

**Evaluación de la resistencia a Ceftriaxona, Amikacina y Oxacilina en
Escherichia coli presente en vertimientos de agua residual del Hospital de
Suba II Nivel E.S.E en Bogotá**

**DIANA KATHERINE BOLAÑOS GÓMEZ
LUIS SEBASTIÁN MORA GUZMÁN**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C.
2015**

**Evaluación de la resistencia a Ceftriaxona, Amikacina y Oxacilina en
Escherichia coli presente en vertimientos de agua residual del Hospital de
Suba II Nivel E.S.E en Bogotá**

**DIANA KATHERINE BOLAÑOS GÓMEZ
LUIS SEBASTIÁN MORA GUZMÁN**

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Ambiental

**Director
JOHAN ALEXANDER ÁLVAREZ BERRÍO
Ingeniero Ambiental y Sanitario**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C.
2015**

Nota de aceptación

Firma Director de Tesis

Firma del jurado

Firma del jurado

Dedicatoria

Se la dedico a mis padres quienes me han acompañado para poder llegar a esta instancia de mis estudios, con su amor y enseñanza han sembrado las virtudes que se necesitan para vivir con anhelo y felicidad.

A mis tía Mary, a quien quiero como una madre, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuesta a escucharme y ayudarme en cualquier momento. A mi tío Jairo por ser un gran ejemplo a seguir, por confiar en mí y brindarme su apoyo.

A Jose Luis y Maria, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

A Sebastián por ser mi impulso durante toda mi carrera y el pilar principal para la culminación de la misma, con su apoyo constante, amor incondicional ha sido amigo y compañero inseparable.

Diana

Dedicatoria

A mis padres, Jose Luis y Maria Liria; mi hermana, Daniela, por haberme apoyado a lo largo de mi estudio, por su comprensión, esfuerzo y apoyo incondicional; porque si no fuera por ustedes no hubiera sido posible este triunfo.

A mi papa Alejandro y mi mama Melia por todo el amor que me han brindado, por sus buenas enseñanzas y valores que me permitieron formarme como un excelente profesional.

A mi mascota Anni, por toda la compañía que me has hecho y por ser tan incondicional en tu amor hacia todos.

A mi primo David que aunque ya no estes con nosotros, siempre te llevaré en mi corazón y tendré los mejores recuerdos de ti.

A Diana quién me ha acompañado durante mis estudios y por medio de su comprensión, paciencia y amor, me ha dado ánimos de fuerza y valor para seguir adelante.

Sebastián

Agradecimientos

Le agradecemos a Dios por habernos acompañado y guiado a lo largo de la carrera, por brindarnos una vida llena de aprendizaje y felicidad.

Le damos gracias a nuestros padres por apoyarnos en todo momento, por los valores que nos inculcaron y por habernos dado la oportunidad de una excelente educación en el transcurso de nuestras vidas.

A nuestros maestros y amigos, quienes sin su ayuda nunca hubiéramos podido hacer esta tesis. A todos ellos se lo agradecemos desde el fondo de nuestra alma.

A nuestro director de tesis, Ing. Johan Alvarez por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su paciencia y su motivación ha logrado en nosotros que podamos culminar nuestros estudios con éxito.

Le agradecemos el apoyo y tiempo al docente Rafael Barragán por haber compartido su sabiduría, experiencia y por habernos inculcado su confianza para la realización de este proyecto.

Un sincero agradecimiento a la Ing. Angelica Bernal por habernos brindado la oportunidad de desarrollar nuestra tesis profesional en el Hospital de Suba y por todo el apoyo y facilidades que nos fueron otorgadas.

Resumen

Los residuos farmacéuticos son transportados al ciclo del agua por diferentes rutas, entre ellas, las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), que actúan como una puerta de entrada de estos productos a los cuerpos de agua, porque la mayoría de estos compuestos no son realmente retenidos en sus procesos [1]. Según Vishal Diwan (2010), a través de estos residuos, la presencia de antibióticos se ha incrementado en los ecosistemas acuáticos, lo cual supone que existe un impacto importante en el desarrollo de resistencia, toxicidad en comunidades acuáticas y por lo tanto en la salud pública [2].

Se realizó una evaluación de la presencia de resistencia bacteriana en el agua residual del Hospital de Suba aplicando dos métodos diferentes: el método de difusión de Kirby – Bauer y el método de dilución en dos muestras de agua residual antes de la PTAR (AP) y dos después de la PTAR (DP); utilizando tres antibióticos diferentes: Amikacina (AMK), Ceftriaxona (CEF) y Oxacilina (OXA).

De acuerdo a los resultados obtenidos se determinó que la *E. coli* presenta una resistencia múltiple a los antibióticos estudiados. Adicionalmente se generó una mayor resistencia DP ya que los halos de inhibición fueron de menor tamaño.

Teniendo en cuenta los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), en el caso de la AMK se obtuvo una CMI de 250 µg/ml AP y DP; por el contrario para la CEF para DP las bacterias aisladas aumentaron en un orden de magnitud de 33 µg/ml pasando a 333 µg/ml. Un resultado similar se presentó en la OXA para AP con una CMI de 3330 µg/ml y DP con 33300 µg/ml.

Palabras claves: PTAR, resistencia bacteriana, antibióticos, CMI, halo de inhibición, *Escherichia coli*.

Abstract

Pharmaceutical waste is transported to the water cycle by different routes, including wastewater treatment plant (WWTP), which act as a gateway for these products to bodies of water, because most of these compounds are not really held in their processes [1]. According to Vishal Diwan (2010), among these wastes, the presence of antibiotics has increased in aquatic ecosystems, implying that there is a significant impact on the development of resistance, toxicity in aquatic communities and therefore health public [2].

An assessment of the presence of bacterial resistance in the waste water of Suba's Hospital was carried out using two different methods: diffusion method of Kirby - Bauer and dilution method in two samples of wastewater before the WWTP (AP) and two after the WWTP (DP); using three different antibiotics Amikacin (AMK), Ceftriaxone (CEF) and Oxacillin (OXA).

According to the results it was determined that *E. coli* shows resistance to multiple antibiotics studied. Additionally it generated a greater resistance at DP because the inhibition zones were smaller.

Considering the results of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), in the case of the AMK was obtained a MIC of 250 µg/ml to AP and DP; in contrast to the CEF for DP the isolated bacteria increased by order of magnitude 33 µg/ml to 333 µg/ml. A similar result was presented at the OXA to AP with a MIC of 3330 µg/ml and DP with 33300 µg/ml.

Keywords: WWTP, bacterial resistance, antibiotics, MIC, inhibition halo, *Escherichia coli*.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	7
Abstract.....	8
Lista de gráficos.....	11
Lista de tablas	12
Lista de imágenes	13
Lista de abreviaturas	14
Introducción.....	15
1 Marco de referencia.....	16
1.1 Marco conceptual	16
1.2 Antecedentes	18
1.2.1 Primeras evidencias de resistencia.....	18
1.2.2 <i>Escherichia coli</i> y su resistencia	18
1.2.3 Presencia de <i>E. coli</i> resistente a antibióticos en vertimientos de agua residual.....	19
1.3 Marco contextual	20
1.3.1 Ubicación	20
1.3.2 Sistema de tratamiento de aguas residuales industriales	20
1.4 Marco teórico	24
1.4.1 Resistencia bacteriana.....	24
1.4.2 Tipos de resistencia bacteriana	24
1.4.3 Transferencia de la resistencia	25
1.4.4 Mecanismos de resistencia.....	25
1.4.5 Antibióticos en el ambiente	25
1.4.6 Ceftriaxona	26
1.4.7 Oxacilina	26
1.4.8 Amikacina	27
1.4.9 Consumo de antibióticos.....	28
1.5 Marco legal	29
2 Objetivos	30
2.1 Objetivo general	30
2.2 Objetivos específicos.....	30
3 Metodología	31
3.1 Revisión y análisis de la información secundaria existente.....	31
3.2 Toma de muestras.....	31
3.3 Presencia bacteriana.....	33
3.4 Dilución seriada.....	34
3.5 Aislamiento de <i>E. coli</i>.....	34
3.6 Suspensión del inóculo	37
3.7 Preparación de antibióticos y concentraciones	38
3.8 Método de difusión de discos según Kirby-Bauer	40
3.8.1 Diseño experimental	40

3.8.2	Desarrollo del método.....	42
3.9	Método de dilución.....	43
3.9.1	Diseño Experimental.....	43
3.9.2	Desarrollo del método.....	44
3.10	Software BioNumerics	45
4	Resultados	46
4.1	Método de difusión de discos según Kirby-Bauer	46
4.2	Método de dilución.....	48
5	Análisis de resultados.....	50
5.1	Método de difusión.....	50
5.2	Método de dilución.....	52
6	Conclusiones	54
7	Recomendaciones	55
8	Bibliografía.....	56

Lista de gráficos

Gráfico 1-1 Origen y destino de las sustancias farmacéuticas en el ambiente	21
Gráfico 3-1 Dilución seriada carga bacteriana.....	34
Gráfico 3-2 Distribución en cajas de petri.....	35
Gráfico 3-3 Siembra por agotamiento	36
Gráfico 3-4 Diseño experimental método de difusión AP	41
Gráfico 3-5 Diseño experimental método de difusión de DP	41
Gráfico 3-6 Diseño experimental método de dilución de AP	44
Gráfico 3-7 Diseño experimental método de dilución de DP	44
Gráfico 5-1 Clasificación SIR de cada antibiótico.....	51

Lista de tablas

Tabla 3-1 Concentraciones de antibióticos	39
Tabla 4-1 Patrones estándar del halo de inhibición.....	46
Tabla 4-2 Resultados método de difusión muestra de agua AP.....	46
Tabla 4-3 Sensidiscos <i>E. coli</i> AP.....	47
Tabla 4-4 Resultados método de difusión muestras de agua DP.....	47
Tabla 4-5 Sensidiscos <i>E. coli</i> DP	47
Tabla 4-6 Perfil de Resistencia <i>E. coli</i> AP	48
Tabla 4-7 Perfil de Resistencia <i>E. coli</i> DP.....	48
Tabla 4-8 Método de dilución AP y DP.....	49
Tabla 4-9 CMI AP y DP	49
Tabla 5-1 Comparación turbidez AP y DP.....	52

Lista de imágenes

Fotografía 1-1 Tanque de ajuste de pH.....	22
Fotografía 1-2 Tanque floculador y sedimentador.....	23
Fotografía 1-3 Filtro de arena y carbón activado.....	23
Fotografía 3-1 Toma de muestras AP	31
Fotografía 3-2 Tanque de almacenamiento de agua residual	32
Fotografía 3-3 Toma de muestra DP	32
Fotografía 3-4 Caja de inspección y ducto de agua de salida de la PTAR.....	32
Fotografía 3-5 Transporte de muestras de agua desde Hospital de Suba	33
Fotografía 3-6 Fluorescencia muestra AP y DP	33
Fotografía 3-7 Dilución seriada con solución salina	34
Fotografía 3-8 Crecimiento bacteriano de muestra AP	36
Fotografía 3-9 Crecimiento bacteriano de muestra DP	36
Fotografía 3-10 Turbidez de McFarland	37
Fotografía 3-11 Suspensión del inóculo	38
Fotografía 3-12 Comparación visual de la densidad bacteriana.....	38
Fotografía 3-13 Presentación farmacéutica de antibióticos.....	39
Fotografía 3-14 Método de difusión AP para AMK	42
Fotografía 3-15 Método de difusión DP para AMK.....	43
Fotografía 3-16 Método de dilución AP para CEF.....	45
Fotografía 3-17 Método de dilución DP para CEF.....	45
Fotografía 5-1 Antibiotics susceptibility - BioNumerics.....	51

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Definición
AMK	Amikacina
AP	Antes de la planta de tratamiento de agua residual
BLEE	Beta-lactamasa de Espectro Extendido
CEF	Ceftriaxona
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DP	Después de la planta de tratamiento de agua residual
E.S.E	Entidad de Salud del Estado
gpm/pie ²	Galones por minuto por pie cuadrado
l/s	Litro por segundo
m ³ /hr	Metro cúbico por hora
□g/ml	Microgramo por mililitro
NCCLS	National Commitee for Clinical Laboratory Standards
OXA	Oxacilina
PBP	Proteína de unión a penicilina
PTAR	Planta de Tratamiento de Agua Residual
psi	Libra por pulgada cuadrada
SIR	Susceptible, intermedia, resistente

Introducción

La resistencia bacteriana es una problemática global de salud pública, ocurre tanto en países subdesarrollados como en países en vía de desarrollo y desarrollados, causando distintos impactos ya sea en términos de mortalidad o de costos. Por lo tanto, representa un peligro ya que las enfermedades que antes eran fáciles de tratar o controlar ahora son más complicadas, llegando a ser imposibles de combatir dependiendo del grado de resistencia que adquiera la bacteria. Por consiguiente, genera para las personas un mayor riesgo, debido a que fácilmente podrían contagiarse causando que las enfermedades no sean fáciles de prevenir [3].

