureus*.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

El color expresado en UNITS Pt Co en el Hospital Andino dentro del siguiente rango (260 – 310) un crecimiento de (60,000 - > 100,000) UFC, en el Hospital General Puyo dentro del mismo rango presenta un crecimiento de (> 20,000 – 60,000) UFC y existe un crecimiento leve de cepas (> 100,000) UFC dentro del rango de medición de (290 – 310).

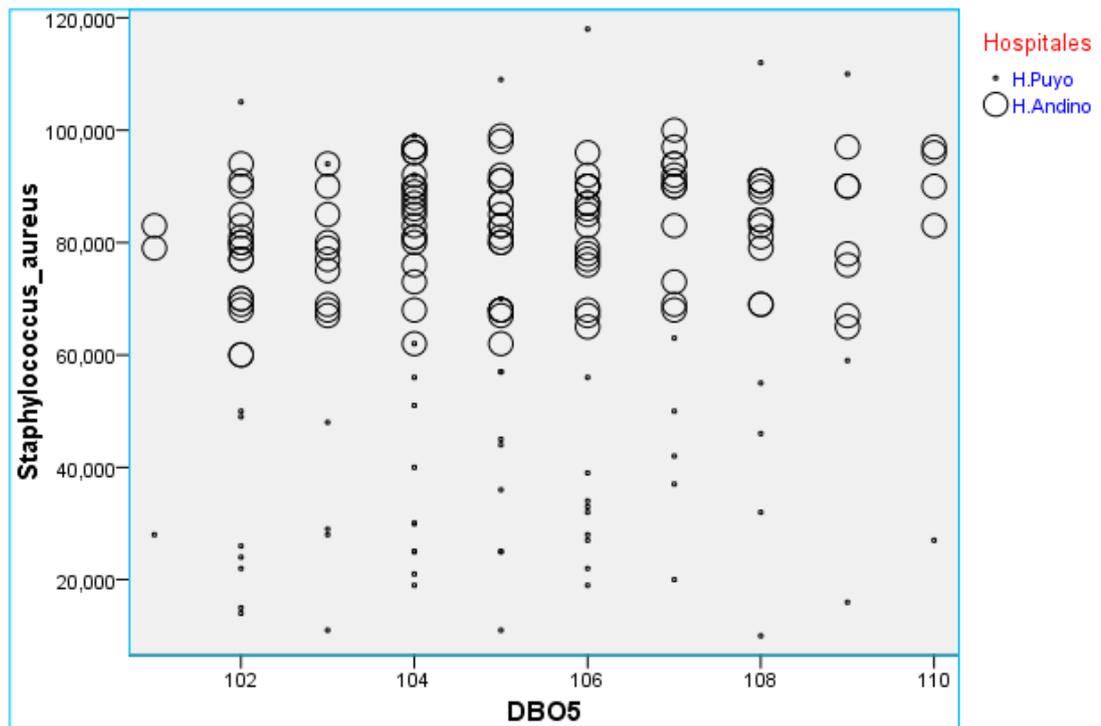


Gráfico 48-3: DBO5-*staphylococcus aureus*.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

El BQO₅ en el Hospital Andino presenta los siguientes rangos de crecimiento (> 102 – 110) mg/l crecimiento de cepas bacterianas (60,000 – 100,000) UFC, mientras que en el Hospital General Puyo un crecimiento de (> 20,000 – 65,000) UFC en el mismo rango de crecimiento del otro Hospital.

