

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA AMPICILINA, CLINDAMICINA Y MEROPENEM
EN *Escherichia coli* PRESENTE EN VERTIMIENTOS PROVENIENTES DEL HOSPITAL DE
SUBA II NIVEL E.S.E EN LA CIUDAD DE BOGOTÁ**

EDWIN LEONARDO GUTIÉRREZ ALFONSO

**UNIVERSIDAD SANTO TOMAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ
2017**

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA AMPICILINA, CLINDAMICINA Y MEROPENEM
EN *Escherichia coli* PRESENTE EN VERTIMIENTOS PROVENIENTES DEL HOSPITAL DE
SUBA II NIVEL E.S.E EN LA CIUDAD DE BOGOTÁ**

EDWIN LEONARDO GUTIÉRREZ ALFONSO

Proyecto de grado para optar el título de Ingeniero Ambiental

Director

LUIS CAMILO BLANCO BECERRA

Ingeniero Ambiental y Sanitario

M.Sc. Salud Ambiental

UNIVERSIDAD SANTO TOMAS

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

BOGOTÁ

2017

Nota de aceptación

Firma Director de Tesis _____

Firma del jurado _____

Firma del jurado _____

Dedicatoria

A Dios por las bendiciones recibidas a diario.

A mi familia, a mis Papás, Edilberto Gutiérrez y Lucía Alfonso, de los cuales recibí apoyo económico y moral durante toda la carrera universitaria, por ellos todo el esfuerzo y dedicación para finalizar mis estudios universitarios, a mi hermano, Jhonatan Gutiérrez por la compañía y apoyo constante.

A mis abuelos, por el consejo de estudiar, “siempre va a pesar menos un lápiz que un azadón”.

A todas las personas que me apoyaron de una u otra forma para la culminación de mi carrera universitaria y a todas las personas que conocí durante mis estudios de educación superior.

Agradecimientos

Al profesor Camilo Blanco, por la guía durante la elaboración del proyecto de grado.

Al profesor Rafael Barragán por su guía en los laboratorios de microbiología y conocimientos generales para el desarrollo del proyecto.

A Alan Gonzales por la gestión y préstamo de material de laboratorio de la universidad Santo Tomas.

A todos los profesores de los cuales recibí clase, y compartieron su conocimiento para fortalecer mi crecimiento intelectual.

Al Profesor Johan Álvarez, por la gestión junto con el profesor Camilo Blanco para el convenio de la universidad con el hospital.

Al hospital de Suba II nivel E.S.E, por permitir el ingreso y desarrollo del trabajo de grado, junto con la empresa y personal encargado del manejo de la planta de tratamiento de agua residual del hospital.

Al operario de la planta de tratamiento de agua residual del hospital, por compartir su conocimiento, facilitar la información sobre el funcionamiento de la PTAR.

A Elisa Gutiérrez, por las acciones realizadas para poder dar normal continuidad al proyecto de grado.

A Karen Díaz por el apoyo constante durante la elaboración del proyecto de grado.

Al ciclismo por la enseñanza de disciplina, constancia y superación de adversidades para obtener buenos resultados, “si la vida se pone dura, plato pequeño, piñón grande y para adelante”

1. Resumen

El presente trabajo de investigación evalúa la resistencia microbiana de *Escherichia coli* a tres antibióticos de uso común, la Ampicilina, Clindamicina y Meropenem en agua residual del hospital de Suba II nivel E.S.E; para llevar a cabo este proyecto se elaboró un diseño experimental que permitió evaluar las diferencias en la resistencia de *Escherichia coli* a los 3 diferentes antibióticos, con el tamaño de muestra obtenido se aislaron 40 cepas de *Escherichia coli* en dos diferentes fases de la planta de tratamiento, agua residual sin tratamiento y agua residual tratada, además de esto se incluyeron variables de análisis para evaluar la variación de resistencia como día de muestreo, mantenimiento de la PTAR y hora de muestreo, el método utilizado para la determinación de resistencia microbiana es “Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol”, con la ayuda de Whonet un software de fácil manejo se lleva a cabo el análisis de resultados incluyendo programas estadísticos; de las cepas aisladas para evaluar la resistencia microbiana a la Ampicilina el 83,5 % de las cepas fue resistente, el 2% intermedio y el 14,5% fue sensible, para Clindamicina el 74,5% de las cepas fue resistente, el 8% fue intermedio y el 17,5 % fue sensible, para Meropenem el 30% fue resistente, el 9,5% fue intermedio y el 60,5% sensible.

Palabras clave: *Escherichia coli*, Resistencia Microbiana, Whonet, Ampicilina, Clindamicina, Meropenem, Hospital, Antibiótico.

2. Abstract

The present study evaluates the microbial resistance of *Escherichia coli* to three commonly used antibiotics, Ampicillin, Clindamycin and Meropenem in residual water from Hospital of Suba II level E.S.E; To carry out this project a sample design was elaborated with which it was possible to carry out the experimental design that allowed to evaluate the differences in the resistance of *Escherichia coli* to the 3 different antibiotics, with the obtained sample size 40 strains of *Escherichia coli* In two different phases of the treatment plant, untreated waste water and treated wastewater, in addition to this analysis variables were included to evaluate resistance variation as day of sampling, maintenance of the WWTP and time of sampling, the method used For the determination of microbial resistance is "Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol", with the help of Whonet an easy-to-handle software performs the analysis of results including statistical programs; Of strains isolated to evaluate microbial resistance to Ampicillin 83.5% of the strains were resistant, 2% intermediate and 14.5% were sensitive, for Clindamycin 74.5% of the strains were resistant, the 8% was intermediate and 17.5% was sensitive; for Meropenem 30% was resistant, 9.5% was intermediate and 60.5% sensitive.

Key words: *Escherichia coli*, Microbial resistance, Whonet, Ampicillin, Clindamycin, Meropenem, Hospital, Antibiotic.

Tabla de contenido.

Anexo A. Protocolo para la toma de muestras y análisis de susceptibilidad.	117
Anexo B. Preparación de medios.	118

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla 1. Clasificación de los antibióticos</u>	32
<u>Tabla 2. Antibióticos de estudio</u>	33
<u>Tabla 3. Concentración de los antibióticos según el ambiente donde se localice.</u>	39
<u>Tabla 4. Condiciones apropiadas para el crecimiento de Escherichia Coli</u>	40
<u>Tabla 5. Grupos patógenos de Escherichia Coli</u>	41
<u>Tabla 6. Esperanza matemática empírica de la varianza de los halos de inhibición simulados por escenario.</u>	43
<u>Tabla 7. Tiempos de muestreo por día.</u>	47
<u>Tabla 8. Interpretación de resultados dependiendo el halo de inhibición en mm.</u>	64
<u>Tabla 9. UFC de Escherichia Coli halladas en los muestreos tomados en agua residual sin tratamiento en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E</u>	66
<u>Tabla 10. UFC de Escherichia Coli halladas en los muestreos tomados en agua residual tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E</u>	68
<u>Tabla 11. Unidades formadoras de colonia por ml en los diferentes muestreos.</u>	69
<u>Tabla 12. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente las UFC/ml y el factor la fase del muestreo.</u>	72
<u>Tabla 13. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente las UFC/ml y el factor el mantenimiento de la PTAR.</u>	73
<u>Tabla 14. Análisis ANOVA de un factor con variable dependiente las UFC y el factor el día del muestreo.</u>	75
<u>Tabla 15. Resultados de pruebas de susceptibilidad de Escherichia Coli ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem</u>	76
<u>Tabla 16. Análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina y el factor la fase del muestreo.</u>	81
<u>Tabla 17. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina y factor el estado de mantenimiento de la PTAR.</u>	83
<u>Tabla 18. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina y factor el día de muestreo.</u>	84
<u>Tabla 19. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina y factor la hora de muestreo.</u>	86

<u>Tabla 20. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina y factor la ubicación del muestreo.</u>	88
<u>Tabla 21. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina y factor estado de mantenimiento de la PTAR.</u>	90
<u>Tabla 22. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina y factor el día de muestreo..</u>	91
<u>Tabla 23. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina y factor la hora de muestreo..</u>	93
<u>Tabla 24. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli al Meropenem y factor la ubicación del muestreo..</u>	95
<u>Tabla 25. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli al Meropenem y factor el estado de mantenimiento de la PTAR.</u>	97
<u>Tabla 26. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli al Meropenem y factor el día de muestreo..</u>	98
<u>Tabla 27. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de Escherichia Coli al Meropenem y factor la hora del muestreo..</u>	100

LISTA DE IMÁGENES

<u>Imagen 1. Hospital de Suba II nivel E.S.E.</u>	22
<u>Imagen 2. El problema ambiental con las aguas residuales hospitalarias.</u>	37
<u>Imagen 3. Diagrama de bloques de la planta de tratamiento de agua residual.</u>	47
<u>Imagen 4. Recipiente para la recolección de orina.</u>	50
<u>Imagen 5. Diluciones.</u>	53
<u>Imagen 6. Método de siembra por estrías en medios de cultivo sólidos distribuidos en placas de Petri..</u>	57
<u>Imagen 7. Elaboración de sensidiscos de Ampicilina.</u>	60
<u>Imagen 8. Elaboración de sensidiscos de Meropenem.</u>	61
<u>Imagen 9. Elaboración de sensidiscos de Clindamicina.</u>	62
<u>Imagen 10. Patrón de distribución de los discos de antibióticos en el medio de cultivo.</u>	63
<u>Imagen 11. Muestreo de un día para análisis de resistencia microbiana.</u>	63

LISTA DE FOTOGRAFÍAS

<u>Fotografía 1. Caja de aforo agua residual tratada</u>	23
<u>Fotografía 2. Estructura de entrada y trampa de grasas.</u>	24
<u>Fotografía 3. Tanque de homogenización</u>	24
<u>Fotografía 4. Tanque de ajuste de pH</u>	25
<u>Fotografía 5. Floculador y sedimentador</u>	26
<u>Fotografía 6. Filtro de arena, filtro de carbón activado, espesador de lodos y prensa de lodos</u>	27
<u>Fotografía 7. Salida del agua residual tratada de la planta de tratamiento</u>	48

<u>Fotografía 8. Puntos de muestreo (Entrada: fotografía de lado izquierdo, Salida: fotografía de lado derecho).</u>	51
<u>Fotografía 9. Almacenamiento de los muestreos para su conservación.</u>	51
<u>Fotografía 10. Recuento de colonias en la cuenta colonias.</u>	54
<u>Fotografía 11. Crecimiento de Escherichia Coli aislada en agar EMB por estriado.</u>	58
<u>Fotografía 12. Preparación y comparación del inóculo con el estándar de turbidez.</u>	59
<u>Fotografía 13. Pesaje de polvo de agar.</u>	117
<u>Fotografía 14. Medición de volumen de agua para la elaboración de medios de cultivo.</u>	118
<u>Fotografía 15. Preparación de mezcla para la elaboración de medios</u>	118

LISTA DE GRÁFICAS

<u>Gráfica 1. UFC de E. Coli encontradas en las muestras de agua residual sin tratamiento.</u>	67
<u>Gráfica 2. UFC de Escherichia Coli encontradas en las muestras de agua residual tratada.</u>	69
<u>Gráfica 3. Carga bacteriana de Escherichia Coli de las muestras tomadas del agua residual sin tratamiento y agua residual tratada en la PTAR del hospital de Suba.</u>	70
<u>Gráfica 4. UFC/ml de Escherichia Coli vs Ubicación del muestreo.</u>	72
<u>Gráfica 5. UFC/ML de Escherichia Coli vs Mantenimiento de la PTAR.</u>	74
<u>Gráfica 6. UFC de Escherichia Coli vs Día de muestreo.</u>	75
<u>Gráfica 7. Porcentaje de resistencia para Ampicilina.</u>	79
<u>Gráfica 8. Porcentaje de resistencia para Clindamicina.</u>	79
<u>Gráfica 9. Porcentaje de resistencia para Meropenem.</u>	80
<u>Gráfica 10. Ubicación del muestreo Vs resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina.</u>	82
<u>Gráfica 11. Estado de mantenimiento de la PTAR vs resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina.</u>	83
<u>Gráfica 12. Días de muestreo vs resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina.</u>	85
<u>Gráfica 13. Hora de muestreo vs resistencia de Escherichia Coli a la Ampicilina.</u>	87
<u>Gráfica 14. Ubicación del muestreo vs resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina.</u>	89
<u>Gráfica 15. Estado de mantenimiento de la PTAR vs resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina.</u>	90
<u>Gráfica 16. Día de muestreo vs resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina.</u>	92
<u>Gráfica 17. Hora de muestreo vs resistencia de Escherichia Coli a la Clindamicina.</u>	94
<u>Gráfica 18. Ubicación del muestreo vs resistencia de Escherichia Coli al Meropenem.</u>	96
<u>Gráfica 19. Mantenimiento de la PTAR vs resistencia de Escherichia Coli al Meropenem.</u>	97
<u>Gráfica 20. Día de muestreo vs resistencia de Escherichia Coli al Meropenem.</u>	99
<u>Gráfica 21. Hora de muestreo vs resistencia de Escherichia Coli al Meropenem.</u>	101
<u>Gráfica 22. Ubicación del muestreo vs la resistencia de Escherichia Coli ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.</u>	102
<u>Gráfica 23. Día de muestreo vs la resistencia de Escherichia Coli ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.</u>	102
<u>Gráfica 24. Mantenimiento de la PTAR vs la resistencia de Escherichia Coli ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.</u>	102

Lista de abreviaturas y símbolos

Abreviatura/símbolo	Término/unidad
AMP	<i>Ampicilina</i>
CC	<i>Clindamicina</i>
MEM	<i>Meropenem</i>
UFC	<i>Unidades formadoras de colonia</i>
PTAR	<i>Planta de tratamiento de agua residual</i>
CMI	<i>Concentración mínima inhibitoria</i>
E.S.E	<i>Empresa Social del Estado</i>
ADN	<i>Ácido desoxirribonucleico</i>
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
EMB	<i>Eosin methylene blue agar</i>
S	<i>Susceptible</i>
I	<i>Intermedio</i>
R	<i>Resistente</i>
c*	<i>Criterio de susceptibilidad (Sensible “S”), (intermedio “I”), (Resistente “R”)</i>
°C	<i>Grados Celsius</i>
g	<i>Gramos</i>
ml	<i>Mililitros</i>
mg	<i>Miligramos</i>
µg	<i>Microgramos</i>
BLEE	<i>Betalactamasas de espectro extendido</i>

3.Introducción

Las bacterias han sido quizá la primera forma de vida en el mundo, desde este momento han sobrevivido a las diferentes adversidades contempladas a lo largo del tiempo, adaptándose, mutando, modificando su estructura, por medio de la selección natural y demás formas de supervivencia existente para de esta forma llegar a las diversas estructuras, familias y grupos que conocemos.