Existen distintos factores que favorecen esta resistencia, por ejemplo el uso indiscriminado de los antibióticos, la generación de ambientes propicios para la supervivencia, la propagación de estas bacterias; teniendo como consecuencia que el humano entre en contacto con estos ambientes, lo que hace necesario el estudio y control de los mecanismos que favorecen la resistencia de las bacterias a la amikacina (aminoglucósido), ceftriaxona (cefalosporina de tercera generación) y oxacilina (penicilina).

Aunque algunos estudios de resistencia bacteriana en otros países indican que los niveles de fármacos en el medio no suponen un riesgo para la salud humana [2]. Sin embargo en Colombia el estudio del problema de la resistencia a los antimicrobianos por parte de los patógenos bacterianos hospitalarios se inició en la década de los años noventa, pero solamente hasta ésta década se han llevado estudios de forma continua. El fenómeno de la resistencia a nivel hospitalario depende en una gran proporción de las tasas locales de utilización de antimicrobianos y de las estrategias de control de infección [4].

Por lo tanto, el presente proyecto tiene como finalidad el estudio de un microorganismo que va ser sometido a diferentes concentraciones de antibióticos por un tiempo determinado. Se toma como fuente de estudio la *Escherichia coli* por ser una bacteria Gram-negativa que presenta una resistencia a los antibióticos gracias a su material genético. Así pues, este microorganismo se encuentra en el tracto digestivo de todos los humanos, ya que está relacionado con infecciones graves y producidas por contaminación del agua y de los alimentos; otra característica importante de la *Escherichia coli* es que puede ser vector de algunas enfermedades, porque tiene un origen específicamente fecal lo que ocasiona que siempre esté presente en grandes cantidades de agua residual.

Por último, es importante resaltar que la legislación colombiana no contempla dentro de sus actos administrativos la implementación de un tratamiento de agua residual de hospitales antes de ser vertida al efluente. De ser así, esto reduciría el aumento significativo de impactos relacionados por la presencia de residuos de antibióticos en los ecosistemas acuáticos y su alteración en el desarrollo de la resistencia y la afectación en la salud pública.

1 Marco de referencia

1.1 Marco conceptual

A continuación se mencionan las definiciones necesarias para la comprensión del presente proyecto:

Antibiótico: sustancia química producida por un ser vivo o derivada sintética de ella que a bajas concentraciones mata o impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles [3]

Aminoglucósidos: son una familia de antibióticos bactericidas, muy activos especialmente frente a enterobacterias y otros gérmenes gramnegativos aerobios. Poseen una acción bactericida rápida que se relaciona con la concentración que alcanzan. Actúan independientemente de la fase vital en que se encuentre la bacteria. Su actividad no se altera por la magnitud del inóculo bacteriano. Raramente los gérmenes adquieren resistencia durante el tratamiento. Se caracterizan por su estrecho margen terapéutico, lo que obliga a administrarlos bajo esquemas posológicos lo más exactos posible [4].

Bacteria: organismo unicelular, capaz de reproducirse a sí mismo. Existen distintos tipos de bacterias, clasificadas según sus propiedades de crecimiento (aeróbicas o anaeróbicas, etc.), su capacidad de teñirse con colorantes especiales (Gram positivas, Gram Negativas), según su forma (bacilos, cocos, espiroquetas, etc.), Algunas producen infecciones en el ser humano que pueden ser graves [3].

Bactericida (Antibiótico): producen la muerte de los microorganismos responsables del proceso infeccioso. Pertenecen a este grupo los antibióticos β -lactámicos, aminoglucósidos, rifampicina, vancomicina, polimixinas, fosfomicina, quinolonas y nitrofurantoínas [4].

Betalactamasa: las β -lactamasas son enzimas catalíticas que rompen el enlace amídico del anillo betalactámico haciendo que el antibiótico pierda su capacidad para unirse a las proteínas de unión a la penicilina y su acción bactericida [5].

Cefalosporina: en 1945, la *Cephalosporium acremonium* fue aislada por Giuseppe Brotzu en una muestra a la salida de aguas residuales y se encontró que era capaz de producir sustancias que inhibían el crecimiento tanto de bacterias gram-negativas como gram-positivas [6].

Cefalosporinas de 1ª generación: fueron aprobadas para su uso clínico desde 1973-75. Son las más activas frente a la mayoría de los cocos

grampositivos aerobios, incluyendo *S. aureus* meticilinosensible [7].

Cefalosporinas de 2ª generación: son utilizadas desde 1979, tienen menor actividad frente a *Staphylococcus* spp. meticilinosensible, pero son más activas frente a algunos gramnegativos. Su actividad frente a la mayoría de anaerobios es escasa [7].

Cefalosporinas de 3ª generación: se utilizan en la práctica médica desde 1980, siendo altamente activas contra gérmenes gramnegativos. Ceftizoxima, cefotaxime, ceftriaxona y cefoperazona son las cefalosporinas de 3ª generación con mayor actividad frente a *Staphylococcus aureus* meticilinosensible. *Streptococcus pyogenes* y *S. pneumoniae* de sensibilidad alta o intermedia son sensibles a los agentes de esta generación [7].

CLSI: de sus siglas en inglés: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI es una organización global sin fines de lucro, que desarrolla y promueve el uso voluntario de normas de consenso y directrices dentro de la comunidad de la salud. Emiten documentos que proporcionan valiosas herramientas que le permiten a los laboratorios cumplir con sus responsabilidades de cuidado de la salud con eficiencia, eficacia, y la aceptación mundial. Dentro de sus documentos, cuentan con una emisión anual del denominado: M-100 "Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana" en donde se brindan recomendaciones acerca de los puntos de corte que deben ser usados para cada antibiótico frente a cada grupo de microorganismos [3].

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI): se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en µg/mL) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C. La CMI se ha establecido como "*gold Standard*" frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado [8].

Enzima: son proteínas, polímeros formados por aminoácidos covalentemente unidos entre sí, que catalizan en los organismos una gran variedad de reacciones químicas. La actividad catalítica de las enzimas depende de que mantengan su plegamiento, es decir, su estructura tridimensional. En esta estructura tridimensional se forman cavidades, llamadas "sitio activo", las cuales muestran afinidad por las moléculas específicas (sustratos) que se convertirán en productos [9].

Inhibitorio ó Bacteriostático (Antibiótico): inhiben el crecimiento bacteriano, aunque el microorganismo permanece viable, de forma que, cuando se suspende el tratamiento, puede volver a recuperarse y multiplicarse [4].

Penicilina: La penicilina es un antibiótico y como tal, mata bacterias impidiendo que éstas continúen con su crecimiento. Es capaz de combatir efectivamente a muchas de las bacterias responsables de causar numerosas enfermedades, como ser los neumococos, los estreptococos, gonococos, meningococos, Clostridium Tetani y la espiroqueta. Actúa inhibiendo la síntesis de la pared de la célula bacteriana [11].

Penicilinasa-resistente: este grupo también denominado antiestafilocócicas no son hidrolizados por la penicilinasa estafilocócica e incluye los siguientes compuestos: meticilina, nafcilina, isoxazolil-penicilinas, oxacilina, dicloxacilina, cloxacilina, floxacilina [11].

Resistencia bacteriana: actividad creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico [3].

Sensidiscos: círculos de papel filtro de reducido diámetro impregnados con antibiótico, biostático u otro agente para ser probado en microorganismos y determinar su sensibilidad o resistencia de forma in vitro [3].

1.2 Antecedentes

1.2.1 Primeras evidencias de resistencia

Desde 1945, Fleming previó los riesgos potenciales ligados a la utilización de los antibióticos. Temía que su utilización a gran escala seleccionara bacterias resistentes. En su laboratorio, observó que bacterias sensibles a la penicilina al comienzo del experimento conseguían multiplicarse en presencia de concentraciones crecientes del antibiótico, de esta manera constató que las bacterias sensibles habían sido destruidas y las bacterias resistentes se habían multiplicado sin límite [13].

En los años 80, se demostró que los enterococos podían adquirir una resistencia a antibióticos como es el caso de los aminoglucósidos (entre los que se encuentra la Vancomicina, uno de los más potentes). Más tarde se detectaron resistencias a la ampicilina y la lista fue creciendo [10].

1.2.2 *Escherichia coli* y su resistencia

Escherichia coli es un bacilo gram negativo, de la microbiota fecal, no esporulado, que se presenta aislado o en pares, fabrica exopolisacáridos en algunas ocasiones que dan aspecto mucoso a la colonia [11].

Esta bacteria usa mecanismos de resistencia como: (i) producción de enzimas inactivadoras de antibióticos, por ejemplo las B-lactamasas. Estas se han caracterizado en detalle, sobre todo las B-lactamasas de espectro extendido

(BLEE) las cuales pueden hidrolizar las cefalosporinas de amplio espectro como las de tercera y cuarta generación. Otro mecanismo es (ii) la alteración de los sitios de acción del antibiótico, por ejemplo, proteínas de unión a la penicilina (PBP) alteradas y (iii) disminución de la concentración del antibiótico, ya sea por impermeabilidad o mecanismos de bombeo hacia el exterior [12].

1.2.3 Presencia de *E. coli* resistente a antibióticos en vertimientos de agua residual

Un elevado número de microorganismos fluyen en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, debido a esto y al contacto con antibióticos en este sistema pueden estar asociados a la aparición de resistencia a los antibióticos entre las cepas ambientales. Los resultados de la investigación de resistencia de las cepas de *E. coli* a los antibióticos utilizados popularmente en el tratamiento de humanos, han sido realizados por medio del aislamiento de cepas de *E. coli* de efluentes [16].

En hospitales de Polonia, se caracterizaron las tasas de resistencia más elevadas que las de las aguas residuales municipales y otras muestras. Casi todas (95,7%) las cepas identificadas de *E. coli* resultaron ser resistentes a la cefotaxima [13].

Por otro lado, un estudio en el hospital de Río de Janeiro (Brasil) demostró que un mayor porcentaje de las bacterias Gram-negativas de salida de la PTAR resistentes a cefalosporinas (entre el 48% y el 15%), fueron resistentes a la cefotaxima y ceftazidima, respectivamente. Este nivel de resistencia fue significativamente más bajo en la cefalosporina de cepas aisladas de las aguas residuales del hospital. Sin embargo esta disminución estuvo relacionada con una dilución significativa de estas aguas en los flujos de la lavandería y cocina [13].

Así mismo, se han realizado estudios sobre los residuos de antibióticos en efluentes de hospital y en otros nichos ambientales sobre todo en países de ingresos altos, mientras que los estudios en entornos de bajos y medianos ingresos son pocos. Existe un solo estudio en un Hospital Indio que ha estimado los residuos de antibióticos en sus efluentes, en el cual se logró cuantificar los niveles de residuos de antibióticos en el agua entrante y aguas residuales de un hospital en Ujjain, relacionado con cantidades de antibióticos recetados en el mismo y la susceptibilidad antibiótica de *Escherichia coli* encontrada en el efluente del hospital [2].

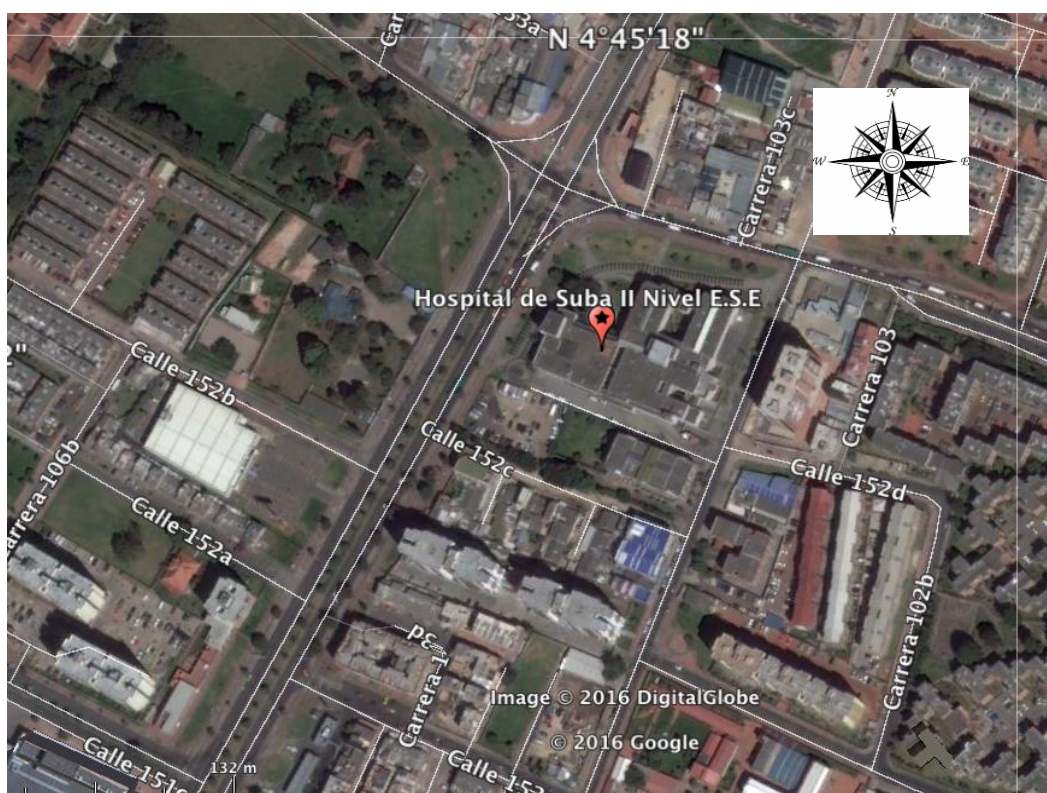
1.3 Marco contextual

1.3.1 Ubicación

El proyecto se realizó en la E.S.E Hospital de Suba II Nivel que está ubicado en la Avenida Ciudad de Cali N° 154^a-00 en la localidad de Suba, noroccidente de Bogotá como se ilustra en el Mapa 3-1.