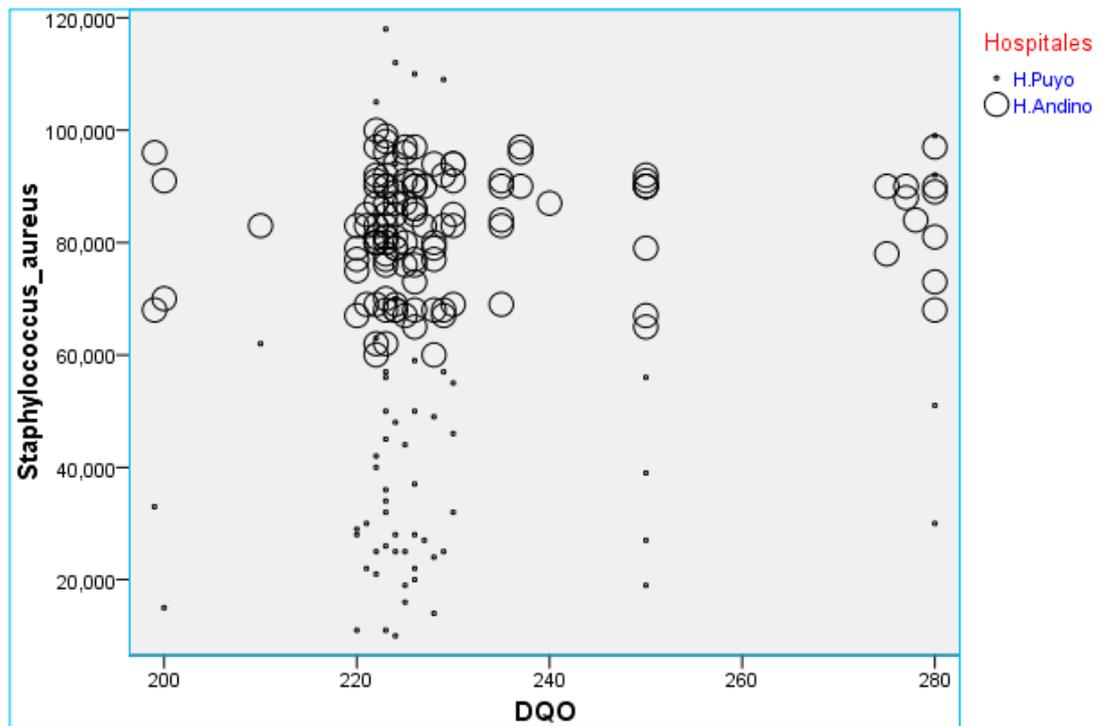


Gráfico 49-3: DQO-*Staphylococcus aureus*.

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017.

Otro parámetro medido en aguas residuales de hospitales es el DBO mostrando los siguientes datos en rangos de crecimiento (200- 280) mg/l presentando un crecimiento extremadamente alto en el siguiente rango: (220 – 240) mg/l (60,000 – 100,000) UFC, en el Hospital Puyo dentro del mismo rango existe un crecimiento de cepas bacterianas de (> 20,000 – 70,000) UFC.

3.7. Prueba de hipótesis.

Tabla 30-3: Análisis factorial-KMO y prueba de Bartlett.

Prueba de KMO y Bartlett		
Medida Kaiser-Meyer-Olkin de adecuación de muestreo		.563
Prueba de esfericidad de Bartlett	Aprox. Chi-cuadrado	147.51
	Gl	55
	Sig.	.000

Realizado por: CORDOVA, Silvana; ESCUDERO, Mayra, 2017

Fuente: matriz de correlaciones.

El resultado que se obtuvo del análisis de la tabla 30-3 con respecto a la medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin fue de 0,563 por lo que se asegura que la relación que existe en este test es apropiado para aplicar el análisis factorial, debido a que su valor está dentro de 0,5 y 1.

- **Planteamiento de hipótesis.**

H₀: No existe al menos una componente que caracterice el crecimiento de patógenos en aguas residuales que describa el problema estudiado. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

H₁: Si existe al menos una componente que caracterice el crecimiento de patógenos en aguas residuales que describa el problema estudiado si p valor es menor a 0,05 se desecha la hipótesis nula.

- **Decisión**

Analizando la prueba de esfericidad de Bartlett de la tabla 30-3 el valor de sig. es 0,000 por lo que se rechaza la hipótesis nula aceptando la hipótesis alternativa, mencionando que si es posible realizar el análisis factorial.

CONCLUSIONES

Los puntos estratégicos identificados en cada unidad hospitalaria, realizando un profundo estudio de donde adquirir las muestras de aguas residuales para los respectivos análisis de laboratorio con el Objetivo de identificación de bacterias patógenas causantes de toxicidad ambiental. En el Hospital Andino perteneciente al Cantón Riobamba se identificó las áreas que aportan diferentes componentes químicos y biológicos tales como antibióticos, residuos fecales, secreciones de pacientes enfermos, productos anticancerígenos, desinfectantes y otros. Eligiendo las áreas de Hospitalización, Laboratorio, Quirófano y Emergencias identificando 4 puntos de muestreo en esta unidad Hospitalaria de donde se realizó el muestreo de las aguas residuales de sus diferentes cajas de revisión.

Por lo concerniente al Hospital General Puyo se identificó 2 puntos de muestreo primer punto caja de revisión a la entrada de la planta de tratamiento, segundo punto caja de revisión salida a la planta de tratamiento, abarcando en su totalidad todas las áreas pertenecientes a dicho hospital ya que esta unidad médica cuenta con su respectiva planta de tratamiento de aguas residuales.