A pesar de que la mayoría de las bacterias resultan ser inocuas o incluso beneficiosas para el ser humano, existe un mínimo porcentaje que son patógenas, las cuales son importantes en la salud pública y pueden llegar a causar alteraciones en los diferentes ecosistemas donde existe su presencia. No obstante, como solución a estos problemas fueron descubiertos los antibióticos, sustancias naturales, posteriormente sintéticas y semisintéticas, capaces de inhibir el crecimiento o matando estos seres no deseados para el apropiado desarrollo de la humanidad.

En el siglo pasado y desde su descubrimiento en 1928 los antibióticos parecían ser la solución oportuna, eficaz y definitiva a los problemas causados por las bacterias patógenas al ser humano, sin embargo, cuando Alexander Fleming recibió el premio nobel de fisiología o medicina en 1945 anuncio en su conferencia que las bacterias podrían crear resistencia al agente antibacteriano (penicilina) que estaba acabando con ellas [1], poco tiempo después, en la década de los 50, casi la mitad de las cepas de *Staphylococcus aureus* resultaron ser resistentes a la penicilina, desde ese momento empezó una lucha consecutiva de las bacterias con su capacidad de mutación y adaptación constante para sobrevivir contra la inteligencia del ser humano, la cual ha sido probada en repetidas ocasiones con el fin de controlar la resistencia de las bacterias patógenas a los antibióticos.

Es sorprendente como un organismo unicelular con una estructura tan simple, encuentra diferentes métodos de supervivencia para garantizar la permanencia de su especie en el tiempo, a pesar de eso existen factores que aumentan o benefician la resistencia de las bacterias a los antibióticos, tales como el uso indiscriminado, el uso de dosis inapropiadas, la utilización en situaciones virales, la mezcla o combinaciones innecesarias, el uso en ambientes no humanos

(uso veterinario sin control sanitario) y el crecimiento de microorganismos en ambientes con presencia de antibióticos como en los hospitales.

Todas las bacterias, de diferentes formas están encontrando el mecanismo de hacerse resistente a los antibióticos, la respuesta tan rápida y efectiva de evitar la acción de los antibióticos en los microorganismos puede explicarse con la teoría de la evolución clásica, las bacterias constantemente están mutando aleatoriamente, estas alteraciones genéticas generan ventajas en medios adversos [2]. Las bacterias como cualquier ser vivo tienen buena parte de su destino escrito en el ADN, esta cadena contiene las instrucciones básicas para la forma y funcionamiento de los diferentes seres vivos, cualquier función requiere replicar y transcribir esas instrucciones, millones de secuencias de bases leyéndose y formándose a cada momento, pero de vez en cuando se producen errores, estos errores producen una mutación o una diferencia genética [3]; la mayor parte son despreciables o incluso provocan la muerte de la bacteria, pero en algunos microorganismos puede ser útil y conferir una ventaja a la nueva bacteria, ahora esa bacteria se ha convertido en una bacteria resistente a los antibióticos [3]; en condiciones normales su competencia de supervivencia es grande y es difícil que su estirpe logre abrirse paso, pero si la bacteria crece en ambientes con presencia de antibióticos como los hospitales, las bacterias sensibles mueren, de esta forma su competencia desaparece, y la nueva bacteria con el gen que le confiere la resistencia comienza a extenderse.

Con el fin de tomar acciones para Bogotá D.C. sobre la resistencia microbiana a los diferentes antibióticos, se evaluó la resistencia de *Escherichia coli* a Ampicilina, Clindamicina y Meropenem en el agua residual del hospital de Suba II nivel E.S.E, para con ello proponer acciones de buen manejo y control de antibióticos con el fin de evitar que la resistencia microbiana aumente en centros médicos y hospitales.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar la resistencia a la Ampicilina, Clindamicina y Meropenem en *Escherichia coli* presente en vertimientos provenientes del Hospital de Suba II nivel E.S.E en la ciudad de Bogotá.

4.2. Objetivos específicos

Determinar la presencia de *Escherichia coli* en las muestras recolectadas en el vertimiento del Hospital de Suba II nivel E.S.E en la ciudad de Bogotá, para ser utilizada como indicador de resistencia.

Elaborar un diseño experimental de laboratorio para llevar a cabo la evaluación de resistencia en *Escherichia coli* a la Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.

Determinar el diseño muestral implementando un protocolo de toma de muestras en el vertimiento del Hospital de Suba II nivel E.S.E en la ciudad de Bogotá.

4.3. Pregunta de investigación

¿Se presenta resistencia de antibióticos de uso convencional en el Hospital de Suba II nivel E.S.E, específicamente, Ampicilina, Clindamicina y Meropenem en microorganismos como *Escherichia coli* en los vertimientos y el proceso de tratamiento de la planta de agua residual?

5.Marco de referencia

1. Marco conceptual

1.1. Definiciones

Antibiótico: Es una sustancia química producida por organismos vivos o derivados sintéticos que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento o matar bacterias y otros microorganismos sensibles aún a bajas concentraciones [4], [5].

Variable de interés: Corresponde al diámetro de halo de inhibición, variable cuantitativa continua.

Bacteria: Es un microorganismo procariota, unicelular con un tamaño entre 0,5 y 5 μm , estos microorganismos presentan diferentes morfologías como esferas, barras, hélices entre otras. [6]

Vertimiento: Es cualquier descarga líquida de un residuo o sustancia a un cuerpo de agua (vallados, lagunas, quebradas, ríos), alcantarillado o al suelo. [7]

Agua Residual: Es el resultado del uso doméstico o no doméstico del agua. [8]

Antibiograma: Técnica utilizada en el laboratorio para evaluar la actividad de los antibióticos o antimicrobianos frente a los microorganismos responsables de infecciones [9] .

Enzima: Moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, actúan sobre moléculas denominadas sustratos, las cuales se convierten en moléculas diferentes denominadas productos. A las reacciones medidas por enzimas se las denomina reacciones enzimáticas. [10]

Resistencia Bacteriana: Fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado de estos y por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico. [10]

Sensidiscos: Círculos de papel filtro de un diámetro aproximado de 6 mm impregnados de antibiótico, para ser probado en microorganismos y determinar su sensibilidad o resistencia de forma in vitro. [10]

1.2. Antecedentes

Diferentes investigaciones presentan resultados obtenidos al evaluar la resistencia en bacterias a antibióticos; Korzeniewska *et al.* [11] evaluaron la resistencia a partir de muestras tomadas en vertimientos hospitalarios y aguas residuales municipales después de pasar por un tratamiento de purificación, obteniendo como resultado que las cepas de *Escherichia coli* aisladas de efluentes hospitalarios se caracterizan por tener las tasas de resistencia más altas a diferencia de las aguas residuales municipales. Aproximadamente el 95,7% de estas cepas demostraron ser resistentes a la Cefotaxima

De esta manera se fundamenta que las bacterias resistentes a los antibióticos son sólo parcialmente eliminadas en plantas de tratamiento, por lo tanto si no se eliminan durante el proceso de purificación, estas terminan en el sistema de alcantarillado, llegando así a cuerpos de agua superficiales, donde pueden transferir la resistencia a otros microorganismos, motivo por el cual los sistemas de tratamiento de aguas residuales, podrían ser potencialmente una de las formas de difusión de bacterias resistentes a los antibióticos en el medio ambiente [11].

Otros estudios evaluaron vertimientos no hospitalarios; Feleke *et al.* [12], encontraron que la bacteria con mayor frecuencia fue *Klebsiella spp*, seguida de *Pseudomonas spp*, *Citrobacter spp*, *Staphylococcus aureus*, y *Escherichia coli*. Se obtuvo una prevalencia a la resistencia a múltiples fármacos del 81,5% en medio hospitalario y de 54,2% en el entorno no hospitalario. Se presentó que todos los aislamientos de *S. Aureus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter spp* y *Enterobacter spp* fueron 100% resistentes a la ampicilina.

Por otro lado, Pignato *et al.* [13], evaluaron la resistencia a antibióticos en *Escherichia coli* y *Aeromonas sp*, los resultados mostraron que la más alta resistencia en *Escherichia coli* se obtuvo para la ampicilina y amoxicilina, con un porcentaje de 57 y 45 respectivamente. Para los aislamientos de *Aeromonas sp* los mayores porcentajes se obtuvieron para esos mismos antibióticos, probablemente debido a una resistencia intrínseca de las bacterias hacia estos β-lactámicos. [13]

Con los resultados hasta aquí expuestos, *Escherichia coli* es la bacteria de mayor interés, ya que ha mostrado alta resistencia a la ampicilina, Cefotaxima y amoxicilina.

Por último, Tzoc *et al.* evaluaron la resistencia en *Escherichia coli*, en vertimientos tratados y no tratados, utilizados en la agricultura; se menciona que los patógenos entéricos pueden volverse resistentes a los antibióticos mediante la adquisición de plásmidos R conjugados. Sin embargo, hay relativamente pocos datos disponibles sobre la prevalencia de estos plásmidos en *Escherichia coli* en el agua residual utilizada para el riego. [14]. Los resultados del estudio muestran que la mayoría de los aislamientos fueron resistentes a la ampicilina; además se investigó la posibilidad de transferencia de resistencia, obteniendo que el 54% de los aislamientos demostraron ser capaces de transferir su resistencia a antibióticos a *Escherichia coli*, exponiendo entonces, que bacterias resistentes a los antibióticos pueden propagar sus genes de resistencia a organismos de la misma especie o de otras especies, principalmente por plásmidos R conjugados [14].

Referente a los tratamientos de aguas residuales, aunque demostraron ser eficaces en el cumplimiento de las normas microbiológicas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el uso seguro de las aguas residuales en la agricultura, eran ineficaces para reducir significativamente la resistencia a múltiples antibióticos. Estos datos contribuyen a plantear preguntas sobre la importancia de *Escherichia coli* multiresistentes que llevan plásmidos R conjugativos como reservorio de genes de resistencia en las aguas residuales, así como el papel de posibles cultivos contaminados cuando se riegan con aguas residuales tratadas, en la difusión de bacterias resistentes [14]

Por último, en enero del 2017 en Reno, Nevada, murió una mujer de 70 años al ser contagiada por una bacteria multiresistente, el centro de control de enfermedades de Atlanta (CDC) emitió en un reporte que la bacteria *Klebsiella pneumoniae* fue resistente a todos los antibióticos conocidos, a esta paciente le administraron 26 medicamentos para frenar la infección, pero los tratamientos fracasaron ante esta bacteria de la familia *enterobacteriaceae*. [15]

2. Marco contextual

2.1. Hospital de Suba II nivel E.S.E

El proyecto se realizó en la planta de tratamiento de agua residual del Hospital de Suba II nivel E.S.E, sub red norte, ubicado en la AK 104 # 152 C 50, Bogotá D.C, localidad de Suba.

Imagen 1. Hospital de Suba II nivel E.S.E.