Las aguas residuales son provenientes de los servicios médicos tales como: salas de cirugía, partos, patología, laboratorio clínico, odontología y demás servicios especiales.

Mapa 1-1 Ubicación de la E.S.E. Hospital de Suba II Nivel



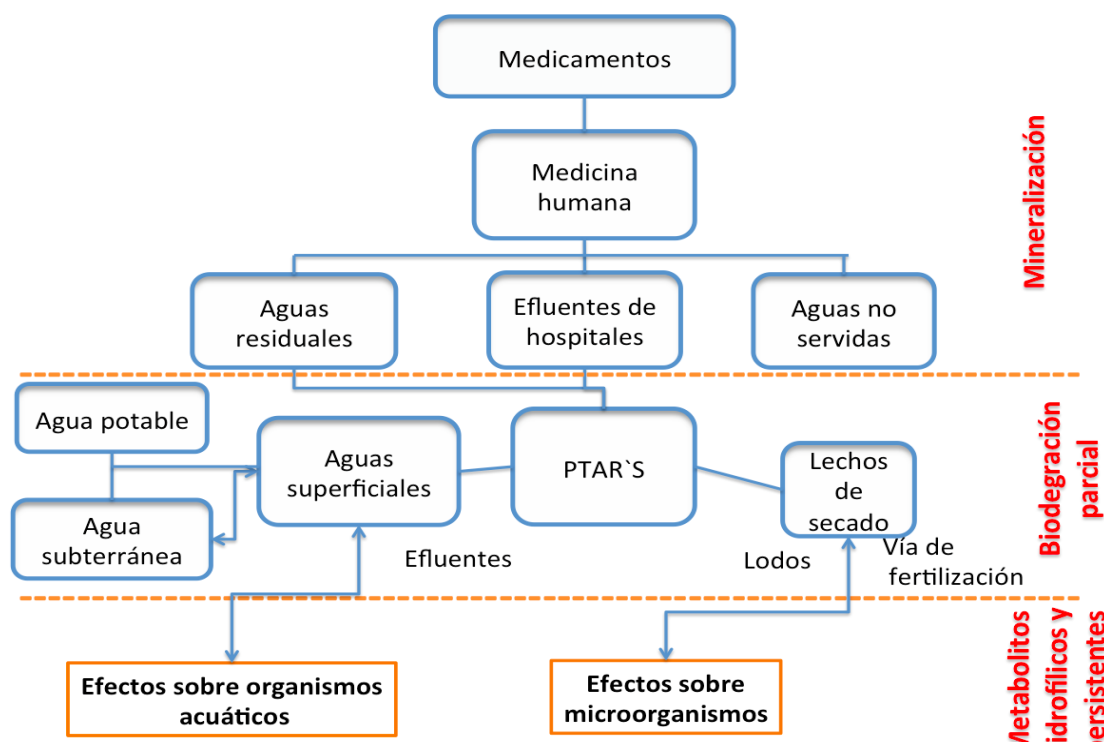
Fuente: [19]

1.3.2 Sistema de tratamiento de aguas residuales industriales

Los hospitales consumen grandes cantidades de agua en la prestación de sus servicios, este consumo de agua significativo genera volúmenes de aguas residuales considerables y de alta variabilidad de microorganismos, metales pesados productos químicos tóxicos, bacterias, virus con alguna resistencia antibiótica, tazas de medicamentos y elementos radiactivos que pueden generar riesgos o problemas irreversibles de contaminación al medio ambiente e incluso a

la salud humana [15], por lo tanto es importante conocer el origen y el destino de las sustancias farmacéuticas en el ambiente como se ilustra en el Gráfico 1-1.

Gráfico 1-1 Origen y destino de las sustancias farmacéuticas en el ambiente



Fuente: [16]

El tratamiento de aguas residuales de la E.S.E. cuenta con dos redes, una de aguas residuales domésticas, que recolecta las descargas de los servicios sanitarios, de alimentos y la vierte al alcantarillado sin ningún tratamiento. La otra recolecta las descargas provenientes de los servicios médicos: salas de cirugía, partos, patología, morgue, laboratorio clínico, odontología y demás servicios especiales.

La planta que trata las aguas residuales hospitalarias está en un salón de 8 metros de largo y 6 metros de ancho, ubicada en el sótano donde se encuentra también el parqueadero del hospital. La PTAR está diseñada para tratar un caudal de flujo continuo de 0,62 l/s (2,22m³/hr) a través de un tratamiento fisicoquímico [15].

A continuación se describen cada una de las unidades de tratamiento existentes, su funcionamiento y sus respectivas actividades de operación y mantenimiento [15].

- **Estructura de entrada:** esta estructura es de acero inoxidable. Ella recibe las aguas residuales del hospital por una tubería de PVC de cuatro pulgadas. El tiempo de retención de la estructura es de 10

segundos considerando el doble caudal de diseño. Se realiza un mantenimiento diario donde se retiran los residuos sólidos gruesos que se retienen en la canastilla, para disposición final como residuo peligroso.

- **Caja de aforo:** fabricada en fibra de vidrio en forma rectangular, de largo tiene 0.50m, ancho 0.25m, altura de 0.30m.
- **Trampa de grasas:** la unidad es un tanque rectangular en poliéster reforzado con fibra de vidrio con recubrimiento epóxico. El tiempo de retención estimado es de 5 minutos. La estructura cuenta con una caja lateral de recolección de grasas las cuales se depositan allí de forma hidráulica, dicha unidad cuenta con una válvula inferior para fácil retiro y deposición final en bolsas rojas como residuo peligroso.
- **Tanque de homogenización:** esta estructura es en poliéster reforzado con fibra de vidrio. El tiempo de retención es de 1 hora. Dicha estructura cuenta con una válvula inferior para mantenimiento una vez por mes, que implica evacuación de lodos y disposición final como residuo peligroso.
- **Tanque de ajuste de pH:** el tanque es cilíndrico, el volumen es de $0,63\text{m}^3$ con un diámetro de 0,64m y una altura total de 1,90m; como se ilustra en la Fotografía 1-1.

Fotografía 1-1 Tanque de ajuste de pH



Fuente: Los autores

- **Floculador:** en esta estructura se forman los flocs en mezcla lenta proporcionada por el accionamiento del agitador de paletas, para lograr la formación de flocs se adicionan los siguientes productos químicos: policloruro de aluminio como coagulante, y el polímero cyquim A-130 como ayudante de la floculación. El floculador y el sedimentador conforman una sola estructura como se ilustra en la Fotografía 1-2. El volumen del floculador es de $0,49\text{m}^3$ y funciona con tiempo de mezcla de 13 minutos para facilitar la formación adecuada de flocs.

- **Sedimentador:** el sedimentador es de alta tasa y de flujo ascendente, con una carga superficial de $80\text{m}^3/\text{m}^2\text{-día}$. Esta estructura cuenta con dos conos de recolección de flocs sedimentados, la recolección de agua clarificada se produce en la parte superior por medio de un tubo de 3" con orificios, el volumen de cada cono es de 0.068m^3 .

Fotografía 1-2 Tanque floculador y sedimentador



Fuente: Los autores

- **Filtro de arena:** el filtro es un tanque de acero al carbón de 0.60m de diámetro y 1 metro de altura, con lecho de filtración de $3,5\text{ gpm/pie}^2$. La tubería de descargar está ubicada en la parte superior del filtro; se ilustra en la Fotografía 1-3.
- **Filtro de carbón activado:** en esta estructura se remueven por absorción los tensoactivos y otras sustancias orgánicas disueltas como compuestos fenolicos y DQO, entre otros.

Fotografía 1-3 Filtro de arena y carbón activado



Fuente: Los autores

- **Tanque espesador de lodos y prensa de lodos:** se estima una producción de lodos $0.11\text{m}^3/\text{h}$ con una concentración de sólidos del 5%. En este tanque se aplica soda caustica y polímero Cyquim Superfloc A-130 para la estabilización y adecuación de los lodos, la mezcla se produce con un agitador de paletas para alcanzar un pH de 9. Una vez estabilizado y condicionado, el lodo desciende a la parte cónica. De esta sección el lodo se envía al filtro de prensa con bomba de funcionamiento neumático y control por contrapresión a 30 psi.

La bomba se encuentra a la salida del espesador, donde una válvula se encarga de regular el llenado de su cavidad y con el accionamiento de una válvula de bola se suministra el aire para su funcionamiento.

- **Tanque eyector:** este se encarga de almacenar y bombear el agua clarificada del espesador, filtro prensa y el posible rebose del tanque de bombeo o filtros hacia el tanque de homogenización.
- **Compresor:** este equipo suministra el aire para la mezcla en el tanque de homogenización, en el tanque de pH, en el tanque de bombeo a filtros, neutralización y para el acondicionamiento de la bomba neumática.
- **Tablero de control:** el tablero de control se utiliza para el correcto funcionamiento de la planta y puede ser operado automática o manualmente por el encargado.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Resistencia bacteriana

Las bacterias resistentes son aquellas que presentan una CIM mayor a la establecida como punto de corte para el microorganismo y el antibiótico a evaluar, propuesto por el CLSI de los Estados Unidos para el año 2009 [17].

1.4.2 Tipos de resistencia bacteriana

- **Natural o intrínseca:** es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos por parte de los humanos, como lo demuestra el aislamiento de bacterias resistentes a los antimicrobianos de una edad estimada de 2000 años, encontradas en las profundidades de los glaciares de las regiones árticas de Canadá [21].

En el caso de la resistencia natural todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir si se emplea ese antibiótico [21].

- **Adquirida:** se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y mediante la transmisión de material genético extra

cromosómico procedente de otras bacterias. Constituye un problema en la clínica, se detecta mediante pruebas de sensibilidad [21].

1.4.3 Transferencia de la resistencia

La transferencia de la resistencia se presenta en dos formas, transferencia vertical y transferencia horizontal. En el primer caso, la resistencia se transmite de generación en generación y aparece en el tipo de resistencia natural o intrínseca.

En el segundo, la transferencia de genes se realiza a través de plásmidos u otro material genético movable como integrones y transposones; estos últimos no solo permiten la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma una bacteria puede adquirir resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos [19].

1.4.4 Mecanismos de resistencia

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato genético e intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. De esta manera puede observarse la resistencia desde el ambiente biológico y el bioquímico.

Existen otras denominaciones de resistencia como son [20]:

- Resistencia relativa o intermedia: ocurre un incremento gradual de la CMI a través del tiempo. Para obtener un efecto terapéutico al utilizar los antibióticos es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados. La susceptibilidad o resistencia del germen es en este caso dependiente de la concentración.
- Resistencia absoluta: sucede un incremento súbito en la CMI de un cultivo durante o después de la terapia. Es inefectivo el incremento de la dosis clínica usual.
- Pseudoresistencia: ocurre una resistencia in vitro pero una gran efectividad in vivo.

1.4.5 Antibióticos en el ambiente

Aunque los antibióticos se han aplicado en grandes cantidades durante algunas décadas, desde hace poco tiempo se le ha prestado atención a la existencia de estas sustancias en el medio ambiente. Los estudios realizados en varios países han encontrado una serie de antibióticos en la gama de los microgramos por litro o nanogramos por litro que varían de acuerdo al compartimento ambiental, es decir, el efluente del hospital, las aguas residuales municipales, efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, las aguas superficiales y en algunos casos las capas freáticas.

Los compuestos detectados son de diferentes clases de antibióticos importantes tales como macrólidos, tetraciclinas, sulfonamidas y quinolonas. Los B-lactámicos

no se han detectado todavía a pesar de que se utilizan en las cantidades más altas. Obviamente, la mayoría de los antibióticos no se eliminan por completo durante el proceso de tratamiento de aguas residuales [24].