Los análisis de este estudio investigativo de aguas residuales de las unidades. Hospital Andino, Hospital General Puyo. Se inició con un análisis físico – químico seguido de un análisis microbiológico y sus respectivas pruebas bioquímicas.

La caracterización de las aguas residuales procedentes de las instalaciones de las unidades de salud Hospital Andino y Hospital General Puyo aportan resultados imprescindibles para la gestión de estas y contribuye a disminuir su impacto ambiental. Estas aguas aportan diferentes componentes químicos y biológicos tales como antibióticos, residuos fecales, secreciones de pacientes enfermos, productos anticancerígenos, desinfectantes y otros (Ramos, 2008), los que deben ser inactivados antes de realizar su vertimiento al alcantarillado público y posteriormente en una fuente natural de agua. Los resultados obtenidos se compararon con los límites máximos permisibles de la Norma ecuatoriana (NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES, 1989; OMS, 2014).

Se identificó de manera principal tres tipos de bacterias patógenas que persisten en las aguas residuales de los Hospitales Andino y del Hospital General Puyo las siguientes tipologías.: *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, las cuales crecen en diferentes condiciones según los parámetros físico – químicos medidos según la Normativa.

En las Pruebas Bioquímicas se determinó mediante la diferenciación de géneros Enterobacteriaceae, identificando así en cada una de las áreas (Hospitalización, Laboratorio, Quirófano, Emergencia.) correspondiente a la unidad médica hospital Andino. Para la caracterización del hospital General Puyo de los puntos de muestreo entrada y salida de la planta de tratamiento de aguas residuales. Las especies encontradas fueron las siguientes familias, *Escherichia coli*, (40%), *Klebsiella pneumoniae*, (10%) *Enterobacter cloacae* (0,1%) *Shigella dysenteriae*, (10%) *Salmonella spp* (30 %) *Staphylococcus aureus* (10 %),

Las bacterias patógenas identificadas tienen un crecimiento relativamente alto comprobando la multiresistencia a tratamientos convencionales tal así su pertinencia en aguas residuales es extremadamente alta en cada unidad Hospitalaria presentando los siguientes resultados: La frecuencia de crecimiento del patógeno *Escherichia coli* tanto para el Hospital Andino como para el Hospital General Puyo presentan una igualdad de condiciones entre las dos variables, presentando un crecimiento igual a 100,000 UFC en las dos unidades Hospitalarias. El crecimiento microbiológico del patógeno *salmonella spp*, presenta una frecuencia mayor en el Hospital General Puyo > a 250,000 UFC, mientras que el hospital Andino presenta un crecimiento de 100,000 UFC teniendo esta unidad una frecuencia menor en comparación al Hospital Andino. La frecuencia de crecimiento del patógeno *Staphylococcus aureus* en el hospital Andino hay una relevancia mayor de crecimiento hasta 100,000 UFC. En comparación al Hospital General Puyo que presenta crecimiento en menor frecuencia cepas bacterianas menores a 80,000 UFC.

RECOMENDACIONES

Una vez analizada la pertinencia de bacterias patógenas en aguas residuales de las unidades Hospitalarias se recomienda analizar la contaminación toxica que están causando estos efluentes líquidos. Recomendando a las unidades Hospitalarias un tratamiento adecuado antes del vertimiento a los alcantarillados de las ciudades respectivas. Así cada una de estas unidades hospitalarias puedan dar un tratamiento adecuado de las aguas residuales así conseguir una correcta disposición final a los efluentes antes de su deposición final.

Al analizar los resultados obtenidos en los bioensayos, es necesario tener en cuenta que no todos los microorganismos patógenos se eliminan en plantas de tratamiento convencionales para aguas residuales, ciertas bacterias como la *Escherichia Coli Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* son inhibidoras a muchos antibióticos que para su eliminación necesitan de tratamientos no convencionales.

Se recomienda realizar más investigaciones de análisis microbianas para determinar si existe la prevalencia de algún otro tipo de bacteria que este causando graves daños toxicológicos como en el caso de las bacterias analizadas en esta investigación.

Es necesario la construcción de una planta de tratamiento en las unidades Hospitalarias para el respectivo tratamiento de sus aguas residuales de esta manera estaremos evitando la propagación de bacterias patógenas en cuencas hídricas, y la eliminación de enfermedades causadas por dichos microorganismos.