Fuente: [13]

El agua residual del Hospital de Suba II nivel E.S.E proviene de los servicios médicos presentes en él, como salas de cirugía, partos, patología, laboratorio clínico, odontología y demás servicios especiales. (uso sanitario?). El centro médico cuenta con una planta de tratamiento de agua residual convencional, la planta tiene un dimensionamiento de 8 metros de largo por 6 metros de ancho, está ubicada en el parqueadero del hospital, cerca de los salones de descanso de vigilancia y de servicios generales. La planta está diseñada para tratar un caudal de flujo continuo de 0,62 l/s; cuenta con un proceso de tratamiento fisicoquímico que se comprende de lo siguiente [16], [17]:

- Estructura de entrada

Esta estructura es de acero inoxidable. Esta 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 agua residual tratada

Estructura de forma rectangular, ubicada en el piso al lado del tanque de ajuste de pH, con dimensiones de 50 cm de ancho, 60 cm de largo y 30 cm de profundidad.(Fotografía 1)

Fotografía 1. Caja de aforo agua residual tratada



Fuente: El Autor

- 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 disposición final en bolsas rojas como residuo peligroso (Fotografía 2).

Fotografía 2. Estructura de entrada y trampa de grasas.



Fuente: El Autor

- 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, son dos estructuras rectangulares consecutivas, en la primera aplican hipoclorito de calcio con el fin de oxidar la DBO y DQO, en el segundo se produce la homogenización del agua (Fotografía 3).

Fotografía 3. Tanque de homogenización



Fuente: El Autor

- Tanque de ajuste de pH

El tanque es cilíndrico, con un volumen de $0,63\text{m}^3$, un diámetro de $0,64\text{m}$ y altura total de $1,90\text{m}$. en este punto aplican cal con el fin de subir el pH entre 9 y 10 unidades de pH (Fotografía 4).

Fotografía 4. Tanque de ajuste de pH



Fuente: El Autor

- 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 adiciona policloruro de aluminio como coagulante, y aviflox130 como floculante. El floculador y el sedimentador conforman una sola estructura. 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 (Fotografía 5).

- 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 $0,068\text{m}^3$. (Fotografía 5)

Fotografía 5. Floculador y sedimentador



Fuente: El Autor

- **Bombeo a filtros**

Esta estructura recibe el agua proveniente del sedimentador, en caso de que el pH este fuera del rango entre 6 y 9 se aplica ácido nítrico, aunque no es común su uso; posteriormente cuando se presenta un volumen considerado de agua se activa automáticamente la bomba encargada de enviar el agua a los filtros.

- **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 gpm/pies². La tubería de descarga está ubicada en la parte superior del filtro (Fotografía 6).

- **Filtro de carbón activado**

En esta estructura se remueven por absorción los tensoactivos y otras sustancias orgánicas disueltas como compuestos fenólicos y DQO, entre otros (Fotografía 6).

- **Tanque espesador de lodos y prensa de lodos**

Se estima una producción de lodos 0,11 m³/h con una concentración de sólidos del 5%. En este tanque se aplica soda caustica y floculante 130 para la estabilización y adecuación de los lodos, la mezcla se produce con un agitador de paletas para alcanzar un pH de 9 unidades. 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 30psi. 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 (Fotografía 6).

Fotografía 6. Filtro de arena, filtro de carbón activado, espesador de lodos y prensa de lodos



Fuente: El autor

- 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 al tanque de homogenización, al tanque de pH, al 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, este dispositivo puede ser manipulado automática o manualmente por el operario.

El agua residual vertida por el hospital de Suba II nivel E.S.E al alcantarillado de la ciudad de Bogotá, se comunica con la tubería principal que pasa por la avenida carrera 104 con avenida

calle 153, desde este punto los vertimientos del hospital se combinan con vertimientos provenientes de las diferentes actividades que se desarrollan durante su curso hasta la planta de tratamiento de agua residual El salitre, de esta forma, los vertimientos provenientes del hospital realizan el recorrido hasta la calle 139 con avenida carrera 104, en este punto la tubería cambia de dirección y sigue la ruta de la calle 139 con avenida carrera 104 hasta la transversal 127 con calle 139, de la transversal 127 con calle 139 avanza hasta la calle 132b con carrera 129, en línea recta realiza el paso por el humedal Juan Amarillo y finalmente llega al canal de aguas negras de la planta de tratamiento de agua residual del Salitre.

3. Marco teórico

3.1. Antibiótico

Es una sustancia química producida naturalmente por organismos vivos o derivados sintéticos que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento o matar bacterias y otros microorganismos sensibles aún a bajas concentraciones [4], [5].

3.2. Según el origen de los antibióticos

- **Origen natural o biológico**

Los antibióticos se obtienen de cultivos de microorganismos que pueden ser hongos o bacterias [5].

- **Origen Semisintético**

Los antibióticos se obtienen a partir, de un núcleo básico de un agente obtenido de forma natural, donde se busca modificar algunas características químicas para poder mejorar sus propiedades, incrementar su actividad, aumentar el espectro de acción, disminuir los efectos adversos y facilitar su administración [5].

3.3. Actividad anti-infecciosa

Los agentes antimicrobianos se pueden comportar como bactericidas o como bacteriostáticos.

- **Bactericida**

Como su nombre lo indica, producen la muerte de los microorganismos responsables del proceso infeccioso. Son pertenecientes a este grupo los antibióticos como β -lactámicos, Aminoglucósidos, Rifampicina, Vancomicina, Polimixinas, Fosfomicina, Quinolonas y Nitrofurantoínas [5].

- **Bacteriostático**

Se caracterizan por inhibir el crecimiento bacteriano, es decir, que el microorganismo permanece presente, sin realizar ningún tipo de actividad, aun si se suspende el tratamiento médico o no se realiza un procedimiento medico apropiado, el microorganismo puede regenerarse y/o multiplicarse [5].

3.4. Mecanismo de acción

Los mecanismos de acción que los antibióticos utilizan para alterar la biología de los microorganismos son:

- **Inhibición de la síntesis de la pared celular**

El antibiótico impide la síntesis de la pared celular, cuyo componente principal es el Peptidoglucano. Se inhibe los sistemas enzimáticos correspondientes [4], este proceso se genera en diversas fases como β -lactámicos, Fosfomicina, Cicloserina, Vancomicina, Bacitracina.

- **Inhibición de la síntesis de proteínas**

Los antibióticos generan un bloqueo de la síntesis de proteínas actuando sobre los ribosomas y de esta manera afecta la vida de la bacteria, las síntesis de los ribosomas se realizan en tres etapas la iniciación, la elongación, transferencia y translocación y su correspondiente terminación.

- **Desorganización de la membrana citoplasmática**

La membrana celular constituye una barrera de permeabilidad y lleva a cabo funciones de transporte activo. Si la integridad funcional de la membrana se altera, los iones y macromoléculas se escapan y la célula se lesiona y muere.

- **Inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos**

Los mecanismos que utilizan los antibióticos para modificar la síntesis de los ácidos nucleicos, son:

- ☐ Interferencia en la replicación del ADN
- ☐ Impedimento de la transcripción
- ☐ Inhibición de la síntesis de metabolitos esenciales

3.5. Resistencia bacteriana

Debido a que algunas bacterias no son afectadas por ningún tipo de antibiótico, debido a diversos motivos, como carecer de blanco para el antibiótico, no dejar entrar el antibiótico al interior celular, modificar los sitios de unión del antibiótico, generar enzimas que destruyen el antibiótico, producción bombas de eflujo que eliminan el antibiótico, codificar genéticamente la información de resistencia y compartirlo con los demás microorganismos, el microorganismo es insensible o presenta resistencia natural. También puede presentarse que las especies sean sensibles al antibiótico, sin embargo en ciertas ocasiones pueden llegar a crecer en presencia del antibiótico y como forma de supervivencia genera resistencia, esto se llama resistencia adquirida, y es el tipo de resistencia de interés para los diferentes estudios [18]. Algunos mecanismos por los que se producen resistencias pueden ser:

- **Bloqueo del transporte de antibióticos**

Este mecanismo consigue resistencia a la Fosfomicina por pérdida del sistema de transporte del glicerol-fosfato [5], [18]

- **Modificación enzimática del antibiótico**

El cloranfenicol se inactiva por una acetilación catalizada por una cloranfenicol-acetiltransferasa [5], [18].

- **Producción de enzima alternativa, que evita efecto inhibitorio**

La resistencia a Trimetoprima se consigue al producir una dihidrofolatoreductasa diferente, que deja sin efecto la inhibición de la dihidrofolato-reductasa normal de la bacteria [5], [18]

- **Expulsión del antibiótico por un mecanismo activo de bombeo**

La Tetraciclina se expulsa de forma activa del interior de bacterias resistente [5], [18].

- **Modificación del sitio de acción del antibiótico**

La metilación del ARN 23S en una posición determinada da lugar a resistencia a los macrólidos, que no pueden fijarse en el ribosoma y producir así su efecto inhibitorio [5], [18].

3.6. Clasificación de los antibióticos

Los antibióticos se pueden clasificar con relación a la estructura química de los compuestos.

Tabla 1. Clasificación de los antibióticos

Grupo	Nombre	Antibiótico
I	B-láctamicos	Penicilinas, cefalosporinas, monobactams, Carbapenems
II	Aminoglucosidos	Gentamicina
III	Azúcares complejos	Clindamicina
IV	Polipeptídicos	Polimixina
V	Rifamicinas	Rifampicina
VI	Tetraciclinas	Clortetraciclina
VII	Amfenicoles	Cloramfenicol
VIII	Macrólidos	Eritromicina

IX	Misceláneos	Espectinomicina, virginiamicina, vancomicina, teicoplanina, capreomicina, cicloserina, fosfomicina, novobiocina, linezolid
X	Quimioterapéuticos antibacterianos	Sulfonamidas, sulfonamidas+trimetoprim, nitrofuranos, derivados de naftiridina y quinolonas
XI	Antifúngicos	Anfotericina B, imidazoles, griseofulvina, fluocitosina, nistatina, terbinafina
XII	Antivirósicos	Infecciones no VIH, infecciones VIH

Fuente: [5]

3.7. Características de los antibióticos del estudio

En la Tabla 2 se presenta un resumen de las características de importancia para 3 antibióticos, Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.

Tabla 2. Antibióticos de estudio

	Ampicilina	Clindamicina	Meropenem
Mecanismo de acción	Bactericida, inhibidor de la síntesis de pared celular	Inhibidor de síntesis de proteínas en la sub unidad 50s, es principalmente bacteriostático pero a concentraciones altas es bactericida.	Bactericida, inhibidor de formación de pared celular,
Farmacocinética	Vía oral	Se administra por vía oral, parenteral, tópica o vaginal.	Se administra por vía intravenosa
Absorción	Los alimentos inhiben la absorción de la Ampicilina, por lo cual, se debe administrar 1 hora antes o dos horas después de las comidas. Se puede administrar de forma oral o parenteralmente, obteniendo concentraciones máximas 1-2 horas después de la dosis [19].	En el tracto gastrointestinal en un 90% y por vía intramuscular, los alimentos retrasan la absorción, las concentraciones máximas se alcanzan de 45 a 60 minutos	Se absorbe vía intravenosa con una biodisponibilidad del 97%, no se absorbe vía oral
Distribución	Se concentra en el hígado, pulmones, orina riñón, próstata vejiga, vesícula biliar, efusiones del oído medio, secreciones bronquiales, entre otros [20], [21].	se distribuye ampliamente en órganos y tejidos, principalmente en huesos, bilis y orina. Cabe resaltar, que entre un 40 a 90% la dosis absorbida se une a las proteínas y se distribuye por los líquidos intra y extracelulares [26], [29]	Con una dosis de 500mg alcanza concentraciones plasmáticas de 45mg/ml, con dosis de 1000mg alcanza concentraciones de 112mg/ml

Excreción	Se elimina el 75 % en orina, 20% bilis, bajo porcentaje en saliva y leche materna, vida media de 1-1,5 horas.	Se metaboliza extensamente en el hígado para transformarse en N-demetilClindamicina y Clindamicina Sulfóxido y el resto se excreta por el riñón, vida media de 1,5 a 3,5 hora, se elimina 10% a 20% en la orina y de 3,6% a 4% por heces	Se elimina el 70% por orina en 12 horas y aproximadamente el 2% se elimina por heces, se puede eliminar por hemodiálisis.
Toxicidad	Poco probable con dosis equivalentes a 250 mg/kg o menos, para peso mayor a 40kg se establece 500 mg cada 6 horas, para peso menor a 40kg se considera 50mg/kg/día en intervalos de 6 a 8 horas	Algunas reacciones adversas que puede generar este antibiótico, son náuseas, cólicos, diarrea, caída de presión arterial, taquicardia, ictericia y anomalía de la función hepática. De acuerdo, a los valores establecidos para una sobredosificación, se establece la mortalidad en ratones en una dosis intravenosa de 885 mg/kg y en la dosis oral o subcutánea en ratas se estableció un valor de 2618 mg/kg	No se han establecido estudios de carcinogénesis. Se han llevado a cabo estudios sobre la reproducción en ratas con dosis de hasta 1000 mg/kg/día y en el mono en dosis de hasta 360 mg/día, sin que se generaran efectos adversos sobre la fertilidad o sobre los fetos. Algunos de los efectos adversos más frecuentes son náuseas, diarrea, constipación, flebitis entre otros.
Características Fisicoquímicas			
Solubilidad	Aproximadamente 1gm se disuelve en 90 ml de agua, 20 ml de metanol, 250 ml de etanol, 13 ml de Dimetilacetamida y menos de 10 ml de Sulfóxido de Dimetilo.	En agua, 30,61 mg/L a 25 ° C	En agua, $2.2 \cdot 10^3$ mg/L A 25°C, es soluble en fosfato de potasio e insoluble en acetona o éter
Constante de disociación	pKa de 2.5, 7.3 a 23° C	pKa 7.79	pKa 2.9-7.4
pH			De 4.0-6.0,
Propiedades espectrales	La rotación óptica es de 287,9° a 20° C (C=1 en agua)	La rotación óptica es de 214° a 25° C/D (cloroformo)	