La concentración de los antibióticos puede ser mucho mayor si los compuestos activos son persistentes y se acumulan, por ejemplo, por adsorción a las superficies sólidas en ciertos compartimentos ambientales como los lodos de depuradora, sedimentos o suelo. En estos casos, el papel de la concentración de antimicrobianos podría ser diferente a la del agua. No se sabe en qué magnitud los antibióticos son absorbidos y en qué circunstancias están disponibles y activos después de la absorción [21].

1.4.6 Ceftriaxona

Es un antibiótico derivado de la cefalosporina de tercera generación, bactericida, de acción prolongada para uso parenteral, y que posee un amplio espectro de actividad contra organismos gram positivos y gram negativos como: *S. pneumoniae*, *S. betahaemolyticus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, entre otros [22].

▪ Farmacocinética y Farmacodinamia:

La CEF inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana en forma similar a como lo hace la penicilina y sus derivados.

Se absorbe 100% después de su administración intramuscular; cuando se aplica por vía intravenosa alcanza su concentración máxima en 30 minutos; por vía intramuscular en 3 horas.

Se une entre 83 a 96% a proteínas plasmáticas y, en niños en 50%, o puede distribuirse a nivel del tejido bronquial inflamado, líquido cefalorraquídeo, hígado, pulmones, oído medio, placenta, cordón umbilical, líquido amniótico, líquido pleural, próstata.

Por otro lado, CEF se metaboliza, aparentemente, a nivel intestinal (y después se excreta); sin embargo, al parecer se metaboliza en cantidades mínimas, por lo que el medicamento restante entre 33% a 67% se excreta sin cambios en la orina.

La vida media de eliminación es de 5.8 - 8.7 horas; en recién nacidos y niños es entre 4 - 6.5 horas, en estos últimos puede durar en el oído medio hasta 25 horas [23].

1.4.7 Oxacilina

Es un antibiótico antibacteriano sistémico y una penicilinas-resistente perteneciente al grupo de las penicilinas semisintéticas (subgrupo isoxazolil penicilina). Este grupo de penicilinas es activo frente a estafilococos penicilino-sensibles y penicilina-resistentes, y también frente a *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae* [24].

Su mecanismo de acción está basado en la inhibición de la síntesis de peptidoglicano de la pared bacteriana. Esta inhibición depende de la habilidad de

la penicilina para llegar y ligarse a las proteínas ligadoras de penicilina, localizadas en la membrana interna de la pared bacteriana [25].

Este antibiótico está indicado para el tratamiento de infecciones por microorganismos susceptibles como: infecciones osteo-articulares: artritis-osteomielitis. Infecciones del tracto respiratorio: bronquitis. Neumonías. Sepsis por estafilococos. Endocarditis-pericarditis. Infecciones de piel y tejidos blandos: celulitis; abscesos; erisipela; forúnculos; impétigo; síndrome de la piel escaldada estafilocócica. Otorrinolaringológicas: sinusitis. Intraabdominales: absceso esplénico. Sistema nervioso central: meningitis. Abscesos cerebrales. Infecciones gineco-obstétricas [24].

▪ **Farmacocinética**

Después de una dosis oral de 500 mg, el pico máximo de concentración es 5 a 7 µg/mL. Vida media: función renal normal de 0,5-1 hora. Disfunción renal: 1-3 h. Neonatos: 1,2-1,6 h. Unión a proteínas es elevada, cerca de 94%. Difunde rápidamente a la mayoría de los tejidos y fluidos corporales, se incluyen los riñones, pulmones, corazón, piel, líquido sinovial, intestinos, bilis, líquido peritoneal, secreciones bronquiales. Metabolismo hepático, 49%. Excreción renal, 40% [25].

1.4.8 Amikacina

Es un antibiótico semisintético del grupo de los aminoglucósidos, derivado de la Kanamicina, de acción bactericida. Está indicada en el tratamiento de corta duración de las infecciones bacterianas, simples o mixtas, causadas por cepas sensibles de los microorganismos antes citados, tales como: Septicemia (incluyendo sepsis neonatal), Infecciones severas del tracto respiratorio. Infecciones del sistema nervioso central (meningitis). Infecciones intra-abdominales, incluyendo peritonitis. Infecciones de la piel, huesos, tejidos blandos y en quemaduras. Infecciones complicadas y recidivantes del aparato urinario, cuyo tratamiento no sea posible con otros antibióticos de menor toxicidad [26].

▪ **Farmacocinética y farmacodinamia**

El sulfato de AMK se absorbe rápidamente después de la administración intramuscular. En voluntarios sanos adultos, las máximas concentraciones séricas promedio de cerca de 12, 16 y 21 µg/ml, se obtienen una hora después de la administración intramuscular de 250 mg (3.7 mg/kg); 375 mg (5 mg/kg); 500 mg (7.5 mg/kg) en una sola dosis, respectivamente. Después de 10 horas, los niveles séricos son de 0.3 µg/ml, 1.2 µg/ml y 2.1 µg/ml, respectivamente. No existe evidencia de acumulación del medicamento con dosificaciones repetidas por 10 días, cuando se administra de acuerdo con las dosis recomendadas.

En una función renal normal, cerca de 91.9% de una dosis intramuscular se excreta sin cambios en la orina durante las primeras 8 horas; y 98.2% a las 24 horas. Las concentraciones urinarias promedio a las 6 horas son de 563 µg/ml

después de una dosis de 250 mg; 697 µg/ml luego de una dosis de 375 mg, y 823 µg/ml después de una dosis de 500 mg [26].

Por otro lado en la administración intravenosa la dosis única de 500 mg (7.5 mg/kg), administrada a adultos por infusión intravenosa en un periodo de 30 minutos, produce una concentración sérica pico promedio de 38 µg/ml al final de la infusión, y niveles de 24 µg/ml, 18 µg/ml y 0.75 µg/ml a los 30 min, 1 hora y 10 horas después de la infusión, respectivamente. El 84% de la dosis administrada se excretó en la orina en 9 horas y cerca del 94% de la dosis a las 24 horas. Las infusiones repetidas de 7.5 mg/kg cada 12 horas en adultos normales fueron bien toleradas y no causaron acumulación del medicamento [26].

1.4.9 Consumo de antibióticos

El consumo de los antibióticos constituye un factor importante en la emergencia de resistencias a los mismos, y por ello cada uno de los antibióticos ha sido considerado tradicionalmente como los compuestos producidos de forma natural por microorganismos o derivados semisintéticos de los mismos, con actividad inhibitoria o bactericida específica frente a las bacterias. En la actualidad, se utiliza con frecuencia el término antibiótico en un sentido más amplio, incluyendo también a algunos antimicrobianos sintéticos con esta actividad [30].

El uso de los antibióticos es requerido para el tratamiento, control y prevención de las enfermedades infecciosas de humanos y animales. Estos compuestos se emplean con estos fines principalmente en medicina humana y en veterinaria, aunque se utilizan también, en menor medida, en agricultura. Durante mucho tiempo (desde la década de 1950), los antibióticos también se han empleado como promotores del crecimiento de animales (especialmente para el engorde de aves y de cerdos), aunque este uso está totalmente prohibido desde 2006 en toda la Unión Europea (UE); sin embargo, aún se utilizan con este fin en países de otros continentes [30].

En Latinoamérica, el volumen de literatura respecto a la vigilancia del consumo de antibióticos es escaso. La mayoría de información disponible proviene de estudios comunitarios, uno de ellos en ocho países donde se encontró que el consumo promedio de antibióticos aumentó casi 10 por ciento entre 1997 y 2007. En este estudio se observó que para 2007 los países con mayores consumos fueron Argentina con 16,6 DDD por 1000 habitantes, seguida de Venezuela (15,9), Perú (13,5), México (13,3) y Chile (12,5). Los consumos más bajos estuvieron en Brasil (7,0), Colombia (8,1) y Uruguay (8,9) [31].

En Colombia, son pocos los estudios que evalúan el impacto del uso de antibióticos en los hospitales; lo mismo sucede con las estrategias para su control, y no hay información publicada sobre el impacto de dichas medidas con respecto a la resistencia antimicrobiana [30]. Sin embargo, se ha demostrado en nuestro medio que las intervenciones basadas en el conocimiento de la utilización de

antibióticos pueden disminuir las prescripciones inapropiadas y por lo tanto reducir los costos e impactos ambientales que se generan por su mal uso [31].

1.5 Marco legal

A nivel nacional, se han generado una serie de estrategias para atender a la problemática de la resistencia bacteriana, de acuerdo a los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud. La mayor experiencia la tiene la Secretaría Distrital de Salud (SDS) de Bogotá, quienes generaron una política de prevención, vigilancia epidemiológica y control de infecciones intrahospitalarias, adoptada mediante la Resolución 073 de 2008, y cuya tercera línea de acción se denomina uso prudente de antibióticos a partir de la vigilancia de la resistencia antimicrobiana [31].

Por otro lado las Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud, deberían implementar procesos de sensibilización dirigidos a los usuarios, además del establecimiento de programas de uso prudente de antibióticos a nivel institucional con objetivos, estrategias, entrenamiento de los profesionales de la salud e indicadores de evaluación [31].

Ante la preocupación del uso inadecuado de los antibióticos a nivel comunitario se expidió la Resolución 234 de mayo de 2005, mediante la cual se reitera la prohibición de la venta de antibióticos sin fórmula médica contemplada en el Decreto 677 de 1995, y se elaboró un documento guía denominado “Uso prudente de antibióticos en instituciones prestadoras de servicios de salud” que brinda lineamientos para la implementación de programas de uso prudente de antibióticos en instituciones de salud de Bogotá [31].

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar la resistencia bacteriana de la *Escherichia coli* a antibióticos presente en vertimientos de agua residual del Hospital de Suba II Nivel E.S.E en Bogotá.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia de *E. coli* en vertimientos de agua residual proveniente de los servicios hospitalarios mediante el aislamiento de la bacteria implementando siembra por agotamiento y obteniendo un cultivo puro.
- Identificar el perfil de resistencia de la *Escherichia coli* en vertimientos de agua residual frente a los antibióticos de uso común en el Hospital de Suba II Nivel E.S.E.
- Establecer las implicaciones en el medio ambiente y salud que genera la presencia de *Escherichia coli* genéticamente resistente en vertimientos de agua residual hospitalarios.

3 Metodología

Para la evaluación de la presencia de resistencia bacteriana en el agua residual del Hospital de Suba se practicaron dos métodos diferentes, el método de difusión de Kirby – Bauer y el método de dilución; se realizaron las siguientes etapas para el desarrollo de la presente metodología

3.1 Revisión y análisis de la información secundaria existente

En el desarrollo del estudio se tiene como primera etapa la recopilación de la información preliminar constituida por técnicas, estudios y métodos realizados para el análisis de la resistencia bacteriana a través de la historia.

3.2 Toma de muestras

Al tomar las muestras de agua se utilizaron elementos de protección personal como guantes, tapabocas, overol y botas, por tratarse de un vertimiento hospitalario su composición es altamente contaminante. La muestra fue tomada en la parte superior del tanque de almacenamiento de agua residual, como se ilustra en la Fotografía 3-1.

Fotografía 3-1 Toma de muestras AP



Fuente: Los autores

Se tomaron cuatro muestras simples de agua residual el primero de septiembre del 2015 en las horas de la mañana, para la toma de muestra inicialmente los frascos fueron purgados con agua residual antes y después de pasar por la planta de tratamiento, primero se tomo la muestra AP para lo cual se llenó directamente del ducto de salida al tanque de almacenamiento como se ilustra en la Fotografía 3-2.

Fotografía 3-2 Tanque de almacenamiento de agua residual



Fuente: Los autores

Para las muestras DP se cuenta con una caja de inspección como se ilustra en las Fotografías 3-3 y 3-4, se tomo la muestra de la caída del vertimiento de agua utilizando dos frascos, cada uno con un volumen de 100 ml.

Fotografía 3-3 Toma de muestra DP



Fuente: Los autores

Fotografía 3-4 Caja de inspección y ducto de agua de salida de la PTAR



Fuente: Los autores

Las muestras de agua fueron transportadas en una nevera como se ilustra en la Fotografía 3-5 a una temperatura de 4°C por una hora, que fue el tiempo

empleado en llegar al laboratorio de la Universidad Santo Tomas de la sede central.

Fotografía 3-5 Transporte de muestras de agua desde Hospital de Suba



Fuente: Los autores

3.3 Presencia bacteriana

Inicialmente se determinó que en las muestras de agua este presente la *E. coli* para lo cual se usó el medio de cultivo LSB+MUG (Lauryl Sulfate Broth + 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide) REF. 298076 de Becton, Dickinson and Company, ya que este es selectivo y solo permite el crecimiento de coliformes. Se utilizaron 100 ml de agua residual, se le agregaron 3,57 gr de medio de cultivo y se mantuvo por 24 horas a una temperatura constante de 37°C, pasado este tiempo se verificó la fluorescencia por medio de la luz ultravioleta que permitió precisar la presencia de bacterias, como se ilustra en la Fotografía 3-6.