Finalmente se recomienda a las autoridades pertinentes dar un seguimiento a cada una de las unidades Hospitalarias para que cumplan con el tratamiento respectivo de sus aguas residuales, desfogando las mismas dentro de los parámetros permisibles según Normativa.

BIBLIOGRAFIA.

1. **ANDERSON, P., & CALDERON, V.** *Microbiologia alimentaria*. Madrid: Diaz de Santos S.A. 2000.
2. **APELLA, M., & ARAUJO, P.** *Microbiologia del Agua Conceptos Basicos*. Obtenido de http://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf. (2005).
3. **ÁLVAREZ, MARÍA. Y BOQUET, ERNESTO.** *Manual de Técnicas en Microbiología Clínica*. 2ª ed. Madrid-España. Garsi. 1990. pp. 29-39, 111-144.
4. **ALVEAR, M. T.** *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. Buenos Aires: Madica Panamericana. (2003).
5. **BUSTOS, J., HAMDAN, A., & GUTIERREZ, M.** *Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2006/bio064f.pdf>. (2006).
6. **CEJASA, DANIELA.; et.al.** “First detection of CMY-2 plasmid mediated β -lactamase in Salmonella Heidelberg in South América”. *Cátedra de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica* (2014), (revista argentina de microbiología) pp. 1-5.
7. **CZYSZZ, W., et al.** *Manual de disposición de aguas residuales. Origen, descarga, tratamiento y análisis de las aguas residuales GTZ, EPIS, OPS y OMS, Lima, Perú*, 1991, p. 871-872.
8. **DE LA ROSA, M., & PRIETO, J.** *Microbiología en Ciencias de la Salud*. Barcelona: ELSEVIER. (2011).
9. **DELGADILLO, O., et.al.** *Depuración de Aguas Residuales por medio de Humedales*. Cochabamba. (2010).
10. **GARCIA, J., & PICAZO, J.** *Microbiología medica*. Madrid: Harcourt. (1999).
11. **GARCIA, P., FERNANDEZ, M., & PAREDES, F.** *Microbiología Clínica*. (1994).

12. **NEGRONI, M.** Microbiología Esomatologica. Buenos Aires: MEDICA PANAMERICANA. (2009).
13. **PAZ, M., et.al.** *Higiene y Sanidad Ambiental*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/228912200_Aguas_residuales_de_un_centro_hospitalario_de_Buenos_Aires_Argentina_caracteristicas_quimicas_biologicas_y_toxicologicas. (2004).
14. **RODRIGUEZ, E., et.al.** (s.f.). *Bacteriología General*. Universidad de Costa Rica.
15. **ROMERO, R.** Microbiología y parasitología Humana. D.F. Mexico: MEDICA PANAMERICANA. (2007).
16. **TORTORA, G., FUNKE, B., Y CASE, C.** Introducción a la microbiología.. Madrid: MEDICA PANAMERICANA S.A. (2007).
17. **NUÑEZ, LIDIA.; et.al.** “Bacterias resistentes a antibióticos en aguas grises como agentes de riesgo sanitario”. *Cátedra de Higiene y Sanidad, Facultad de Farmacia y Bioquímica* (2012), (Revista Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science) pp.1-9.
18. **MÉNDEZ VERAS, REBECA ARACELY.** *Desarrollo y validación de una prueba de fácil aplicación para determinación de enterococos en agua de consumo humano*. (Tesis). Universidad de san Carlos, Guatemala 2004.pp. 1-71.
19. **OLLER, I., MALATO, S. AND SÁNCHEZ-PÉREZ, J.,** Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater.
20. **SEVERICHE, S.; et al.** Manual de métodos analíticos para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en aguas. *Fundación Universitaria Andaluz Inca Garcilaso*, 2013, p. 8.

21. **TORTORA, GERARD.; et al.** *Introducción a la Microbiología*. 9ª ed. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana, 2007. pp. 160-179

22. **VERLICCHI, P. et al.** Hospital effluents as a source of emerging pollutants: an overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology*, 389, pp. 416-428, 2010.

23. **KÜMRER, K. et al.** Drogas en el medio ambiente: emisión de drogas, ayuda diagnóstica, desinfectantes de arena en aguas residuales por parte de los hospitales en relación con otras fuentes - una revisión. *Chemosphere* 45, pp. 957-969, 2001.

ANEXOS.

Anexo A. Permiso Hospital Andino.