Punto de Fusión	202 °C		
Tolerancias admisibles	Se establece una tolerancia de 0.01 mg para los residuos de Ampicilina en los tejidos comestibles sin cocer de cerdos, ganado y leche		
Uso	Para el tratamiento de las infecciones urinarias, producidas por enterococos gérmenes sensibles como <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Bordetella pertussis</i> , y algunos bacilos entéricos como <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> , y <i>Shigella</i> .	Para el tratamiento de Anaerobios Gram-negativos (<i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Veillonella</i>), anaerobios Gram-negativos (<i>Eubacterium</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Actinomyces spp.</i> , <i>Peptococcus spp.</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> , estreptococos microaerófilos y muchas cepas de <i>Clostridium perfringens</i> y <i>Clostridium tetani</i>), aerobios Gram-positivos (<i>S. aureus</i> y <i>S. epidermidis</i> , estreptococos (excepto <i>Streptococcus faecalis</i>); neumococos; <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Las infecciones intra abdominales (Apendicitis y peritonitis), infección en el tracto respiratorio, la meningitis, infección en los tejidos blandos, suelen ser tratados con este antibiótico, mientras que algunos microorganismos sensibles son, <i>Bacteroides fragilis</i> ; <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Haemophilus influenzae</i> (beta-lactamasa negativos); <i>Haemophilus influenzae</i> (beta-lactamasa positivos); <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Neisseria meningitidis</i> ; <i>Peptostreptococcus sp.</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Streptococcus pneumoniae</i> ; <i>Viridans streptococci</i>

Fuente: [18], [19], [20]. [21], [22], [23], [24], [25], [26], [27], [28], [29], [30], [31], [32], [33], [34], [35], [36].

4. Aguas residuales hospitalarias

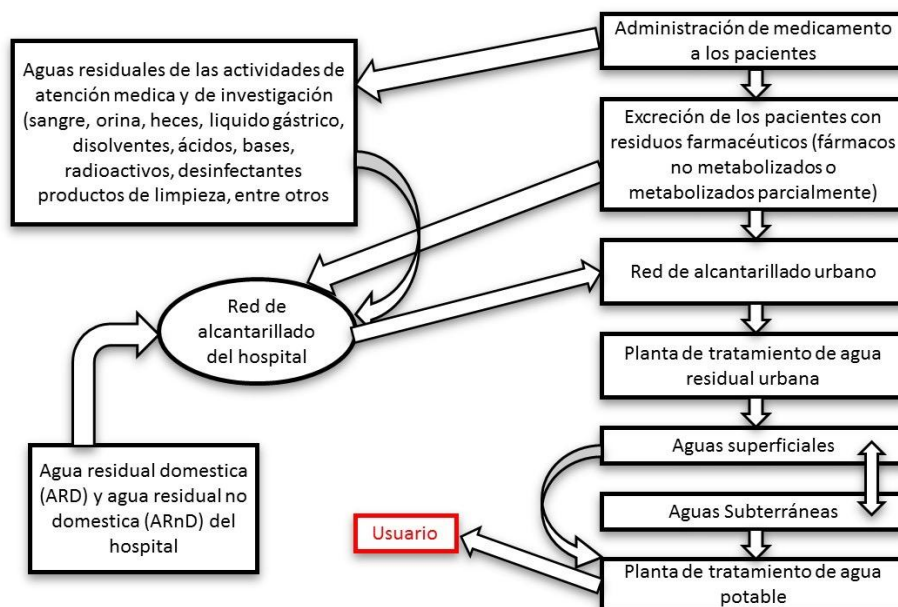
En la mayoría de hospitales a nivel mundial, el agua residual generada contiene una gran diversidad de compuestos; el agua residual de estos establecimientos es capaz de transportar virus, bacterias multiresistentes, fármacos no metabolizados o parcialmente metabolizados por pacientes, solventes, radioisótopos, desinfectantes y demás sustancias que son utilizadas convencionalmente en las labores diarias de un hospital [3]. La mezcla de estas sustancias complejas produce interacciones sinérgicas y antagónicas entre ellas y el ambiente, produciendo así la actividad tóxica, mutagénica y genotóxica en ecosistemas acuáticos [2].

En los centros poblados las descargas de agua residual hospitalaria se producen al alcantarillado, este efluente es transportado hasta las plantas de tratamiento municipales, y vertidas finalmente en fuentes hídricas, por otro lado, existen hospitales con conexiones directas a las fuentes hídricas incluso sin tratamiento previo. El agua residual hospitalaria vertida al alcantarillado o fuentes hídricas, sin tratamiento o con un tratamiento inapropiado, genera riesgos potenciales a los balances biológicos, incentiva los daños a los ecosistemas y eleva los riesgos en la salud pública (Imagen 2), por esta razón la importancia de los tratamientos del agua residual hospitalaria diferente al convencional se hace inherente.

Los antibióticos suelen ser detectados en elevadas concentraciones en los efluentes hospitalarios, por lo que esto puede contribuir a la resistencia múltiple de los antibióticos, ya sea por presencia de los antibióticos en la descarga o por la transmisión de factores de resistencia hacia las bacterias pertenecientes a las aguas superficiales [37].

Algunos estudios realizados han generado resultados de cantidades de antibióticos descargados en las aguas residuales generados en hospitales, en países europeos que corresponden a una concentración media total en aguas residuales municipales de 50 µg/L. Se estima que los compuestos halogenados, se encuentran en concentraciones de 10 mg/L, mezclados con sustancias como yodo de las radiografías, solventes, desinfectantes y agentes limpiadores [37].

Imagen 2. El problema ambiental con las aguas residuales hospitalarias



Fuente: [38]

4.1. Aspectos en la detección de medicamentos en aguas residuales en el medio ambiente.

Muchos medicamentos, se caracterizan por ser compuestos formados por moléculas grandes y químicamente complejas con una determinada función, estructura química, peso molecular, entre otras, por lo cual, son sustancias farmacológicamente activas que poseen una persistencia elevada en el medio ambiente; la persistencia de compuestos como Eritromicina, Naproxeno, Ciclofosfamida y ácido Clofibridico, pueden ser mayor a un año con riesgo a bioacumularse [37].

A determinadas dosis de los compuestos, el organismo absorbe, distribuye, transforma y excreta un porcentaje del medicamento, debido a esto, frecuentemente se descargan en las plantas de tratamiento de aguas residuales niveles de concentración de residuos de antibióticos o compuestos órgano-halogenados que se debían degradar dentro del proceso [37].

4.2. Efectos de residuos de medicamentos en los organismos.

A nivel mundial, productos químicos farmacéuticos producidos y usados en la medicina, son desechados en gran medida, en el medio generando efectos adversos en los organismos acuáticos y terrestres. Algunos estudios han detectado problemáticas en algunas especies de peces, como la acumulación de los componentes activos de medicamentos antidepresivos en el cerebro, hígado y músculos. También, se encontraron algunas alteraciones en los insectos en cuanto, a su comportamiento y fisiología, en las plantas acuáticas y algas ya que inhiben y estimulan su crecimiento y el desarrollo de bacterias resistentes [37].

4.3. Toxicidad en aguas residuales hospitalarias.

Muchos compuestos químicos provenientes de los hospitales, se encuentran en las aguas residuales que pueden generar un riesgo genotóxico, o afectar la comunidad de organismos encargados de la degradación de la materia orgánica en los procesos biológicos de las plantas de tratamiento. La ecotoxicidad de las aguas residuales de un hospital varía considerablemente durante las 24 horas, teniendo un crecimiento de la toxicidad desde las 8am hasta las 12pm y de las 5pm hasta las 8pm [37], [39].

4.4. Distribución geográfica de bacterias resistentes a los antibióticos.

Según datos clínico-epidemiológicos, en América Latina los aislamientos de *Enterobacteriaceae* demostraron que el 58% de *K. pneumoniae* y el 32% de *Escherichia coli* eran productoras de

betalactamasas con espectro extendido (BLEE). En países como Colombia, Perú, Chile, Brasil, Argentina y Venezuela se ha reportado resistencia a la carbapenemasa; en aislamientos realizados se encontró que *Acinetobacter spp* con un 21% y *P. aeruginosa* con un 45% eran resistentes a Carbapenemasa. [40].

4.5. Acciones para combatir la problemática de las infecciones resistentes los antibióticos

Una de las principales problemáticas para combatir o mitigar los organismos resistentes a los antibióticos, es la falta de mecanismos adecuados por parte de los países y los gobiernos para establecer estudios, y establecer medidas efectivas para la vigilancia y el control de los antibióticos y los microorganismos que posea un enfoque global.

La OMS, el Centro de Control de Infecciones de los Estados Unidos (CDC), el programa SENTRY, el Consorcio Internacional de Control de Infecciones Nosocomiales (INICC), son algunas de las principales organizaciones encargadas de controlar y manejar estas temáticas y permitir conocer las infecciones y/o el riesgo al que se expone los organismos. Sin embargo, la falta de conocimiento, las políticas poco eficientes, las administraciones y el factor monetario, son algunos de los factores que han frenado el desarrollo y la puesta en marcha de acciones claras y oportunas que ayuden a combatir las infecciones generadas por los organismos resistentes y prevenir su propagación [40].

4.6. Antibióticos según la concentración en los distintos cuerpos de agua

Tabla 3. Concentración de los antibióticos según el ambiente donde se localice.

Tipo de agua	Antibiótico	Concentración detectada (µg/L)
Agua potable	Ácido oxolínico, Eritromicina, Flumequina, Roxitromicina, Sulfametoxazol, Tilosina, Sulfonamida	1,2 -270
Rio	Cloranfenicol, clortetraciclina	60-160
Agua superficial	Amoxicilina, Cefaclor, Cefalexina, Cloranfenicol, Ciprofloxacina, Claritromicina, Clindamicina, Demeclociclina,, Doxicilina, Enrofloxacin, Eritromicina, Lincomicina, Nomensina, Norfloxacin, Oleandomicina, Oxitetraciclina, Penicilina G, Penicilina V,	0,19-15000
Agua residual hospitalaria	Amoxicilina, Cefalexina, Ciprofloxacina Clindamicina, Doxiciclina, Enrofloxacin, Lincomicina, Norfloxacin	0,29-130
Efluente PTAR	Ciprofloxacina, Claritromicina, Cloranfenicol, Doxicilina, Eritromicina Norfloxacin, Ofloxacin, Roxitromicina	1-560

Fuente: [5], [41], [42], [43], [44]

5. Resistencia de *Escherichia coli* a los antibióticos

5.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, es un bacilo Gram-negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, generalmente se encuentra en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales. Esta bacteria se le considera un microorganismo de flora intestinal normal, sin embargo, existen cepas que pueden ser patógenas y ocasiona daño produciendo diferentes cuadros clínicos, como diarrea [45].

Debido, a su elevada presencia en el tracto gastrointestinal y en las heces, se utiliza como un indicador primordial para la presencia de contaminación fecal para la evaluación de la inocuidad de alimentos y agua [46]. Las *Escherichia coli*, consideradas patógenas, se caracterizan por su capacidad de provocar enfermedades mediante mecanismos genéticamente controlados, específicamente la producción de toxinas, la adhesión e invasión de células huéspedes, la interferencia con el metabolismo celular y la destrucción de tejidos [45].

- **Condiciones de crecimiento**

Las cepas de *Escherichia coli* verotoxigénica, pueden sobrevivir durante unos meses en el estiércol contaminado de las aguas superficiales, ya sea, para bebida o riego; en las verduras y frutas y la superficie de las tierras de cultivo. Se multiplican a temperaturas entre 6°-50 °C, y su temperatura óptima es de aproximadamente de 37°C, se caracterizan por crecer en presencia de 6% de NaCl; son termo resistentes, pero pueden ser eliminados con un tratamiento térmico a 65°C [47].

Tabla 4. Condiciones apropiadas para el crecimiento de *Escherichia coli*

Características	Mínimo	Optimo	Máximo
Temperatura °C	7-8	35-40	46
pH	4.4	6-7	10
Actividad en el agua	0.950	0.995	-

Fuente: [47]

- **Grupos de patógenos de *Escherichia coli*.**

De acuerdo al tipo de infección que provocan, se dividen en dos grupos, el primero constituido por las cepas responsables de las infecciones extra intestinales, generadas en el tracto urinario, sepsis y meningitis, mientras que el otro grupo, está constituido por cepas patógenas intestinales que produce las infecciones gastrointestinales [48](Tabla 5).