Fotografía 3-6 Fluorescencia muestra AP y DP

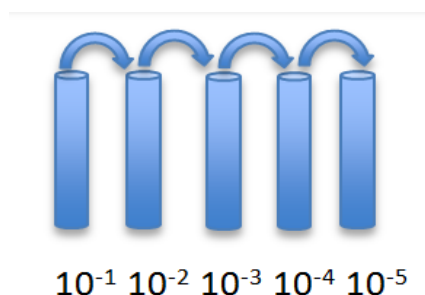


Fuente: Los autores

3.4 Dilución seriada

La carga bacteriana en las muestras de agua residual es alta, por lo tanto es necesario realizar una dilución seriada con el fin de obtener una menor cantidad de bacterias facilitando el aislamiento. Cada tubo fue rotulado con su correspondiente número de dilución, tal como se ilustra en el Gráfico 3-1; para lo cual se utilizaron cinco tubos de nueve mililitros de solución salina al 0,85%. Al primer tubo se le agregó un mililitro de agua residual, se agitó y se tomó un mililitro que fue agregado al segundo tubo, luego del segundo tubo se agregó al tercero y así sucesivamente con el fin de reducir la carga bacteriana, el mismo procedimiento se realizó en las dos muestras de agua. Como se ilustra en la Fotografía 3-7:

Gráfico 3-1 Dilución seriada carga bacteriana



Fuente: Los autores

Fotografía 3-7 Dilución seriada con solución salina



Fuente: Los autores

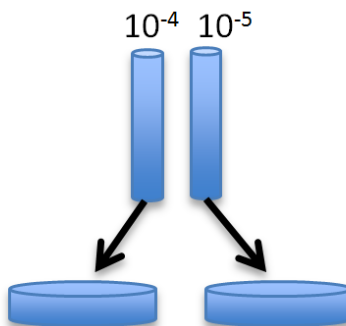
3.5 Aislamiento de *E. coli*

El aislamiento de *E. coli* se realizó en el medio de cultivo E.M.B. (Eosin Methylene Blue) REF. CM0069 de OXOID, se prepararon tres cajas de petri para cada muestra, se utilizó un volumen de 120 ml de agua destilada y 4,5 gr de medio de cultivo. El medio se puso a calentar con una agitación frecuente hasta obtener una

disolución completa del agar y luego se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos, por último se distribuyó en placas de petri estériles.

Partiendo de los dos últimos tubos 10^{-4} y 10^{-5} obtenidos en la dilución seriada, se tomó 0,1 ml y se esparció con el asa de Drigalsky en las cajas de petri las cuales contienen el cultivo de E.M.B. como se ilustra en el Gráfico 3-2, a continuación son medidas en la incubadora a una temperatura constante de 37°C por 24 horas.

Gráfico 3-2 Distribución en cajas de petri

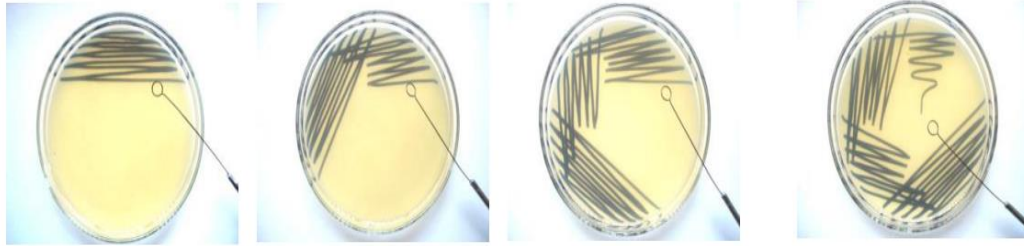


Fuente: Los autores

Transcurrido el tiempo de incubación, se tomó la caja donde estaban las colonias más aisladas, con el fin de obtener un cultivo puro. Para las muestras de agua AP y DP se utilizó la caja que contenía la dilución 10^{-5} , con estas se realizó la siembra por agotamiento, la cual consiste en diluir la muestra de tal manera que al final se obtenga colonias separadas para poder iniciar el estudio de identificación y sensibilidad a los antimicrobianos. Por lo tanto, se efectuaron los siguientes pasos (Gráfico 3-3) [29]:

1. Obtener la muestra con asa y suspenderla en un extremo de la placa de agar, haciendo estrías (líneas) de un extremo a otro (primer cuadrante).
2. Flamear el asa, enfriar en el extremo e iniciar estrías desde el cuadrante primero y extenderlas hasta el cuadrante dos.
3. Flamear el asa, enfriar en el extremo e iniciar estrías desde el cuadrante dos y extenderlas hasta el cuadrante tres.
4. Flamear el asa, enfriar en el extremo e iniciar estrías desde el cuadrante tres y extenderlas hasta el cuadrante cuatro.

Gráfico 3-3 Siembra por agotamiento



Fuente: [29]

Las cajas de petri fueron incubadas por 24 horas a 37°C, obteniendo colonias de *E. coli* como se ilustra en las Fotografías 3-8 y 3-9, las cuales se caracterizan por presentar un brillo metálico. Adicionalmente se realizó la tinción de Gram para confirmar por medio del microscopio que la morfología de las bacterias encontradas correspondían a *E. coli*.

Fotografía 3-8 Crecimiento bacteriano de muestra AP



Fuente: Los autores

Fotografía 3-9 Crecimiento bacteriano de muestra DP

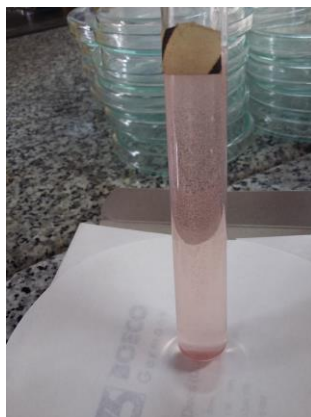


Fuente: Los autores

3.6 Suspensión del inóculo

Para realizar la suspensión del inóculo se utilizó la turbidez de McFarland, esta permite la comparación visual de la densidad bacteriana, a través de una tarjeta de Wickerham, que es una pequeña tarjeta que contiene líneas negras paralelas. El estándar McFarland de 0,5 corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de $1,5 \times 10^8$ UFC / ml de *E. coli* [30]. Los patrones de McFarland se prepararon en un tubo de ensayo añadiendo 2,45 gr de Cloruro de Bario a 24,8 ml de ácido y se agitó hasta obtener un aspecto uniformemente, como se ilustra en la Fotografía 3-10.

Fotografía 3-10 Turbidez de McFarland



Fuente: Los autores

A partir de la siembra por agotamiento de las muestras de agua AP y DP, se realizó la suspensión del inóculo la cual se preparo en el medio de cultivo TSB (Tryptic Soy Broth) REF. 211825 de Becton, Dickinson and Company, teniendo en cuenta la turbiedad de McFarland, el proceso que se realizó se describe a continuación:

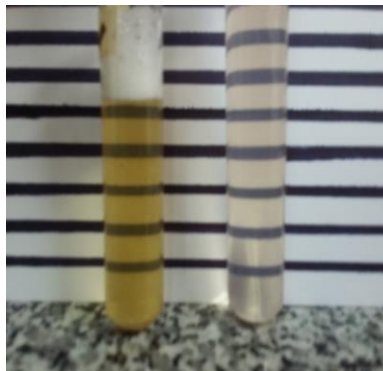
1. Con el asa de inoculación estéril, se tocaron colonias aisladas de la *E. coli*, como se ilustra en la Fotografía 3-11.
2. Se suspendió la *E. coli* en 9 ml de TSB.
3. Se agitó hasta crear una suspensión uniforme.
4. Por último la suspensión se ajusto a la turbidez del estándar McFarland 0,5, realizando una comparación visual como se ilustra en la Fotografía 3-12 ya que la suspensión se encontraba demasiada clara se adiciono más *E. coli*.

Fotografía 3-11 Suspensión del inóculo



Fuente: Los autores

Fotografía 3-12 Comparación visual de la densidad bacteriana



Fuente: Los autores

3.7 Preparación de antibióticos y concentraciones

Se utilizó OXA de 1 gramo, CEF de 1 gramo y AMK de 500 miligramos, como se ilustra en la Fotografía 3-13. La CEF y la OXA se disolvieron en 3 ml de agua destilada obteniendo una concentración inicial de 33300 $\mu\text{g/ml}$ y la AMK estaba disuelta en 2 ml para una concentración de 25000 $\mu\text{g/ml}$

Fotografía 3-13 Presentación farmacéutica de antibióticos



Fuente: Los autores

Se prepararon cinco concentraciones diferentes consecutivas, es decir, en el orden de 10^{-1} a 10^{-5} . Realizando una dilución seriada se alcanzó una concentración mínima de $0,2 \mu\text{g}$, para lo cual se emplearon 30 tubos del medio de cultivo TSB, distribuidos en las dos muestras de agua y cinco tubos para cada antibiótico. Para la elaboración del medio de cultivo se prepararon 270 ml de agua destilada con 8,2 gr de medio de cultivo y luego se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos, posteriormente se sirvió 9 ml en cada tubo.

La dilución seriada del antibiótico se preparó dos veces, AP y DP, del antibiótico preparado, se toma 1 ml y se agrega al primer tubo (10^{-1}), este se agita hasta obtener una mezcla homogénea, luego se toma 1ml y se agrega en el segundo tubo (10^{-2}) y así sucesivamente hasta el quinto tubo; se obtuvieron las siguientes concentraciones (Tabla 3-1):

Tabla 3-1 Concentraciones de antibióticos

Amikacina		Ceftriaxona		Oxacilina	
Dilución	Concentración (μg)	Dilución	Concentración (μg)	Dilución	Concentración (μg)
10^{-1}	25.000	10^{-1}	33.300	10^{-1}	33.300
10^{-2}	2.500	10^{-2}	3.330	10^{-2}	3.330
10^{-3}	250	10^{-3}	333	10^{-3}	333
10^{-4}	25	10^{-4}	33	10^{-4}	33
10^{-5}	2	10^{-5}	3	10^{-5}	3

Fuente: Los autores

3.8 Método de difusión de discos según

3.9 Kirby-Bauer

Con la prueba de susceptibilidad de difusión en disco de Kirby-Bauer se determinó la sensibilidad o la resistencia de las bacterias a los tres antibióticos de estudio, conociendo la concentración del disco y midiendo el halo de inhibición se catalogó la bacteria como resistente, intermedia o susceptible. Para el desarrollo de este método se planteó un diseño experimental, el cual consiste en determinar la cantidad de conjuntos y tratamientos necesarios.

3.9.1 Diseño experimental

Para el presente estudio se usó el diseño completamente aleatorizado (DCA), que es normalmente utilizado en los tratamientos que se ensayan en condiciones homogéneas de las unidades experimentales (UE) y por lo tanto tienen igual capacidad de respuesta. Para este diseño se tiene $N = t * r$, entonces se puede particionar las unidades experimentales dentro de t conjuntos de r unidades cada uno, además cada UE tiene igual probabilidad de asignación a cualquiera de los conjuntos de tratamientos [31]. A continuación se presenta el diseño experimental:

$$N = t * r$$
$$N = 3 * 1 = 3$$

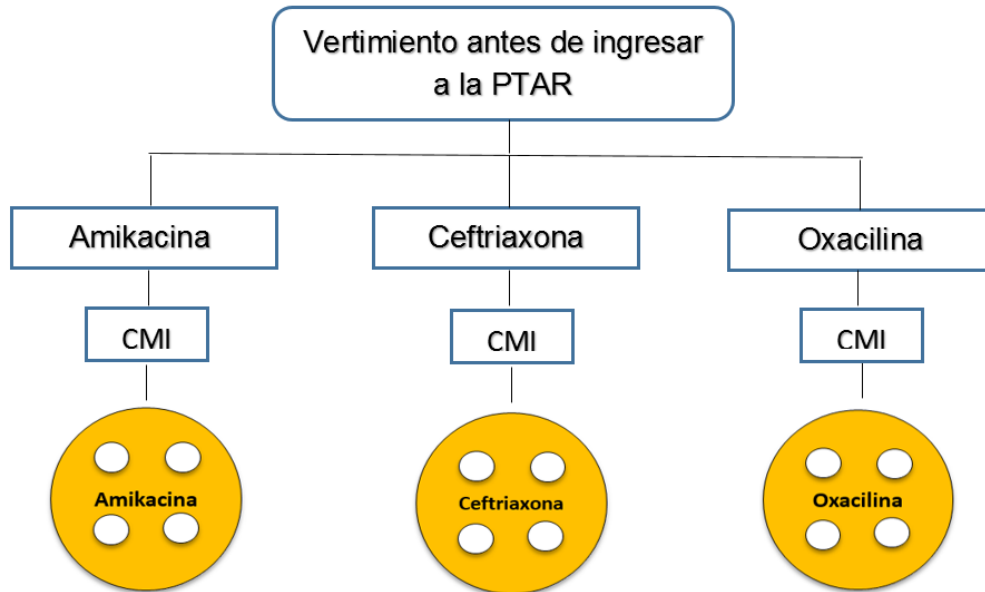
N= Número de muestras

t= Tratamientos (Antibióticos)

r= Conjuntos (Concentraciones)