 **ESPOCH**
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Riobamba, 02 de marzo de 2017

Dr.
Jorge Donoso
DIRECTOR DEL HOSPITAL ANDINO
Presente

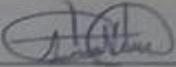
De mi consideración:

En calidad de Tesistas Mayra Verónica Escudero Vilema CI 060426710-4, Silvana Natali Córdova Morales CI: 180419773-7 de la carrera de Ingeniería en Biotecnología Ambiental de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo pedimos de manera muy comedida el permiso de ingresar al área de descarga de aguas residuales de dicha institución de Salud, para que nos permita la toma de muestras del efluente para el trabajo investigativo Tema que corresponde: **Evaluación de Patógenos en Aguas Residuales de Unidades Hospitalarias de la Ciudad de Riobamba.**

Ante este pedido, seguro de contar con su aprobación, anticipamos nuestros más sinceros agradecimientos.

Atentamente,


Mayra Verónica Escudero Vilema
060426710-4


Silvana Natali Córdova Morales
180419773-7





Anexo B. Permiso Hospital General Andino.

 **ESPOCH**
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Riobamba, 04 de Abril de 2017

Economista
Santiago Rivera
COORDINADOR DE LA ZONA 3 DE SALUD

Licenciada
Paola Yáñez
DIRECTORA ZONAL - PROMOCIÓN DE LA SALUD

Ingeniero
David Ortiz
ESPECIALISTA ZONAL DE SALUD AMBIENTAL
COORDINACIÓN ZONAL 3 - SALUD
Presente

04-04-17
14 16
DIA
Fech

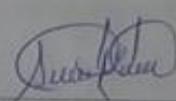
De nuestra consideración

Silvana Nataly Córdova Morales C.I 180419773-7, Mayra Verónica Escudero Vilema C.I.060426710-4 estudiantes tesistas de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, del trabajo de titulación: "EVALUACIÓN DE PATÓGENOS EN AGUAS RESIDUALES DE UNIDADES HOSPITALARIAS". Pedimos el permiso a quien corresponda nos proporcione el transporte, para el traslado de equipos y muestras de análisis al lugar de estudio de dicha investigación.

A la petición requerida anticipamos nuestros sinceros agradecimientos.

Atentamente,


Mayra Verónica Escudero Vilema
060426710-4
Estudiantes


Silvana Nataly Córdova Morales
180419773-7

Paralelepípedo a 2m An. 1, 1/2. Teléfono: 233 (75) 2 990299. Fax: 157
www.esPOCH.edu.ec info@esPOCH.edu.ec Código Postal: EC060155

Anexo C. Registro de ubicación del punto de monitoreo.

Nombre del Hospital:			
Nombre de PTAR:			
Ubicación de PTAR:			
Localidad	Distrito	Provincia	
IDENTIFICACIÓN DE PUNTOS DE MONITOREO			
AFLUENTE			
Denominación del punto de muestreo (afluente)			
COORDENADAS U.T.M. (WGS84)			
Norte	Este	Zona UTM	Altitud
EFLUENTE			
Denominación del punto de muestreo (efluente)			
COORDENADAS U.T.M. (WGS84)			
Norte	Este	Zona UTM	Altitud

Anexo D. Requisitos para toma de muestra de agua residual y preservación de las muestras para el monitoreo.

Determinación/Parámetro	Recipiente	Volumen mínimo de muestra (1)	Preservación y concentración	Tiempo máximo de duración
Fisicoquímico				
Temperatura	P,V	1000 ml	No es posible	15 min
pH (2)		50 ml	No es posible	15 min
DBO ₅ (3)	P,V	1000 ml	Refrigerar a 4°C	48 horas
DQO (3)	P,V	100 ml	Analizar lo más pronto posible, o agregar H ₂ SO ₄ hasta pH<2; refrigerar a 4°C	28 días
Aceites y grasas	V, ámbar boca ancha calibrado	1000 ml	Agregar HCl hasta pH<2, refrigerar a 4°C	28 días
Sólidos suspendidos Totales (SST)	P,V	100 ml	Refrigerar a 4°C	7 días
Fosforo Total	P,V	100 ml	Agregar H ₂ SO ₄ hasta pH<2; refrigerar a 4°C	28 días
Microbiológico				
Coliformes termo tolerantes (NMP)	V, esterilizado	250 ml	Refrigerar a 4°C Agregar tiosulfato en plantas con cloración	6 horas

(1) No hay restricción para el volumen máximo de la muestra.

(2) En el caso de lagunas de estabilización, la medición del efluente debe realizarse entre las 10:00 y las 11:00 horas para evitar la interferencia del desequilibrio del sistema carbonatado por alta actividad fotosintética que se da en las horas de mayor radiación solar.