Tabla 5. Grupos patógenos de *Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i> <i>enterotoxigénica.</i>	Coloniza la mucosa del intestino delgado por medio de pilis, de esta forma sintetiza enterotoxinas "toxinas termoestables". El periodo de incubación es de 14 a 50 horas, se evidencia diarrea aguda en pacientes infectados.
<i>Escherichia coli</i> <i>enterohemorrágica.</i>	Sintetiza proteínas que se unen a la sub unidad 60s de los ribosomas en las células intestinales o renales. Se evidencia dolor abdominal y diarrea acuosa con sangre en pacientes infectados
<i>Escherichia coli</i> <i>enteroinvasiva</i>	Invade el epitelio del colon, allí se adhiere la bacteria a las vellosidades de la mucosa por lo que requiere de mucinasa y adhesinas, para así, poder entrar por endocitosis a la célula y posteriormente poder multiplicarse dentro de la célula

<i>Escherichia coli</i> <i>enteropatógena</i>	Genera un proceso de adherencia entre la bacteria y la membrana de las células pertenecientes al epitelio intestinal, produce la destrucción de la microvellosidad, seguida de una alteración del cito esqueleto en el sitio de la unión de la bacteria, ya que, se incrementa los niveles de calcio intracelular y de la proteína Cinasa C. Se evidencia diarrea en niños principalmente.
--	--

Fuente: [46].

La *Escherichia coli*, se caracteriza por presentar una especial resistencia a los antibióticos β -lactámicos; el uso excesivo de los antibióticos ha generado un incremento en la resistencia de muchos microorganismos a nivel mundial. Las infecciones generadas por las cepas patógenas de *Escherichia coli*, tratadas con antibióticos como la Ampicilina, Sulfametoxazol/Trimetoprim, Ciprofloxacina, tetraciclina y estreptomina, ha generado una mayor resistencia para poder ser tratadas adecuadamente, tanto en los humanos como en los animales [48].

6. Metodología

6.1. Diseño experimental para la toma de muestreos.

Para efectos de la aplicación del diseño de experimentos, se definió lo siguiente:

- ☐ **Tratamiento:** Corresponde a cada uno de los antibióticos a evaluar.
- ☐ **Factor de bloqueo:** Corresponde a cada una de las fases de tratamiento del agua residual.
- ☐ **Factor de bloque de muestra:** Considerando que las mediciones se harán por sub-muestreo en diferentes fases de la planta de tratamiento de agua residual (agua residual antes del tratamiento y agua residual después del tratamiento), se debió considerar el bloqueo por la muestra.
- ☐ **Variable de interés:** Corresponde al diámetro de halo de inhibición, variable cuantitativa continúa.

El diseño propuesto es por bloques completamente aleatorizados, involucrando dos vías de bloqueo, de esta forma en la elaboración del diseño interesa conocer cuántas muestras n debieron ser seleccionadas en cada una de las fases (*agua residual no tratada y agua residual tratada*).

El mecanismo para obtener el tamaño de muestra se realizó por medio de la siguiente fórmula:

Donde, λ corresponde a la estimación del parámetro de no centralidad de la distribución

$F_{a-1, N-a}$

es la estimación de los efectos de los tratamientos en una prueba piloto

: varianza estimada de los errores.

n : es el tamaño de muestra a determinar.

Dado que no se dispone de información *a-priori* para obtener la respectiva estimación, más aún la de λ , es necesario realizar un proceso de simulación de las mediciones de los resultados de los antibiogramas considerando diferentes escenarios.

6.1.1. Proceso de simulación

Utilizando la propiedad del modelo lineal que se encuentra asociado al diseño del experimento, donde la varianza de los errores se trasmite en el modelo, se tiene que:

$$e_i \sim N(0, \sigma^2)$$

De forma que:

$$Y \sim N_n(Y, \sigma^2 I)$$

La varianza de los errores σ^2 se estima a través del cuadrado medio de los errores, que en este caso se puede estimar a través de escenarios de simulación sobre las medidas de los antibiogramas, de acuerdo a lo siguiente:

Se contemplaron escenarios, definidos por la distribución uniforme continua y la distribución beta ampliada al rango de $Y \in [0, 5]$. A continuación, se muestran los resultados del proceso de simulación de diez mil mediciones de antibiogramas para el experimento propuesto y en cada escenario, para un total de 250.000 simulaciones de diámetros de halos de inhibición.

Para uno de los escenarios propuestos y contemplando muestras desde 10 mediciones de antibiogramas hasta 10.000 mediciones, se calculó la esperanza matemática empírica de la varianza de los datos simulados, obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 6):

Tabla 6. Esperanza matemática empírica de la varianza de los halos de inhibición simulados por escenario.

Distribución del halo de inhibición	Varianza estimada de los errores
U(0,5)	2,083012
~Beta($\alpha = 1, \beta = 2$)	1,389207
~Beta($\alpha = 1, \beta = 3$)	0,9373656
~Beta($\alpha = 1, \beta = 4$)	0,6666164
~Beta($\alpha = 1, \beta = 5$)	0,4958649
~Beta($\alpha = 2, \beta = 1$)	1,389023

$\sim\text{Beta}(\alpha = 2, \beta = 2)$	1,249852
$\sim\text{Beta}(\alpha = 2, \beta = 3)$	1,000288
$\sim\text{Beta}(\alpha = 2, \beta = 4)$	0,7932409
$\sim\text{Beta}(\alpha = 2, \beta = 5)$	0,6380915
$\sim\text{Beta}(\alpha = 3, \beta = 1)$	0,936884
$\sim\text{Beta}(\alpha = 3, \beta = 2)$	1,000214
$\sim\text{Beta}(\alpha = 3, \beta = 3)$	0,8928938
$\sim\text{Beta}(\alpha = 3, \beta = 4)$	0,7652088
$\sim\text{Beta}(\alpha = 3, \beta = 5)$	0,6509876
$\sim\text{Beta}(\alpha = 4, \beta = 1)$	0,666165
$\sim\text{Beta}(\alpha = 4, \beta = 2)$	0,7938344
$\sim\text{Beta}(\alpha = 4, \beta = 3)$	0,7652914
$\sim\text{Beta}(\alpha = 4, \beta = 4)$	0,6943358
$\sim\text{Beta}(\alpha = 4, \beta = 5)$	0,6173494
$\sim\text{Beta}(\alpha = 5, \beta = 1)$	0,4957159
$\sim\text{Beta}(\alpha = 5, \beta = 2)$	0,6384563
$\sim\text{Beta}(\alpha = 5, \beta = 3)$	0,6512063
$\sim\text{Beta}(\alpha = 5, \beta = 4)$	0,6173416
$\sim\text{Beta}(\alpha = 5, \beta = 5)$	0,568042

Fuente: El Autor

6.1.2. Estimación del tamaño de muestra

Dadas las simulaciones realizadas, es posible obtener una aproximación a la varianza de los errores que se involucran en el modelo del diseño experimental, sin embargo es necesario castigar la desinformación por lo que la varianza de errores simulada se debió maximizar, además se busca un comportamiento de los datos cercano a la realidad en cuanto a los parámetros de asimetría y curtosis, por lo que se toma la varianza determinada a partir de la simulación con la distribución $\sim\text{Beta}(\alpha=2; \beta=2)$.

En el orden de la desinformación, no es posible conocer tampoco las estimaciones de los efectos de los tratamientos definidos en el experimento (i), por lo tanto se hará uso de la mínima diferencia significativa.

De acuerdo a lo anterior a continuación se calcula el tamaño de muestra controlado por la potencia de la prueba en los tratamientos, con la ayuda del programa R Project for Statistical Computing se procedió a realizar el cálculo de la siguiente forma:

```
> n<-seq(1,12,by=1)
> D<-seq(0.1,1.5,by=0.1)
> Potencia<-matrix(c(NA),nrow = length(n),ncol = length(D))
> for(i in 1:length(n)){
+ for(j in 1:length(D)){
+ Lambda<-((10*n[i])*(D[j]^2))/(3*1.249852)
+ Percentil<-qf(0.95,df1 = 2,df2 = (6*n[i] - 3))
+ Potencia[i,j]<-pf(q = Percentil,df1 = 2,df2 = (6*n[i] - 3),ncp =
Lambda,lower.tail = FALSE)
+ }
+ }
+ }
> rownames(Potencia)<-n
> colnames(Potencia)<-D
> Potencia
```

El resultado obtenido es la matriz de potencias para identificar el número de muestras (n) que se debían realizar en cada fase de la PTAR (agua residual no tratada y agua residual tratada)

	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7
1	0,05121104	0,05485474	0,06096114	0,06957462	0,0807462	0,09452377	0,1109417
2	0,05410911	0,06672957	0,08865320	0,12092132	0,1644553	0,21963901	0,2859477
3	0,05699224	0,07882486	0,11764617	0,17573917	0,2539537	0,35029015	0,4592881
4	0,05988310	0,09119397	0,14777207	0,23259744	0,3441535	0,47421859	0,6088261
5	0,06279095	0,10384528	0,17881209	0,29024313	0,4313872	0,58468350	0,7273668
6	0,06571887	0,11676428	0,21052003	0,34757222	0,5130879	0,67871613	0,8158089
7	0,06866798	0,12992950	0,24265608	0,40367168	0,5876633	0,75594123	0,8788089
8	0,07163860	0,14331729	0,27499689	0,45781936	0,6543085	0,81755302	0,9220593
9	0,07463072	0,15690344	0,30733888	0,50946941	0,7128155	0,86554126	0,9508637
10	0,07764413	0,17066391	0,33949919	0,55823254	0,7634002	0,90216488	0,9695632
11	0,08067855	0,18457518	0,37131554	0,60385436	0,8065591	0,92962877	0,9814397
12	0,08373364	0,19861436	0,40264571	0,64619407	0,8429548	0,94991012	0,9888403
	0,8	0,9	1	1,1	1,2	1,3	1,4
1	0,1300106	0,1517081	0,1759718	0,2026947	0,2317231	0,2628573	0,2958550
2	0,3617266	0,4441952	0,5297034	0,6141941	0,6937670	0,7652083	0,8263650
3	0,5726505	0,6810092	0,7761721	0,8529386	0,9098121	0,9485074	0,9726855
4	0,7324040	0,8329618	0,9054393	0,9516882	0,9778082	0,9908622	0,9966349
5	0,8410199	0,9184016	0,9633967	0,9857272	0,9951820	0,9985965	0,9996480
6	0,9094926	0,9622715	0,9867600	0,9961108	0,9990478	0,9998063	0,9999673
7	0,9502689	0,9833213	0,9954650	0,9990062	0,9998252	0,9999754	0,9999972
8	0,9734834	0,9928984	0,9985151	0,9997591	0,9999698	0,9999971	0,9999998
9	0,9862228	0,9970714	0,9995320	0,9999441	0,9999950	0,9999997	1,0000000
10	0,9930018	0,9988252	0,9998572	0,9999875	0,9999992	1,0000000	1,0000000

11	0,9965154	0,9995401	0,9999577	0,9999973	0,9999999	1,0000000	1,0000000
12	0,9982955	0,9998237	0,9999878	0,9999994	1,0000000	1,0000000	1,0000000
	1,5						
1	0,3304369						
2	0,8762925						
3	0,9865605						
4	0,9988937						
5	0,9999241						
6	0,9999954						
7	0,9999998						
8	1,0000000						
9	1,0000000						
10	1,0000000						
11	1,0000000						
12	1,0000000						

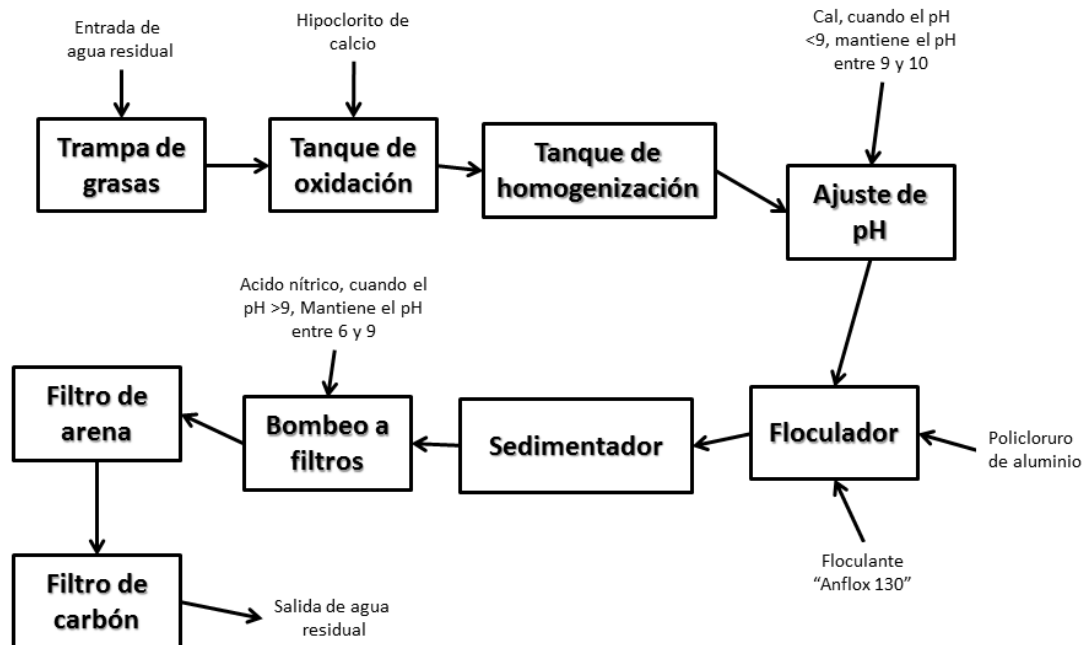
Los resultados anteriores contienen en las columnas la diferencia mínima significativa en centímetros y en las filas el tamaño de muestra.