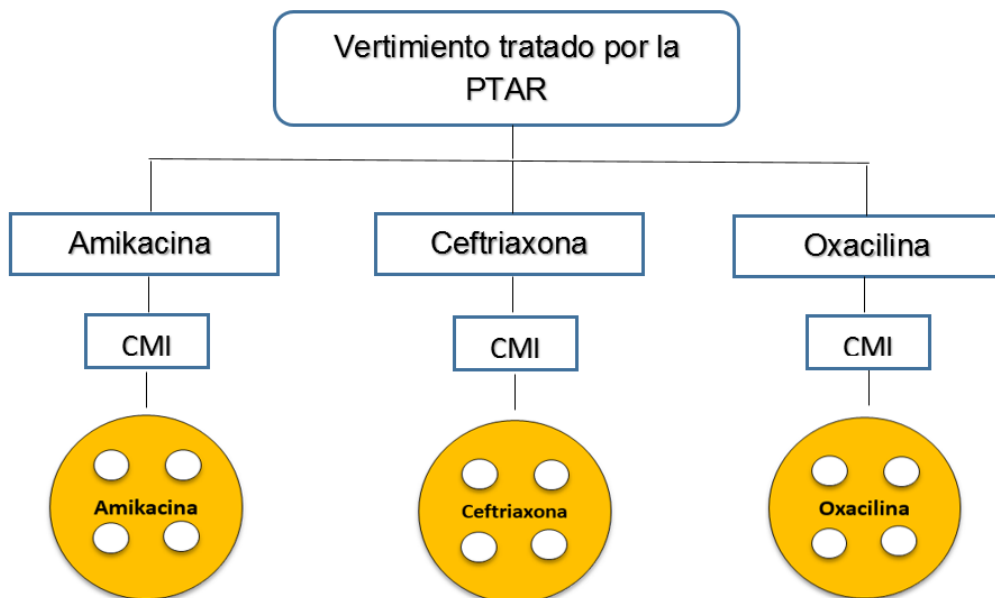
Las bacterias aisladas de las dos muestras de agua fueron sometidas a tres antibióticos CEF, OXA y AMK en su CMI; se colocaron cuatro discos (réplicas) para cada tratamiento aplicado a las dos unidades experimentales; cada unidad experimental está compuesta por una muestra AP y otra muestra DP, como se ilustra en los gráficos 3-4 y 3-5 respectivamente. La cantidad de réplicas se determinó con base en el grado de precisión deseado y recursos disponibles [32];

Gráfico 3-4 Diseño experimental método de difusión AP



Fuente: Los autores

Gráfico 3-5 Diseño experimental método de difusión de DP



Fuente: Los autores

3.9.2 Desarrollo del método

Se utilizó la concentración mínima inhibitoria (CMI) teórica de cada antibiótico, aplicando una CMI de AMK de 25 µg/ml, CEF de 33 µg/ml y OXA 3 µg/ml . Se prepararon 24 discos de papel filtro de 6 mm impregnados con la dilución seriada del antibiótico realizada anteriormente. Teniendo en cuenta la CMI teórica y la Tabla 3-1, se sumergieron ocho discos en el tubo 10^{-4} de AMK, ocho discos en el tubo 10^{-4} de CEF y ocho discos en el tubo 10^{-5} de OXA. Quedando listos para ser colocados en las cajas de petri más adelante.

Como medio de cultivo se empleó el TSA (TSB + Agar REF. 214010 de Becton, Dickinson and Company) , que permite el crecimiento de las bacterias y es ideal para este tipo de método; para su preparación se utilizó un volumen de 120 ml de agua destilada, 3,6 gr de TSB y 1,8 gr de Agar el cual se usó como agente solidificante, se puso a calentar con una agitación frecuente hasta obtener una apariencia cristalina y luego se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos, posteriormente se sirvió 20 ml en cada caja de petri. Para un total de seis cajas, tres para cada muestra de agua.

Teniendo el medio de cultivo se procedió a sembrar la bacteria inoculada de la muestra de agua AP, se tomó 0,1 ml del tubo que contiene la suspensión bacteriana, se esparció con el asa de Drigalsky y se colocaron cuatro discos impregnados con AMK distribuidos con un espacio aproximado de 25 mm entre cada disco y los bordes de la caja, como se observa en la Fotografía 3-14, realizando el mismo proceso para cada antibiótico.

Una vez el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del medio de cultivo, el antimicrobiano se difunde radialmente a través del espesor del TSA formándose un gradiente de concentración.

Fotografía 3-14 Método de difusión AP para AMK



Fuente: Los autores

Luego se utilizó el tubo que contenía las bacterias aisladas del agua DP y se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente (Fotografía 3-15). Por último, se introdujo a la incubadora por 24 horas a 37°C.

Fotografía 3-15 Método de difusión DP para AMK



Fuente: Los autores

3.10 Método de dilución

Por medio de este método se estudió el crecimiento de la *E. coli* en presencia de concentraciones decrecientes del antimicrobiano, utilizando los tubos preparados con las concentraciones diluidas en el caldo de cultivo TSB de cada antibiótico. Se planteo un diseño experimental que permitiera conocer las concentraciones necesarias para establecer la CMI experimental.

3.10.1 Diseño Experimental

Las bacterias aisladas de las dos muestras de agua fueron sometidas a tres antibióticos CEF, OXA y AMK aplicando cinco concentraciones para cada uno, partiendo de una concentración inicial que es la que contiene el antibiótico en su presentación farmacéutica (Gráficos 3-6 y 3-7).

Para el método de dilución se utilizó el siguiente diseño experimental:

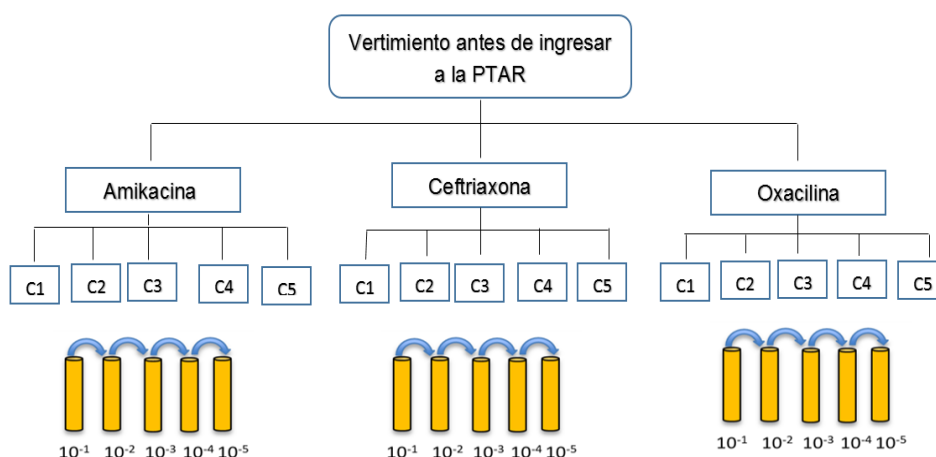
$$N = t * r$$
$$N = 3 * 5 = 15$$

N= Número de muestras

t= Tratamientos (Antibióticos)

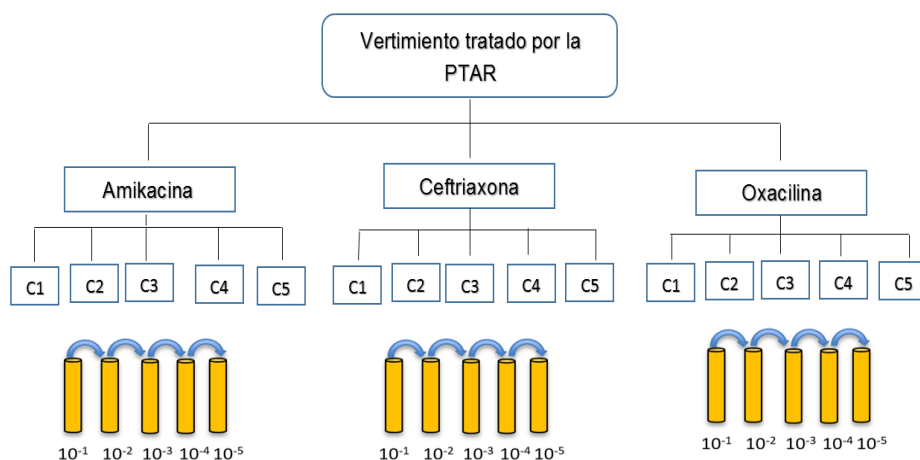
r= Conjuntos (Concentraciones)

Gráfico 3-6 Diseño experimental método de dilución de AP



Fuente: Los autores

Gráfico 3-7 Diseño experimental método de dilución de DP

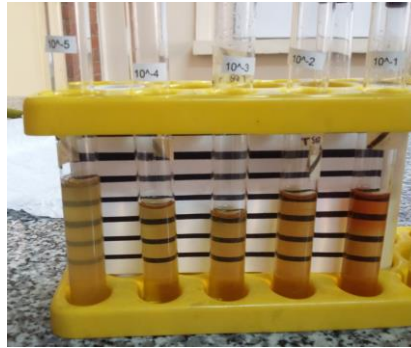


Fuente: Los autores

3.10.2 Desarrollo del método

Para identificar la actividad bacteriana se tomaron los cinco tubos con las diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-5}) del antibiótico y se le añadió a cada uno 0,1 ml del tubo que contiene la bacteria inoculada AP. De acuerdo a lo anterior el volumen del tubo 10^{-3} es diferente debido a que de este se extrae 1 ml adicional para la obtención de la CMI utilizada en el método de difusión, como se ilustra en la Fotografía 3-16.

Fotografía 3-16 Método de dilución AP para CEF



Fuente: Los autores

Se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente para la bacteria aislada de la muestra de agua DP, como se ilustra en la Fotografía 3-17.

Fotografía 3-17 Método de dilución DP para CEF



Fuente: Los autores

3.11 Software BioNumerics

Se utilizó la aplicación “Antibiotic resistance profiling” por medio del software BioNumerics. Para el ingreso de las bases de datos se realizaron dos pasos principales; en primer lugar, se definieron los puntos de corte para la *E. coli* según los valores que se encuentran en las publicaciones del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI), con el fin de clasificar los diámetros de los halos de inhibición en categorías sensible, intermedio ó resistente (SIR). En segundo lugar, se importó la base de datos de los diámetros de los halos de inhibición convirtiéndose automáticamente en categorías SIR. Por último, los datos se muestran en la tarjeta de experimento, con los valores al lado izquierdo y su correspondiente asignación al lado derecho. Además los datos aparecen por colores que pertenecen a cada categoría.

4 Resultados

4.1 Método de difusión de discos según Kirby-Bauer

El método de difusión en disco está basado en la presencia ó ausencia de una zona de inhibición de crecimiento, que se mide en milímetros. La interpretación de la prueba se basa en la correlación entre el diámetro de la zona de inhibición (mm) con la CIM ($\mu\text{g/mL}$) para cada antimicrobiano [33]. De acuerdo al diámetro se categorizó la bacteria (Tabla 4-1).

Tabla 4-1 Patrones estándar del halo de inhibición

Antibiótico	Diámetro del halo de inhibición (mm)		
	Resistente	Intermedio	Susceptible
AMK (25 $\mu\text{g/ml}$)	≤ 14	14.01 – 16.99	≥ 17
CEF (33 $\mu\text{g/ml}$)	≤ 13	13.01 – 20.99	≥ 21
OXA (3 $\mu\text{g/ml}$)	≤ 10	10.01 – 12.99	≥ 13

Fuente: [34]

El gradiente de concentración se formó a partir de la distribución del antimicrobiano en el medio de cultivo, como se ilustra en las fotografías de la Tabla 4-3; el diámetro fue medido con un pie de rey digital. Los resultados obtenidos para la muestra de agua AP fueron los siguientes (Tabla 4-2):

Tabla 4-2 Resultados método de difusión muestra de agua AP

Discos	Diámetro del halo de inhibición (mm)		
	AMK	CEF	OXA
1	10,24	7,82	10,16
2	10,64	8,16	10,93
3	9,98	8,51	11,14
4	10,83	8,82	10,2

Fuente: Los autores

Tabla 4-3 Sensidiscos *E. coli* AP

Halos de inhibición		
AMK (25 µg/ml)	CEF (33 µg/ml)	OXA (3 µg/ml)
		

Fuente: Los autores

Los resultados de los diámetros obtenidos para la *E. coli* aislada de la muestra de agua DP se ilustran en la tabla 4-4:

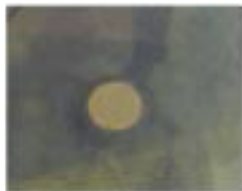
Tabla 4-4 Resultados método de difusión muestras de agua DP

Discos	Diámetro del halo de inhibición (mm)		
	AMK	CEF	OXA
1	8,28	7,95	8,65
2	8,07	7,04	8,73
3	9,07	7,48	8,08
4	8,77	7,82	9,32

Fuente: Los autores

En la tabla 4-5 se observan las fotografías de los sensidiscos luego de pasar por un periodo de 24 horas de incubación.