(3) En caso de lagunas de estabilización, filtrar las muestras de los efluentes (filtro no mayor a 1 micra de porosidad, lo cual debe ser reportado con los resultados del ensayo) para eliminar la interferencia de algas, determinando de este modo la DBO y DQO, soluble o filtrada. No se debe filtrar las muestras si los efluentes son vertidos en cuerpos de agua lenticos (lagunas, lagos, bahías, etc.).

Leyenda: P = frasco de plástico o equivalente

Anexo E. Registro de datos de campo

Nombre de la PTAR:				
AFLUENTE				
Denominación del punto de monitoreo:				
Fecha	Hora	pH	Temperatura	
Eventuales observaciones al punto de monitoreo				
Características del agua residual				
EFLUENTE				
Denominación del punto de monitoreo:				
Fecha	Hora	pH	Temperatura	
Eventuales observaciones al punto de monitoreo				
Características del agua residual				

Afluente (ingreso) y efluente (salida) en el momento del monitor.

Anexo F. Técnica para la utilización de la autoclave TUTTAVER (UCB 68456).

- Controlar la cantidad de agua levantando barra que indica el nivel máximo y mínimo, el agua debe estar dentro de ese rango. (agua destilada)
- Presionamos el botón 2 (ON), encender el autoclave.
- Movemos el botón 3 a la derecha (full wáter)
- Observamos que el agua se llene hasta la señal al del cilindro.
- Luego movemos el botón 2 a (sterilize) y ponemos el material a esterilizar, cuidando que no sobrepase el nivel de la bandeja.
- Los envases a esterilizar deben entrar adecuadamente sin peligro de derrame.
- Cerramos la puerta del esterilizador y ajustamos moderadamente.
- El botón cuatro debe estar en 121 °C
- Luego ponemos el botón 5 en 30 min, tiempo en el cual se termina la esterilización.
- En la esterilización observamos el botón 6 en donde se observa la presión y temperatura adecuada.
- Transcurrido el tiempo de esterilización movemos el botón 3 hasta EXH dry y esperamos que la aguja blanca baje a 0, abrimos la puerta del esterilizador y apagamos.

Anexo G. Uso de la cámara de flujo.

1. Encender la cámara de flujo laminar
2. Colocar UV de la cámara por 5 min
3. Poner la opción de flujo de aire
4. Desinfectar el área de trabajo con alcohol.
5. Colocar dos mecheros encendidos, con el fin de mantener al máximo la asepsia del lugar de trabajo.

Anexo H. Lugar del muestreo.



Fotografía N°1 Hospital General Puyo.



Fotografía N°2 toma de muestras planta de tratamiento hospital General Puyo.



Fotografía N°3 toma de muestra en la entrada de la planta de tratamientos hospital el puyo