De acuerdo a lo anterior con una diferencia mínima significativa de 1 cm en los halos de inhibición se alcanza una potencia de 0,9054393 para un tamaño de muestra igual a 4 en cada uno de los puntos de muestreo en la planta de tratamiento, y por cada día, por tanto, el tamaño de muestra total son 40 alícuotas de agua residual, para los 5 días establecidos de muestreo (lunes a viernes), además se asegura el balanceo del experimento lo cual es aconsejable para evitar la pérdida de potencia.

6.1.3. Esquema de aleatorización

Teniendo en cuenta el proceso de tratamiento de agua residual del Hospital de Suba II nivel E.S.E (imagen 3), la aleatorización de las 40 muestras (4 cada día en cada fase del proceso) de cada una de las fases de muestro, se realizó de la siguiente manera (tabla 7):

Imagen 3. Diagrama de bloques de la planta de tratamiento de agua residual.



Fuente: El Autor

Tabla 7. Tiempos de muestreo por día.

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Muestra 1	0	0	0	0	0
Muestra 2	14	10	12	11	12
Muestra 3	14	11	11	15	14
Muestra 4	12	13	12	13	13

Fuente: El Autor

Para realizar el muestreo en la planta de tratamiento de agua residual del Hospital de Suba II nivel E.S.E del agua cruda y el agua tratada se evidenció un chorro de agua continuo (Fotografía 7), por esta razón se consideró que los números que aparecen en las columnas corresponden al tiempo que se debió esperar en minutos para recoger la siguiente muestra, por ejemplo para el primer día de muestreo se procedió a realizar el primer muestreo, a partir de la recolección de la primera muestra se debió esperar 14 minutos para recoger la segunda muestra, así mismo para la tercer muestra se debió esperar 14 minutos después del segundo muestreo, y para la cuarta

muestra se debió esperar 12 minutos desde el momento en que se realizó la recolección de la tercer muestra.

Fotografía 7. Salida del agua residual tratada de la planta de tratamiento



Fuente: El autor

Los tiempos fueron concebidos por el programa estadístico (R Project for Statistical Computing) donde se facilita la aleatorización de tiempos de muestreo en intervalos de 10 a 15 minutos de la siguiente forma:

```
> ## Aleatorización de los tiempos de aforo
> Tiempodemuestreo<-matrix(c(NA),ncol=5,nrow=4)
> Tiempodemuestreo[1,]<-c(rep(0,5))
> for(i in 2:4){
+ for(j in 0:5){
+ Tiempodemuestreo[i,j]<-round(runif(1,min = 10,max = 15),0)
+ }
+ }
> colnames(Tiempodemuestreo)<-c("Día 1","Dia 2","Dia 3","Dia 4","Dia 5")
> rownames(Tiempodemuestreo)<-c("Muestra 1","Muestra 2","Muestra 3","Muestra 4")
> Tiempodemuestreo
```

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Muestra 1	0	0	0	0	0
Muestra 2	14	10	12	11	12
Muestra 3	14	11	11	15	13
Muestra 4	12	13	12	13	13

6.2. Muestreo

6.2.1. Elementos de protección

La bioseguridad fue de gran importancia para la programación y recolección de los muestreos dentro de la PTAR del Hospital de Suba II nivel E.S.E, es por esto que se debió tener en cuenta como una actividad previa para dar inicio al muestreo, esta se desarrolló con el propósito de proteger la integridad personal por el constante contacto con la gran diversidad de componentes recepcionados por la PTAR del Hospital de Suba II nivel E.S.E, además de esto el no uso de los elementos de protección personal puede llegar a alterar la calidad de la muestra, los elementos de protección personal utilizados durante la realización de los muestreos fueron:

- ☐ Bata
- ☐ Guantes
- ☐ Gafas
- ☐ Tapabocas

6.2.2. Tipos de muestras

Debido a los objetivos del proyecto solo se tuvo en cuenta el tipo de muestra microbiológico, allí se encontró y se aisló *Escherichia coli* para someterlo a la prueba de sensibilidad o resistencia a los antibióticos.

6.2.3. Recipientes para la recolección de muestras

Los recipientes utilizados durante la toma de muestras en el Hospital de Suba II nivel E.S.E fueron frascos para el almacenamiento de orina (Imagen 4) con un volumen aproximado de una

onza, estos frascos permanecieron estériles hasta su uso, eran de boca ancha lo que facilitó la toma de muestras.

Imagen 4. Recipiente para la recolección de orina.



Fuente: [49]

6.2.4. Recolección de muestras

La recolección de muestras se basó en el diseño muestral elaborado, allí se estableció que se realizarían 5 días de muestreo, estos días se caracterizaron por ser días hábiles (lunes, martes, miércoles, jueves y viernes). Esta determinación se basó en los días donde la PTAR genera la mayor cantidad de vertimientos para el tratamiento, además de esto se cuenta con la presencia del operario; los días sábado es intermitente la presencia del operador debido a que es un día destinado para capacitaciones y demás actividades para el mejoramiento continuo de la operación de la planta y del operador, el día domingo es día de descanso para los operarios de la planta por lo cual no se tuvo ingreso a la PTAR, los días sábado y domingo no se tuvieron en cuenta para la elaboración del tamaño de muestra.

Los muestreos fueron realizados a la entrada y salida de la planta de tratamiento de agua residual (Fotografía 8).

Fotografía 8. Puntos de muestreo (Entrada: fotografía de lado izquierdo, Salida: fotografía de lado derecho).



Fuente: El Autor

En cada intervalo de tiempo (Tabla 7) se procedió a realizar un muestreo en la entrada, consecutivamente se realizó el muestreo en la salida de la planta de tratamiento, posteriormente, cada muestreo fue rotulado con el número de muestreo (muestreo1 o muestreo2 o muestreo3 o muestreo4), fecha, hora de muestreo y lugar del muestreo (antes o después del tratamiento), terminado este procedimiento, el paso siguiente fue almacenar las muestras en una caja de icopor con gel refrigerante en su interior (Fotografía 9) para su conservación durante el desplazamiento hasta su respectivo lugar de análisis.

Fotografía 9. Almacenamiento de los muestreos para su conservación.



Fuente: El autor

6.3. Análisis de laboratorio

6.3.1. Preparación de medios.

Se realizaron diversas pruebas para la selección del medio de cultivo apropiado y efectivo, los estándares dependieron del fácil crecimiento y la fácil identificación de *Escherichia coli* en medios selectivos. El inventario de medios selectivos para *Escherichia coli* ofrecidos por el laboratorio de la universidad fue Agar MacConkey y Agar EMB (eosin methalyne blue agar).

El agar MacConkey se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae* se desarrollan en el mismo, la presencia de *Escherichia coli* se evidencia de color rosado [50].

El agar EMB es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae* [51]. La presencia de *Escherichia coli* en este medio se evidencia en forma de un color verde brillante.

El color verde brillante obtenido en el medio de cultivo EMB fue la principal característica para su elección, esto es debido a que facilita el conteo de colonias sin confusión, además de esto en el momento de aislamiento su identificación es representativamente alta, lo cual disminuyó el error en la selección de colonias aisladas.

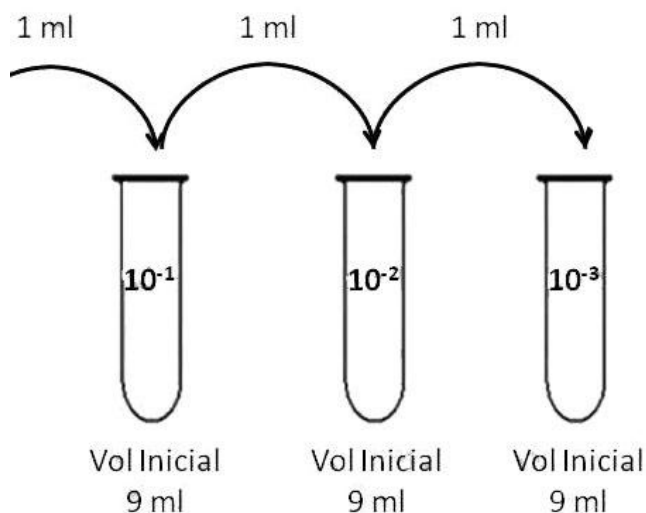
6.3.2. Dilución de agua residual

Debido a la incertidumbre de la carga bacteriana presente en el agua residual que fue muestreada, se realizaron tres diferentes diluciones de la siguiente forma:

Se realizó una dilución de 10^{-1} donde se toma un mililitro de agua residual captada del hospital y se depositó en un tubo de ensayo con 9 ml de agua con solución salina, este procedimiento se debió realizar con micro pipeta, la dilución de 10^{-2} se realizó tomando un mililitro de la dilución antes realizada (10^{-1}) y depositándola con ayuda de la micro pipeta en un tubo de ensayo con 9 ml de agua con solución salina, la dilución de 10^{-3} se realizó tomando un mililitro de la dilución

antes realizada (10^{-2}) y depositándola con ayuda de la micro pipeta en un tubo de ensayo con 9 ml de agua con solución salina 0.85% (Imagen 5).

Imagen 5. Diluciones.



Fuente: El Autor

6.4. Siembra de microorganismos

Con los medios preparados y las diluciones listas se procedió a realizar el sembrado de microorganismos en cada placa o caja Petri, para este proceso fue necesario un mechero de bunsen o cualquier otro dispositivo que reemplace su principio, asa de Drigalsky o rastrillo bacteriológico y una micro pipeta.

Con la micro pipeta y cerca del calor de la llama de fuego se procedió a succionar 0,1 ml de solución que está contenida en los tubos de ensayo, después de esto se abrió la caja Petri de forma reducida y se depositó la solución dentro, con el asa de Drigalsky se esparció el inóculo por todo el agar para conseguir un crecimiento uniforme.

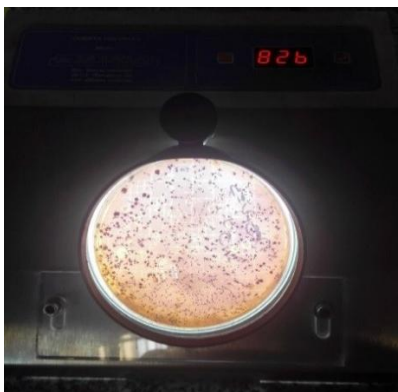
Este procedimiento se debió repetir para las diferentes diluciones y muestreos realizados en el laboratorio.

Después de realizar todo el proceso de siembra se debió colocar la caja Petri boca abajo en la incubadora a temperatura constante de 37°C por 24 horas, transcurrido el tiempo se debió verificar los resultados y realizar el conteo e identificación de unidades formadoras de colonia de *Escherichia coli*.

6.5. Identificación y conteo de colonias de *Escherichia coli*.

Pasadas las 24 horas en proceso de incubación, las unidades formadoras de colonia de *Escherichia coli* realizaron su respectivo crecimiento. Se procedió a ejecutar el recuento de dichas colonias visibles en la cuenta colonias, la forma de identificación fue el color verde brillante presente en la placa de agar, cada punto verde brillante dentro de la caja Petri fue reportada como una unidad formadora de colonia, el dispositivo posee luminosidad para una mayor visibilidad y precisión en los datos, tiene registro electrónico con salida auditiva para verificar la entrada de datos, tablero de 3 dígitos de color rojo y auto cero, acepta placas de Petri de 10 cm (Fotografía 6) .

Fotografía 10. Recuento de colonias en la cuenta colonias.



Fuente: El autor

Terminado el proceso de conteo, se procedió a determinar el número de unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml) o unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de la siguiente forma:

Factor de dilución*= Inversa de la dilución.

De esta manera tenemos que $10^{-1} = 10$, $10^{-2} = 100$...

Por ejemplo,

Si, el número de colonias contadas fue 826 y el factor de dilución es 10^{-1} , (para todas las siembras ejecutadas el volumen de inóculo sembrado fue 0,1 ml) por lo tanto este valor será una constante.

Por lo tanto, para este ejemplo se tiene 82.600 UFC/ml

Cuando se realiza más de una dilución para cada uno de los parámetros se garantiza los resultados obtenidos, el método disminuye el margen de error y abaliza la calidad de las pruebas.

Para obtener el resultado por duplicado se aplica la siguiente formula.