Tabla 4-5 Sensidiscos *E. coli* DP

Halos de inhibición		
AMK (25 µg/ml)	CEF (33 µg/ml)	OXA (3 µg/ml)
		

Fuente: Los autores

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 4-2 y la Tabla 4-3, se determinó el perfil de resistencia de la *E. coli* aislada AP y DP respectivamente como se muestra en las siguientes tablas.

Tabla 4-6 Perfil de Resistencia *E. coli* AP

Perfil de Resistencia <i>E. coli</i> AP				
Antibiótico	Resistente	Intermedio	Sensible	Total
Amikacina	4(100%)	-	-	4
Ceftriaxona	4(100%)	-	-	4
Oxacilina	-	4(100%)	-	4

Fuente: Los autores

Tabla 4-7 Perfil de Resistencia *E. coli* DP

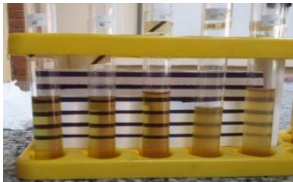
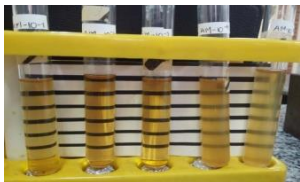
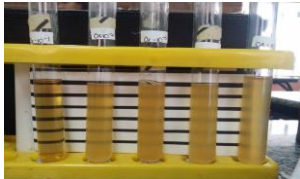
Perfil de Resistencia <i>E. coli</i> DP				
Antibiótico	Resistente	Intermedio	Sensible	Total
Amikacina	4(100%)	-	-	4
Ceftriaxona	4(100%)	-	-	4
Oxacilina	4(100%)	-	-	4

Fuente: Los autores

4.2 Método de dilución

Por medio de este método se halló la CMI de forma visual con ayuda de la tarjeta de Wickerham y se identificó la ausencia bacteriana. En la Tabla 4-6 se puede apreciar las fotografías que indican la concentración en la cual se deja de presentar un crecimiento bacteriano AP y DP estableciendo la CMI para cada antibiótico.

Tabla 4-8 Método de dilución AP y DP

<i>E. coli</i> en el método de dilución		
Antibiótico	Dilución AP (□g/ml)	Dilución DP (□g/ml)
Amikacina		
Ceftriaxona		
Oxacilina		

Fuente: Los autores

De acuerdo a los resultados obtenidos anteriormente se establecen las CMI para cada antibiótico como se ilustra la Tabla 4-7:

Tabla 4-9 CMI AP y DP

<i>E. coli</i> en el método de dilución				
Antibiótico	CMI AP (µg/ml)	No. Tubo	CMI DP (µg/ml)	No. Tubo
Amikacina	250	10^{-3}	250	10^{-3}
Ceftriaxona	33	10^{-4}	333	10^{-4}
Oxacilina	3330	10^{-2}	33300	10^{-1}

Fuente: Los autores

5 Análisis de resultados

La determinación de *Escherichia coli* en el vertimiento de aguas residuales del Hospital de Suba fue positiva debido a que las muestras fueron cultivadas con LSB+MUG, lo que permitió realizar la confirmación de la fluorescencia por medio de rayos ultravioleta. A continuación se realizó el aislamiento de la *E. coli* por medio de la siembra por agotamiento en el medio de cultivo TSA arrojando como resultado un brillo metálico, el cual es característico y diferencial de esta bacteria. Por último se llevo a cabo una identificación microscópica, observando bacilos gram-negativos y llegando a la conclusión de que las pruebas aplicadas permiten establecer la presencia de *E. coli* en el vertimiento.

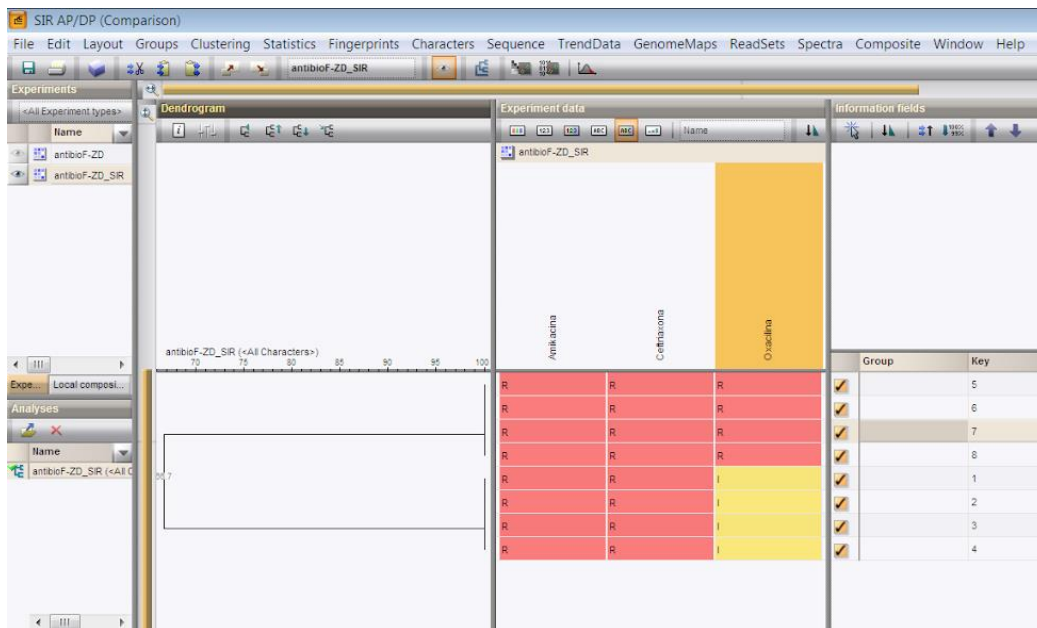
Los antibióticos son considerados contaminantes emergentes debido a sus propiedades físico-químicas, metabolitos y difícil degradación [1]. Al ser vertidos en el alcantarillado o las aguas superficiales podrían llegar hasta las aguas subterráneas y acuíferos siendo la principal fuente de consumo humano. Pueden además aumentar su persistencia en el ambiente y desarrollar una problemática ambiental de gran importancia que involucra la afectación a la salud humana.

Es importante resaltar que aunque se aplicó el método de difusión y dilución para la determinación de la resistencia bacteriana, los resultados fueron similares en cuanto a la presencia de resistencia en el agua residual del Hospital; ya que el primer método corresponde a una definición cualitativa en cuanto a la categoría de la bacteria pero con una relación directa con la concentración mínima inhibitoria la cual es obtenida a partir del método cuantitativo.

5.1 Método de difusión

Se utilizó la aplicación denominada “Antibiotics susceptibility” del software BioNumerics, el cual clasifica la *E. coli* en las categorías SIR (Susceptible, intermedia y resistente). El programa permite ingresar los diámetros de los halos de inhibición y relacionarlos con puntos de corte de la bacteria según cada antibiótico, como se ilustra en la Fotografía 5-1.

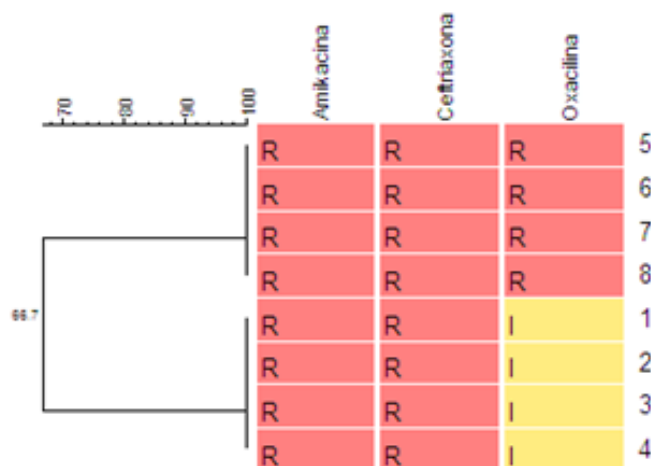
Fotografía 5-1 Antibiotics susceptibility - BioNumerics



Fuente: Los autores

Los datos ingresados de los diámetros de halos de inhibición fueron etiquetados por medio del Software, asignando una numeración de 1-4 para los sensidiscos AP y de 5-8 para DP. El Gráfico 5-1 muestra la relación entre los datos de resistencia de cada antibiótico con su categoría SIR; en el caso de AMK y CEF la *E. coli* se clasifica como resistente tanto AP como DP, mientras que en OXA es catalogada intermedia AP y al ser tratada por la PTAR adquiere una resistencia.

Gráfico 5-1 Clasificación SIR de cada antibiótico



Fuente: Los autores

En el costado izquierdo del gráfico anterior se ilustra un dendograma, el cual representa la similitud entre los dos grupos de muestras (AP y DP). Se obtuvo un porcentaje de 66,7% entre AMK y CEF presentando resistencia AP y DP, lo que indica que el restante (33,3%) se refiere a las muestras de OXA que fueron intermedias en AP con respecto a resistentes en DP.

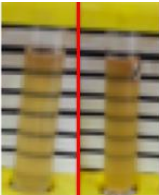
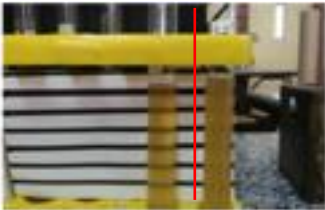
La resistencia a OXA es adquirida luego de pasar por el sistema de tratamiento de aguas residuales, ya que el diámetro de los halos de inhibición es menor, cambiando de categoría, de intermedio a resistente. La principal razón radica en que la PTAR no cuenta con un proceso de desinfección antes de verter el agua residual.

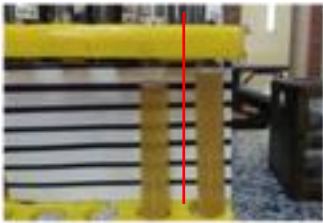
5.2 Método de dilución

En la AMK los resultados fueron iguales se obtuvo una CMI de 250 $\mu\text{g/ml}$ antes y después de la PTAR, por el contrario para la CEF después de pasar por la planta de tratamiento las bacterias aisladas aumentaron en un orden de magnitud de 33 $\mu\text{g/ml}$ a 333 $\mu\text{g/ml}$. Un resultado similar se presentó en la OXA AP con una CMI de 3330 $\mu\text{g/ml}$ y DP con 33300 $\mu\text{g/ml}$.

Adicionalmente se observó un mayor crecimiento bacteriano en los medios con antibióticos inoculados con la *E. coli* aislada DP, el cual es identificado por medio de la turbidez presente en el medio, como se puede apreciar en la Tabla 5-1; en el costado izquierdo de las fotografías se encuentran los tubos AP y en el derecho DP. La carga bacteriana conduce a una problemática de gran importancia ya que la PTAR está produciendo un ambiente propicio para el crecimiento de coliformes e indicadores de contaminación fecal aún después del tratamiento y por lo tanto, la generación de una alta resistencia.

Tabla 5-1 Comparación turbidez AP y DP

Antibiótico	Turbidez AP y DP
AMK (10^{-5})	
CEF (10^{-5})	

OXA (10^{-5})	
-------------------	--

Fuentes: Los autores

Un aspecto a resaltar es que la *Escherichia coli* puede ser causante de enfermedades tratables, pero por estar en contacto con microorganismos capaces de sintetizar enzimas que permiten combatir los efectos del antibiótico, adquiere una resistencia y por lo tanto los tratamientos no serían eficaces. Esto exige llevar a cabo monitoreos y la elaboración de estrategias que permitan su control y mitigación de efectos negativos sobre el medio ambiente.

Por último al medio ambiente receptor llegan sustancias químicas de origen antropogénico que no se encuentran incluidas en la legislación actual. Es el caso de los antibióticos que una vez administrados y tras ser metabolizados, se excretan en su mayor parte como el compuesto parental original y en menor porcentaje como metabolitos; los efluentes producto de este proceso son tratados en la PTAR y con ellos los residuos de antibióticos que alcanzan directamente los ríos y demás masas de aguas superficiales [42].

6 Conclusiones

Se establece que la *E.coli* aislada de las muestras de agua tomadas antes y después de la planta de tratamiento presenta una resistencia a los antibióticos de estudio.

Se confirmó la presencia de *E. coli* en las muestras de agua antes y después del sistema de tratamiento de agua residual por medio de un cultivo selectivo, tinción de Gram e identificación microscópica.