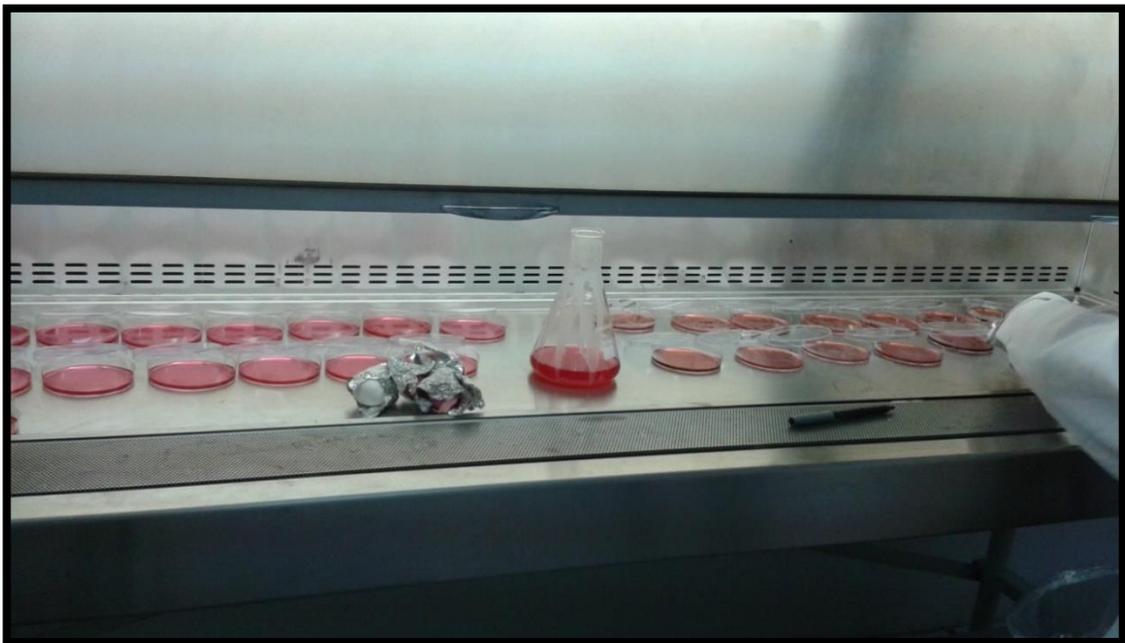


Fotografía N°3 Toma de la muestra a la salida de la planta de tratamientos hospital el Puyo

Anexo I. Preparación de material.

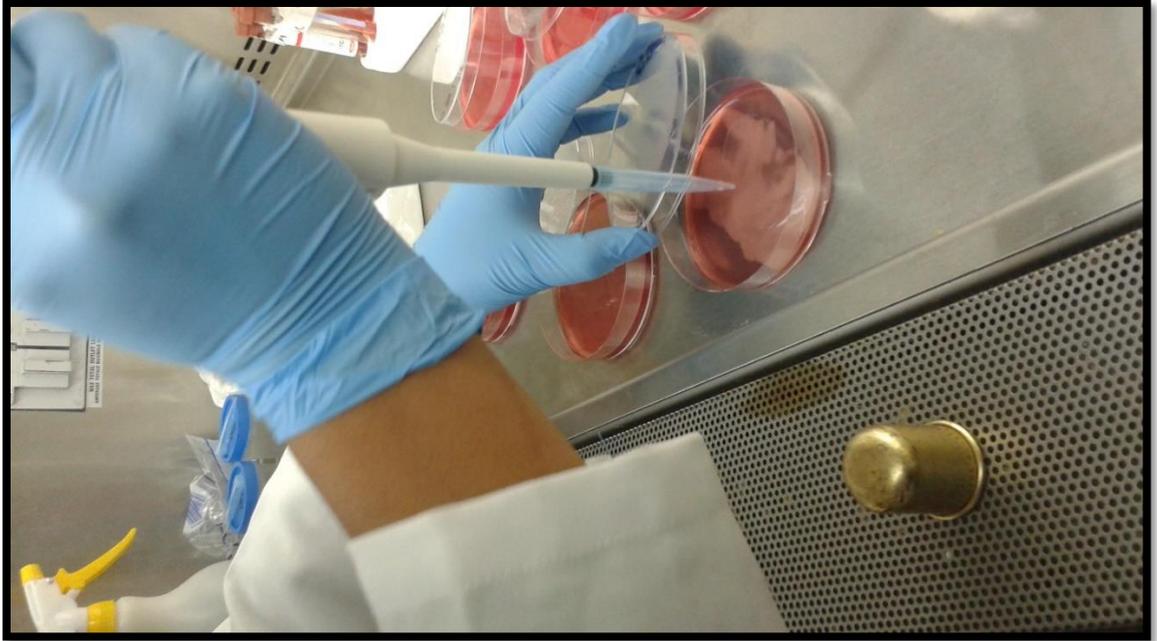


Fotografía N°4 Preparación y esterilización de medios de cultivo.