Por ejemplo,

En la muestra “Antes 1” tenemos que

La dilución 1 (10^{-1}): 82.600 UFC/ml

La dilución 2 (10^{-2}): 79.700 UFC/ml

La dilución 3 (10^{-3}): 85.400 UFC/ml

Tenemos que:

Esto indica que en el muestreo “antes 1¹” tenemos 82.567 UFC/ml de flora Coliforme.

En los casos donde la carga bacteriana fue alta, se realizó recuento bacteriano con ayuda de la cuenta colonias, para este proceso se tomó un cuadrante con una carga alta de UFC, un cuadrante con carga media y un cuadrante con carga baja para realizar el conteo, posteriormente se sacó el promedio aritmético, este promedio se multiplicó por 65; de esta forma se identificó las UFC de *Escherichia coli* para las respectivas cajas Petri.

¹ Es un ejemplo hipotético, no son datos reales del experimento.

6.6. Aislamiento de cepas de *Escherichia coli*

Finalizado el conteo de colonias en cada caja Petri, de las 3 réplicas diferentes, de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} por muestreo, se escogió la caja Petri donde el contenido de unidades formadoras de colonia (UFC) estaba en el rango de 30 y 300, esto con el fin de hacer estadísticamente representativo el aislamiento.

Con la caja Petri seleccionada la cual su contenido de colonias fue entre 30 y 300 se procedió a seleccionar visualmente un punto verde brillante uniforme, y fácil de seleccionar con el asa redonda, relativamente separado de otras colonias.

Para efectuar la siembra por estriado se procedió a coger el asa por el cabo, en forma similar a cuando tomamos el lápiz para escribir, se acercó el asa de alambre de platino o nicrón directamente en la zona de color azul de la llama del mechero, hasta que se puso al rojo vivo, consecutivamente, se procedió a introducir lentamente el resto del alambre para lograr el mismo efecto, después de esto se retiró el instrumento de la llama, se esperó de 4 a 5 segundos con el objetivo de que el asa se enfríe.

El asa estéril y fría debió ser introducida en la caja Petri seleccionada y tocar únicamente el punto verde brillante seleccionado visualmente con anterioridad.

Con la mano opuesta a la que se sujetó el asa, se tomó la placa de Petri, de manera que la tapa quede hacia arriba. Con ayuda del dedo pulgar se abrió parcialmente la placa.

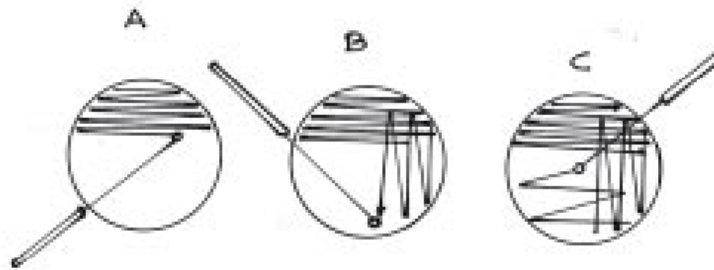
Introducida el asa con la muestra se procedió a deslizarla suavemente en forma de zigzag, desde la pared, hasta cubrir aproximadamente un tercio de toda la superficie.

Se cerró la placa y se giró varios cm, en contra de las manecillas del reloj, procediendo a abrirla nuevamente por igual procedimiento.

Se Introdujo nuevamente el asa y se realizó un segmento similar al anterior, de manera que las bacterias sembradas en el primer segmento sean removidas para el segundo.

Este procedimiento se repitió una o dos veces más (Imagen 6).

Imagen 6. Método de siembra por estrías en medios de cultivo sólidos distribuidos en placas de Petri.



Fuente: [52]

Finalmente, la placa fue cerrada y colocada sobre la mesa de trabajo boca abajo para su posterior incubación a 35 ± 2 °C.

El asa debió ser esterilizada en la llama del mechero, en la forma explicada con anterioridad, antes de dejarla en el puesto de trabajo.

Después de pasadas 24 h se evidenció el crecimiento de la cepa aislada (Fotografía 11), si el cultivo visualmente siguió siendo mixto se procedió a realizar una resiembra, lo cual consistió en repetir el procedimiento con los resultados obtenidos en el primer aislamiento.

Fotografía 11. Crecimiento de *Escherichia coli* aislada en agar EMB por estriado.



Fuente: El autor

Cuando se tuvo la certeza que el cultivo era puro visualmente, se procedió a realizar el mismo procedimiento de la siembra, pero en una placa de Petri con medio de cultivo Plate Count Agar (PCA), con los resultados obtenidos después de las 24 horas de incubación se procedió a realizar una tinción de Gram para verificar la pureza del cultivo y el microorganismo aislado.

Si la tinción de Gram mostró que el cultivo era mixto se procedió a realizar un nuevo aislamiento hasta que el cultivo fuera homogéneo y puro.

6.7. Antibiograma

Con las cepas de cultivo puro se procedió a realizar las pruebas de sensibilidad a los diferentes antibióticos de estudio: Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.

La prueba realizada fue basada en la teoría del método de Kirby Bauer.

6.7.1. Medio de cultivo

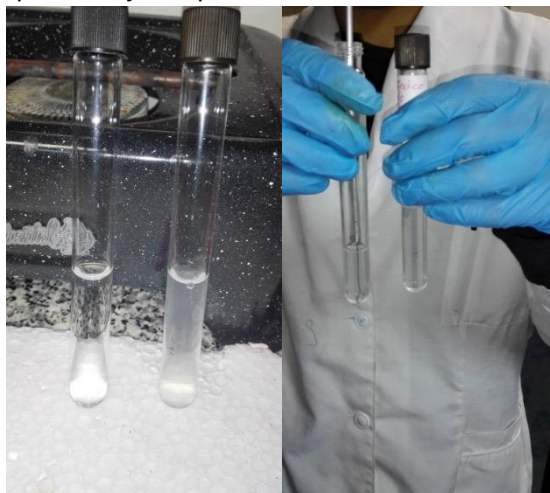
Se debió preparar agar Mueller Hinton, pero debido a la inexistencia de este medio en el laboratorio de la universidad fue preparado el medio de cultivo PCA con las instrucciones de la casa manufacturadora, este medio se utilizó inmediatamente después de su preparación, en casos externos se conservó refrigerado en recipientes herméticamente sellados, para prevenir la evaporación, no se usaron por ninguna circunstancia medios secos, deshidratados o envejecidos.

6.7.2. Preparación del inóculo

Se seleccionaron 4 o 5 colonias del microorganismo en estudio, preferencialmente de un cultivo puro o de un cultivo en que se hubiese obtenido el aislamiento primario del microorganismo. No se utilizaron cultivos de más de 24 horas. Se transfirieron estas colonias, simplemente tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica a un tubo que contenía de 3 a 5 ml de solución salina.

Se procedió a diluir el cultivo con solución salina estéril o caldo estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland, lo cual corresponde aproximadamente a 10^8 microorganismos viables por ml.

Fotografía 12. Preparación y comparación del inoculo con el estándar de turbidez.



Fuente: El autor

6.7.3. Estándar de Turbidez

Para la preparación de este estándar se añadió 0,05 ml de BaCl_2 al 1% a 9,95 ml de H_2SO_4 al 1%. Se mezcló homogéneamente y distribuyó en tubos tapa rosca; se debió sellar herméticamente y almacenarlos en un lugar oscuro a temperatura ambiente; para hacer la comparación con el cultivo, se debió agitar el estándar preferiblemente con un agitador tipo vortex.

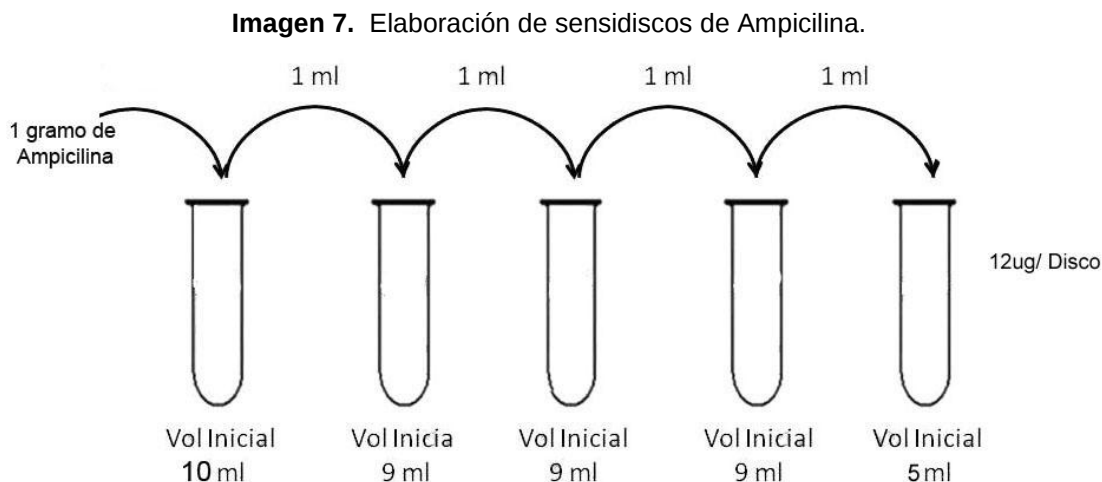
Se preparó un nuevo estándar cada 6 meses; como el procedimiento de laboratorio fue de enero a abril, solo fue necesario un estándar de turbidez.

6.7.4. Preparación de discos con antibiótico (sensidiscos)

Los discos impregnados de antibiótico fueron elaborados de la siguiente manera:

A base de pruebas se determinó que un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro absorbe, por lo tanto, para crear sensidiscos de Ampicilina, se tomó una pastilla de Ampicilina 1g y se diluyó en 10 ml de agua destilada, de esta forma se obtuvo una concentración de Ampicilina, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtuvo una concentración de, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de, se tomó 1 ml y se diluyó en 4 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de, cada disco absorbe, de esta forma se tiene que cada disco quedaría con

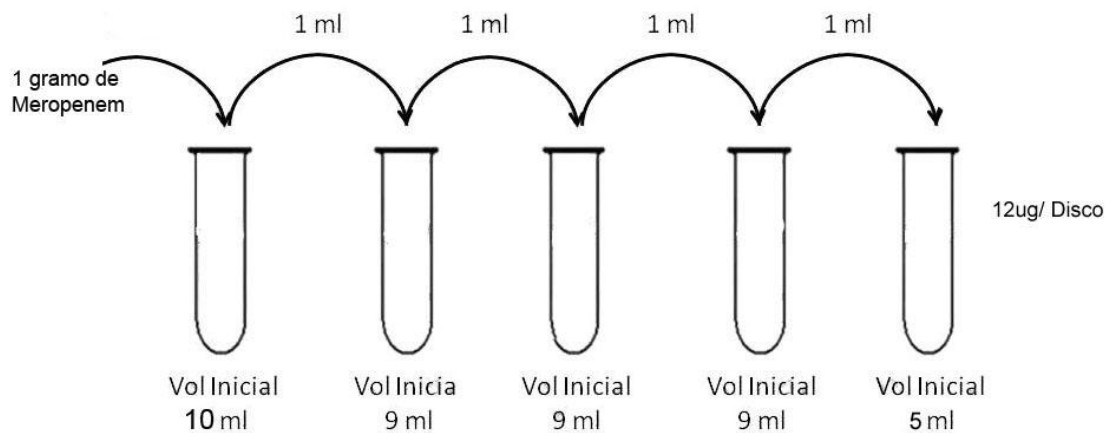
una concentración de; se debían preparar 50 discos con el fin de que todos absorban la misma concentración de (Imagen 7).



Fuente: El autor

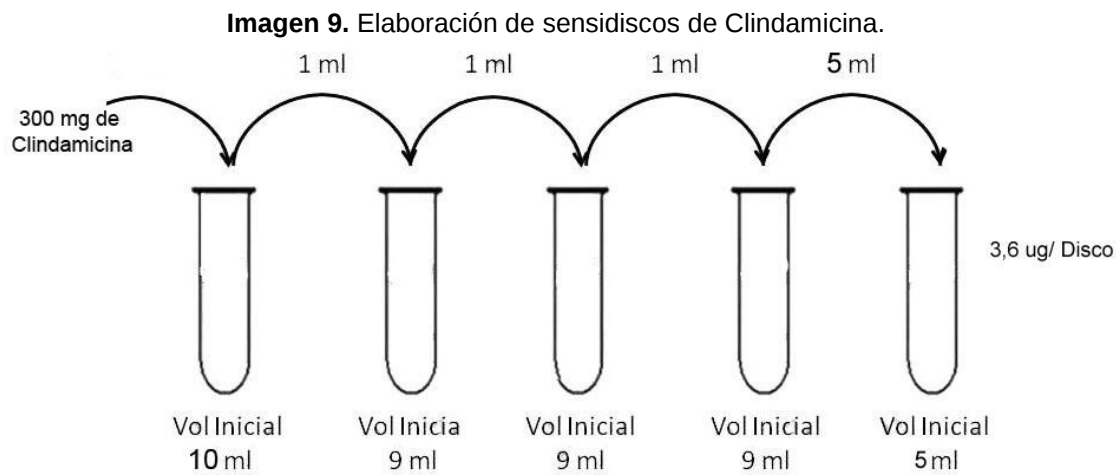
Para crear sensidiscos de Meropenem, se tomó 1g de Meropenem inyectable y se diluyó en 10 ml de agua destilada, de esta forma se obtendrá una concentración de de Meropenem, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de , se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de , se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de , se tomó 1 ml y se diluyó en 5 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de , cada disco absorbe , de esta forma cada disco quedaría con una concentración de ; se debían preparar 50 discos con el fin de que todos absorban la misma concentración de (Imagen 8).