La resistencia a la Oxacilina es adquirida luego de pasar por el sistema de tratamiento de aguas residuales, ya que el diámetro de los halos de inhibición es menor, cambiando de categoría, de intermedio a resistente. Por el contrario para la Amikacina y Ceftriaxona la resistencia se presenta antes y después del tratamiento.

Se concluye que la resistencia a los antibióticos esta en el rango de intermedio a resistente; en el caso de la Amikacina y Ceftriaxona se identificó una resistencia del 100%. En la Amikacina se obtuvo una concentración mínima inhibitoria de 250 µg/ml antes y después de la planta de aguas residuales; la Ceftriaxona presentó una concentración mínima inhibitoria de 33 µg/ml y 333 µg/ml respectivamente. Así mismo, para la Oxacilina el 100% es catalogada como intermedio antes del sistema de tratamiento de agua residual y resistente después de pasar por la planta para la *E. coli* aislada de las muestras de agua residual.

El impacto más significativo radica en la descarga de aguas residuales hospitalarias con alta carga bacteriana generando la aparición y el incremento de resistencia debido a que algunos microorganismos poseen genes y al estar en contacto con aquellos que no, pueden propagarse.

La planta de tratamiento del Hospital de Suba no cuenta con un proceso de desinfección antes del vertimiento de agua residual al alcantarillado, lo cual está generando la proliferación bacteriana en el vertimiento ya que el tanque espesador de lodos es su proceso inmediatamente anterior.

7 Recomendaciones

Una de las principales problemáticas relacionadas con la resistencia bacteriana en vertimientos de agua residual es la ausencia de una normatividad sobre el tema en la legislación colombiana, es recomendable entonces la generación de acciones individuales como la educación a los profesionales que operan la planta de tratamiento de aguas residuales sobre la importancia de los vertimientos con alta carga bacteriana y la presencia de antibióticos.

Una posible solución es la implementación de procesos de desinfección los cuales son considerados una herramienta para controlar la propagación de la carga bacteriana lo que conduce a una mayor resistencia en el medio ambiente.

Por otro lado el uso de tecnologías avanzadas para el tratamiento de aguas residuales, reduce la problemática de la resistencia bacteriana, eliminando la presencia de antibióticos en el agua residual, algunas de estas tecnologías son: bioreactores de membrana (MBR), la nanofiltración/ultrafiltración y la ósmosis inversa, así como las tecnologías que emplean procesos de oxidación avanzada, entre otras, pueden ser una solución muy eficaz y viable para garantizar una mejor eliminación y depuración de las aguas [43].

Se recomienda ejecutar un análisis operacional del sistema de tratamiento de agua residual, con el fin de evaluar el funcionamiento y la eficiencia de cada uno de los procesos.

Realizar un proyecto de identificación de resistencia de *E. coli* con una gama más amplia de antibióticos comúnmente usados en el Hospital y determinar las concentraciones de cada uno en el vertimiento de agua residual.

8 Bibliografía

- [1] M Gil, A Soto, J Usma, and O Gutiérrez, "Contaminantes emergentes en agua, efectos y posibles tratamientos," *Producción + Limpia*, vol. 7, no. 2, pp. 52-73, Diciembre 2012.
- [2] V Diwan, T Ashok, and K Rakesh, "Antibiotics and antibiotic-resistant bacteria in waters associated with a hospital in Ujjain, India," *BMC Public Health*, Ujjain, Artículo científico 1471-2458-10-414, 2010.
- [3] Organización Mundial de la Salud. (2015, Abril) Organización Mundial de la Salud. [Online]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
- [4] Ministerio de la Protección Social, "Estado del arte de la resistencia bacteriana y la vigilancia epidemiológica de las infecciones asociadas al cuidado de la salud en Colombia," Red Nacional de la Vigilancia de la Resistencia Bacteriana y de las Infecciones Asociadas al Cuidado de la Salud, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C, Informe Científico de la Red 2009.
- [5] Angela Muñoz Delgado, "Manual de Procedimientos para la Determinación de Susceptibilidad Antibiótica en Patógenos de Importancia Hospitalaria," Instituto Nacional de Salud, Bogotá, 2012.
- [6] Laura Noblía. (2000, Mayo) *Infecto*. [Online]. <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/amino/AMINOGLUC%20SIDOS.htm>
- [7] Fernando Paredes and Juan José Roca, "Acción de los antibióticos - Perspectiva de la medicación antimicrobiana," *Offarm*, vol. 23, no. 3, pp. 116-124, Marzo 2004.
- [8] Maria Ovalle, "Detección de resistencia en bacterias gram negativas," Secretaría de salud, Bogotá, Actualización en resistencia bacteriana y normal CLSI 2010 2010.
- [9] Lenore Asbel and Matthew Levison, "CEPHALOSPORINS, CARBAPENEMS, AND MONOBACTAMS," *Infectious Disease Clinics of North America*, vol. 14, no. 2, pp. 435-447, Junio 2000.
- [10] Mariela Mantilla. (2009, Mayo) *Infecto*. [Online]. <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/cef/CEFALOSPORINAS.htm>

- [11 MJ Andrews, "Determination of Minimum Concentration Inhibitory," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 48, no. 31, pp. 5-16, 2001.
- [12 Joaquin Ramírez and Marcela Ayala, "Enzimas: ¿qué son y cómo funcionan?," *Revista Digital Universitaria*, vol. 15, no. 12, Diciembre 2014.
- [13 Marina Marín, "Penicilina," Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Belgrano, Belgrano, Artículo de Toxicología y Química Forense 2011.
- [14 David Lozano, Hirev Larrondo, and Maria Herrera, "Penicilinas," Unidad de coordinación, implementación y seguimiento del proyecto de reestructuración del sistema de salud, Acta médica 1998.
- [15 A Embid, "Resistencia de las bacterias a los antibióticos," *Medicinas Complementarias*, vol. I, no. 53, pp. 45-50, 2011.
- [16 T Varela, "Comparación de la resistencia al tratamiento de infecciones urinarias no complicadas a nivel internacional, con historias clínicas del servicio de urgencias del Hospital San Ignacio del año 2007," Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Tesis Bacteriología 2008.
- [17 M Crespo, "La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina," *Colombia Médica*, vol. 33, no. 4, pp. 179-193, 2002.
- [18 E Korzeniewska, A Korzeniewska, and M Harnisz, "Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, no. 91, pp. 96-102, 2013.
- [19 Google Earth. (2015, Diciembre) Localización Hospital de Suba II Nivel E.S.E.]
- [20 Ingeniar Ambiente, "Manual de operación del sistema de tratamiento de aguas residuales industriales Hospital de Suba E.S.E," Hospital de Suba E.S.E, Bogotá D.C, Manual PTAR 2014.
- [21 Claudia Quintero, "Impacto Ambiental Generado por la Presencia de Acetaminofén, Amoxicilina y Estradiol en el Agua," Universidad Pontificia Bolivariana - Seccional Bucaramanga, Santa Marta, Conferencia ACODAL

2015.

- [22 G Buitrago, "Relación entre el consumo de antibióticos y la resistencia bacteriana en instituciones colombianas de tercer nivel de atención," Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Tesis Magister Epidemiología Clínica 2009.
- [23 Fernando Fernández, Jorge López, Laida Ponce, and Caridad Machado,] "Resistencia bacteriana," *Revista Cubana Medicina Militar*, vol. I, no. 32, pp. 44-48, 2003.
- [24 A Ugalde, "Determinación de la concentración inhibitoria mínima a diversos antibióticos y la presencia de integrones clase I en cepas de *E. coli* y *Serratia marcescens* aisladas a partir de monos *Alouatta palliata* de Costa Rica," Universidad de Costa Rica, San Jose, Tesis licenciatura en microbiología y química clínica 2007.
- [25 L Cortecero and J Benitez, "Evaluación de la resistencia bacteriana a antibióticos oxitetraciclina y eritromicina en quesos frescos costeños del DEpto. de Bolívar provenientes de los municipios de Arjona y Villanueva," Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Tesis Ingeniería de Alimentos 2011.
- [26 K Kümmerer, "Resistance in the environment," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, no. 54, pp. 311-320, 2004.
- [27 Secretaria de Salud. (1998, Agosto) Consejo de Salubridad General. [Online].] <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/catmedgi.html>
- [28 Universidad Nacional Autónoma de México. (2005, Junio) Facultad de Medicina-UNAM. [Online]. http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/42.HTM
- [29 P.R Vademecum. (2015) Clyna S.A. [Online].] <http://py.prvademecum.com/producto.php?producto=484>
- [30 Ministerio de Salud Pública. (2011, Julio) Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. [Online]. <http://fnmedicamentos.sld.cu/index.php?p=FullRecord&ID=126>
- [31 Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica. (2010, Septiembre) Instituto Químico y Biológico. [Online].

] <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a043.htm>

- [32 Carmen Torres. (2012, Octubre) La resistencia bacteriana a los antibióticos,
] siete décadas después de Fleming. Documento.
- [33 Instituto Nacional de Salud, "Consumo de antibióticos en el ámbito
] hospitalario," Vigilancia y análisis del riesgo en salud pública, Ministerio de
Salud, Bogotá D.C, Protocolo de Vigilancia en Salud Pública 2014.
- [34 Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, "Uso prudente de antibióticos en
] instituciones prestadoras de servicios de salud," Área de vigilancia en salud
publica, Dirección de Salud Pública, Bogotá, 978-9588313184, 2008.
- [35 Jorge Machado and Diana González, "Dispensación de antibióticos de uso
] ambulatorio en una población colombiana," *Revista de Salud Pública*, vol. 11,
no. 5, pp. 734-744, Septiembre 2009.
- [36 Maye Bernal, "Identificación Bacteriana," Departamento de Microbiología,
] Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2014.
- [37 Jan Hudzicki, "Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol," New
] York, 2013.
- [38 Oscar Melo, Luis López, and Sandra Melo, *Diseño de Experimentos*. Bogotá,
] Cundinamarca, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2007.
- [39 H, Bautista, G. Mendoza, "Diseño Experimental," Universidad Nacional de
] Colombia, Bogotá, 2002. [Online].
http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000352/html/un2/cont_218-38.html
- [40 Secretaria Distrital de Salud, "Manual de Actualización en Resistencia
] Bacteriana y Normas CLSI M100-s20," Bogotá D.C, 2010.
- [41 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica,
] "Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos,"
Madrid, 2000.
- [42 Sonia Aguayo, Silvia Herrera, Javier Méndez, and Cristina Corpa, "Consumo
] de antibióticos y medio ambiente," *Seguridad y medio ambiente*, vol. 32, no.
127, Septiembre 2012.

- [43 Damià Barceló and María López, "Contaminación y calidad química del agua:
] el problema de los contaminantes emergentes," Instituto de Investigaciones
Químicas y Ambientales-CSIC, Barcelona, Panel Científico- Técnico de
seguimiento de la política de aguas 2007.
- [44 Unidad Administrativa Especial de Catastro Distrital. (2011, Febrero) Portal
] Mapas de Bogotá. [Online]. <http://mapas.bogota.gov.co/portalmapas/>.
- [45 Otto Sussman, Lorenzo Mattos, and Andrés Restrepo, "Resistencia
] Bacteriana," *Revista Universitas Medica*, vol. 43, no. 1, Enero-Marzo 2002.
- [46 L Rizzo et al., "Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic
] resistant bacteria and genes spread into the environment: A review," *Science
of The Total Environment*, vol. 447, no. 1, pp. 345-360, Marzo 2013.
- [47 C Rodríguez et al., "Lettuce for human consumption collected in Costa Rica
] contains complex communities of culturable oxytetracycline and gentamicin
resistant bacteria.," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 72, no. 9, pp.
5870-5876, Septiembre 2006.
- [48 S Kim and D Aga, "Potential ecological and human health impacts of
] antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants ,"
Journal of Toxicology Environmental Health, vol. 10, pp. 559-573, Diciembre
2007.
- [49 S Esquivel, "Identificación y determinación de resistencia a antibióticos de
] bacilos Gram negativos aislados de heces de monos silvestres de Costa
Rica.," Universidad de Costa Rica, San Jose, Tesis pregrado 2004.
- [50 ML Richardson and JM Bowron, "The fate of pharmaceutical chemicals in the
] aquatic environment," *J Pharm Pharmacol*, vol. 37, no. 1, pp. 1-12, Enero
1985.
- [51 M Focazio et al., "A national reconnaissance of pharmaceuticals and other
] organic wastewater contaminants in the United States - I) Groundwater,"
Science Total Environment, vol. 402, no. 2-3, pp. 192-200, Septiembre 2008.
- [52 MS Diaz-Cruz and Barceló D, "LC-MS2 trace analysis of antimicrobials in
] water, sediment and soil," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 24, no. 7,
pp. 645-657, Julio-Agosto 2005.
- [53 MD Hernando, M Mezcuca, AR Fernandez-Alba, and Barceló D, "Environmental

] risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters, and sediments," *The International Journal of Pure and Applied Analytical Chemistry - Talanta*, vol. 69, pp. 334-342, 2006.