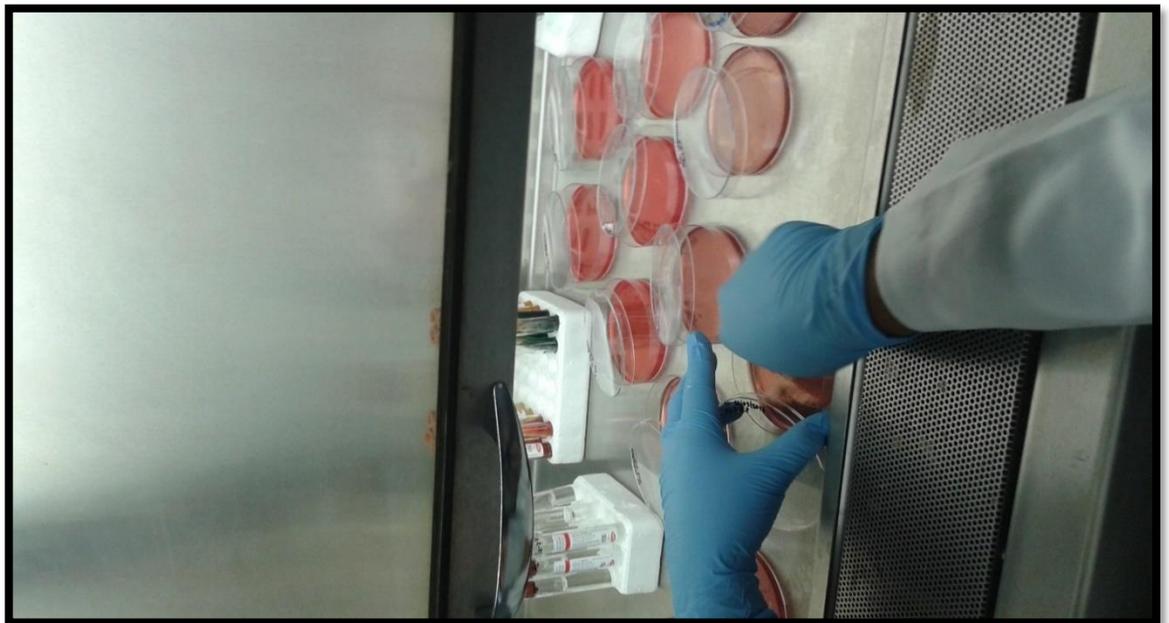


Fotografía N°5 Preparación de cajas Petri con agar.

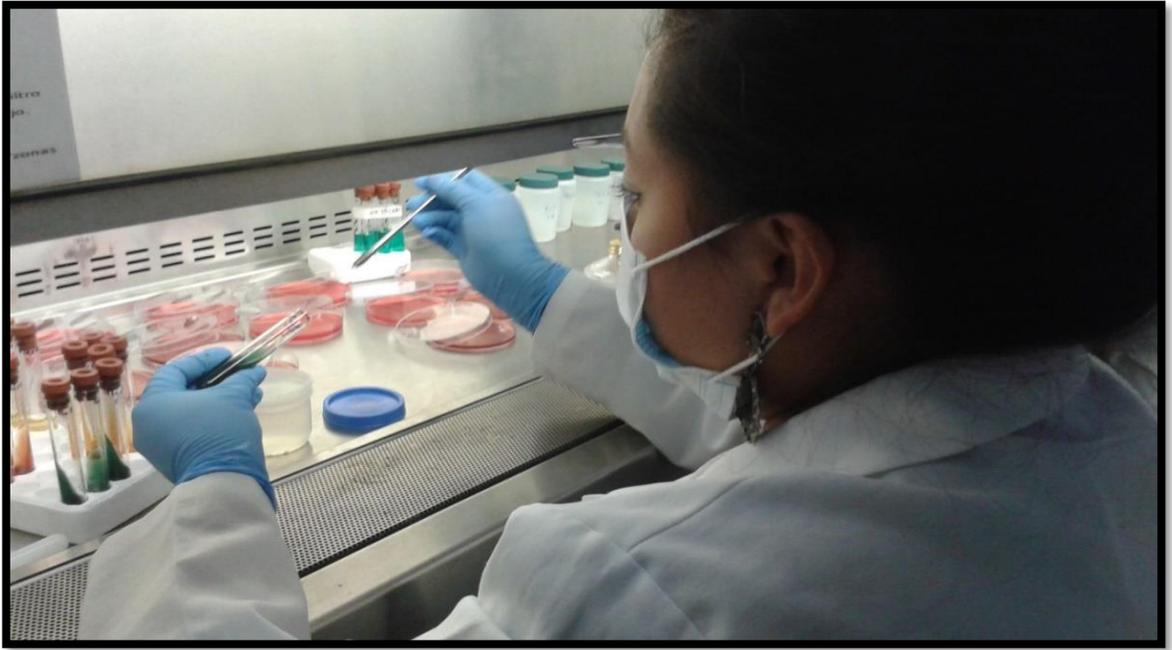
Anexo J. siembra



Fotografía N°6 Siembra de muestras de aguas residuales.

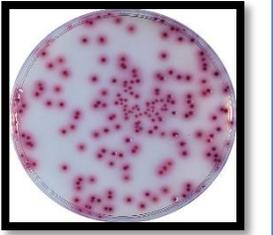


Fotografía N°7 Estriamiento de muestras de aguas residuales.



Fotografía N°8 Siembra en pico de flauta de muestras de aguas residuales.

Anexo K. Crecimiento de bacterias patógenas.

					
<p>Fotografía N°9 Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Fotografía N° 10 Crecimiento de <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p>Fotografía N° 11 Crecimiento de <i>Salmonella spp.</i></p>			