Imagen 8. Elaboración de sensidiscos de Meropenem.



Fuente: El autor

Para crear sensidiscos de Clindamicina, se tomó una capsula de Clindamicina 300 mg y se diluyó en 10 ml de agua destilada, de esta forma se obtendrá una concentración de de Clindamicina, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de, se tomaron 5 ml y se diluyó en 5 ml de agua destilada de esta forma se obtendrá una concentración de, cada disco absorbe, de esta cada disco quedaría con una concentración de; se debían preparar 50 discos con el fin de que todos absorban la misma concentración de. (Imagen 9)



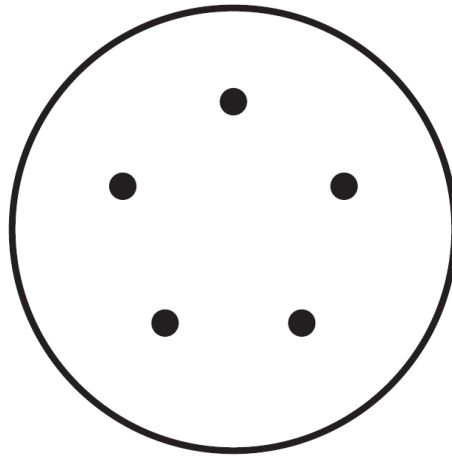
Fuente: El Autor

6.7.5. Elaboración del antibiograma

Se utilizaron placas previamente preparadas que contenían el medio de cultivo solidificado (unos 20 ml/placa) de agar PCA, depositando en la superficie del agar 0.1 ml de inóculo. Luego de realizada la descarga de la muestra, se procedió a extenderla sobre toda la superficie de las placas, usando un asa de Drigalski estéril, esperando de 5 a 20 minutos con el fin de que el inóculo estuviera seco, con la tapa de la caja Petri cerrada.

Posteriormente se colocaron los discos sobre la superficie del agar con un dispensador, asa redonda o con pinzas estériles; con éstas, se presionaron los discos ligeramente sobre el agar para asegurar un contacto uniforme. Se colocaron 5 discos en la periferia de cada caja Petri (Imagen 10), cada disco debía no estar a menos de 24 milímetros uno del otro, con el fin de evitar que las zonas de inhibición quedaran combinadas. Se procedió a incubar inmediatamente o en los próximos 30 minutos a 35 °C, para pasadas 16 a 24 horas leer los resultados.

Imagen 10. Patrón de distribución de los discos de antibióticos en el medio de cultivo.

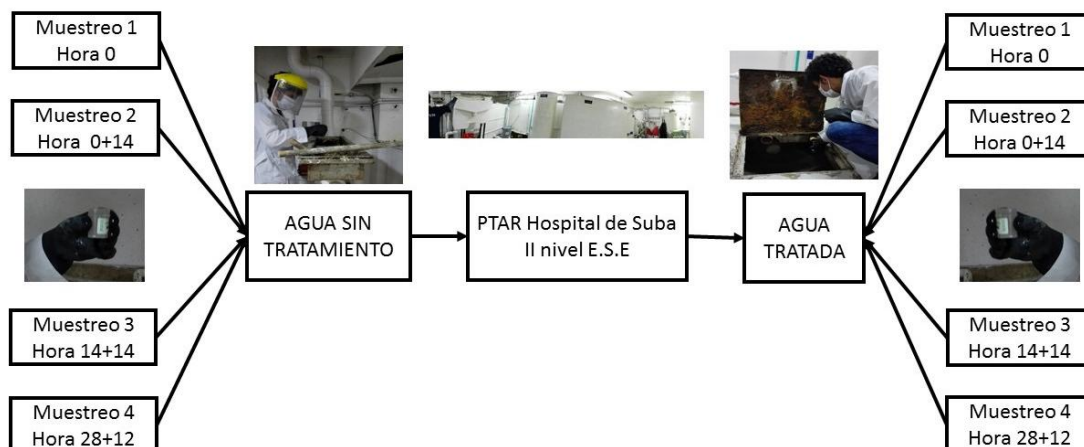


Fuente: El Autor

6.7.6. Medición de los halos de inhibición

La medición de la zona de inhibición de cada disco se realizó sobre una superficie oscura o bajo luz reflejada. Se midió el diámetro de la zona de inhibición incluyendo los 6 mm del disco, con un pie de rey sobre el respaldo de la caja de Petri sin remover la tapa. Una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición (Imagen 11).

Imagen 11. Muestreo de un día para análisis de resistencia microbiana.



Fuente: El autor

Por cada muestreo realizado, se aisló una cepa de *Escherichia coli*, estas cepas fueron sometidas a pruebas de sensibilidad por medio de antibiogramas, obtenido el diámetro del halo de inhibición en milímetros se procedió a identificar la susceptibilidad del *Escherichia coli* a los 3 diferentes antibióticos (Ampicilina, Clindamicina y Meropenem), por consiguiente dependiendo del halo de inhibición se estableció si *Escherichia coli* fue Resistente (R), Intermedio (I) o Sensible (S) a cada antibiótico. (Tabla 8). La interpretación de los resultados se realizó acorde a lo estipulado en la edición 27 del documento “M100- Normas de Desempeño para la Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos” elaborado por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, por sus siglas en inglés) [9] y la ayuda del programa Whonet.

Tabla 8. Interpretación de resultados dependiendo el halo de inhibición en mm.

	Resistente (R)	Intermedio (I)	Sensible (S)
Ampicilina 10µg	≤13	14-16	≥17
Clindamicina 2µg	≤14	15-20	≥21
Meropenem 10µg	≤19	20-22	≥23

Fuente: [9]

7. Impacto social

El aumento de resistencia microbiana a través del tiempo está causando una mayor preocupación a nivel mundial, visto patológicamente la resistencia microbiana no es una enfermedad, esta afirmación se basa en que no existen diferencias en la gravedad de las enfermedades causadas por cepas resistentes o cepas sensibles a los antibióticos, el verdadero problema radica en que con un aumento de patógenos resistentes limita el procedimiento médico por ausencia de métodos eficaces. La acción rápida y efectiva de los antibióticos puede suponer para el paciente infectado la diferencia entre la curación y la muerte o la discapacidad crónica.

No obstante entidades gubernamentales, de investigación y sociales, como la OMS están trabajando a favor de la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos. En mayo de 2015, la 68ª Asamblea Mundial de la Salud adoptó el Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos [53] uno de cuyos cinco objetivos estratégicos consiste en reforzar las evidencias mediante una mejora de la vigilancia y la investigación, de esta forma la constante investigación y búsqueda de alternativas a la problemática han llevado a profesionales a identificar nuevos antibióticos naturales capaces de destruir bacterias resistentes.

Los resultados de esta investigación al igual que los encontrados por Bolaños y Mora [16], Flores y Sánchez [54], generan argumentos de peso para incentivar la creación de normatividad apropiada a nivel nacional, con el fin de realizar vigilancia y control de manejo de antibióticos, al mismo tiempo que generar propuestas de inclusión de tratamientos eficaces del agua residual en centros médicos, encaminados a la eliminación de contaminantes emergentes (antibióticos y microorganismos), contribuyendo a evitar riesgos en la salud pública y daños en los ecosistemas.

8. Desarrollo central

8.1. Conteo Bacteriano.

Con los datos obtenidos en el laboratorio del conteo de UFC de *Escherichia coli* por cada muestra tomada en el agua residual sin tratamiento del hospital de Suba II nivel E.S.E y las diferentes diluciones (Tabla 9), se observó mayor contenido de UFC de *Escherichia coli* en los muestreos 7 y 8 (tercera y cuarta muestra tomada el día jueves 16 de febrero de 2017, a la hora 10:41 y 10:54 de la mañana respectivamente (Gráfica 1)), en el cual se evidenció una entrada de volumen de agua a la PTAR por encima del común, agua de color oscuro y con olor alto a materia fecal, lo cual puede justificar la cantidad de UFC encontradas en estos muestreos.

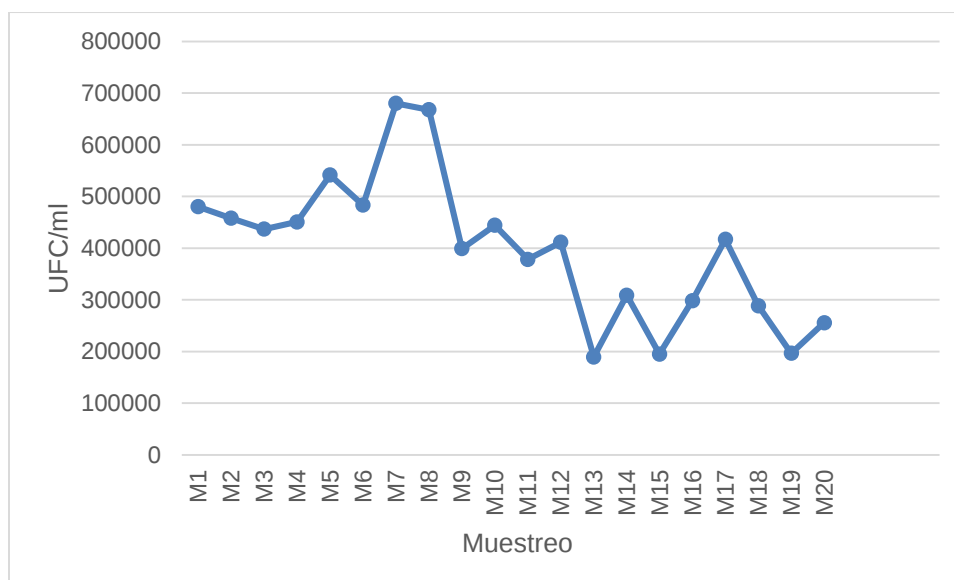
Tabla 9. UFC de *Escherichia coli* halladas en los muestreos tomados en agua residual sin tratamiento en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E

Agua residual sin tratamiento							
ANTES/ DIL	UFC encontradas en cada caja Petri			UFC/ml en cada dilución			UFC _{total} /ml
	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	
M1-Dia1	3.000	480	66	300.000	480.000	660.000	480.000
M2-Dia1	3.000	654	42	300.000	654.000	420.000	458.000
M3-Dia1	2.320	568	51	232.000	568.000	510.000	436.667
M4-Dia1	3.000	382	67	300.000	382.000	670.000	450.667
M1-Dia2	3.000	654	67	300.000	654.000	670.000	541.337
M2-Dia2	3.000	480	67	300.000	480.000	670.000	483.337

Agua residual sin tratamiento							
ANTES/ DIL	UFC encontradas en cada caja Petri			UFC/ml en cada dilución			UFC _{total} /ml
M3-Dia2	3.000	850	89	300.000	850.000	890.000	680.000
M4-Dia2	3.000	753	95	300.000	753.000	950.000	667.667
M1-Dia3	2.420	375	58	242.000	375.000	580.000	399.000
M2-Dia3	2.347	428	67	234.700	428.000	670.000	444.237
M3-Dia3	2.507	574	31	250.700	574.000	310.000	378.233
M4-Dia3	2.490	365	62	249.000	365.000	620.000	411.333
M1-Dia4	1.936	115	26	193.600	115.000	260.000	189.533
M2-Dia4	1.193	458	35	119.300	458.000	350.000	309.100
M3-Dia4	2.302	185	17	230.200	185.000	170.000	195.067
M4-Dia4	3.000	345	25	300.000	345.000	250.000	298.333
M1-Dia5	2.636	527	46	263.600	527.000	460.000	416.867
M2-Dia5	2.660	320	28	266.000	320.000	280.000	288.667
M3-Dia5	1.056	234	25	105.600	234.000	250.000	196.533
M4-Dia5	2.324	325	21	232.400	325.000	210.000	255.800

Fuente: El Autor

Gráfica 1. UFC de *E. coli* encontradas en las muestras de agua residual sin tratamiento.



Fuente: El Autor

Con las muestras de agua residual tratada se desarrolló el mismo procedimiento de laboratorio para el conteo y la determinación de unidades formadoras de colonia (Tabla 10), luego se evidenció el comportamiento de UFC de *Escherichia coli* (Gráfica 2), donde se observó una disminución significativa a partir del tercer día de muestreo, lo cual se debe a que las muestras de los días 1 y 2 fueron tomadas cuando la planta de tratamiento no contaba con un mantenimiento ni lavado general, a diferencia de los días siguientes donde se realizaron después del mantenimiento y lavado general de todas las unidades de la planta, a excepción de los filtros.

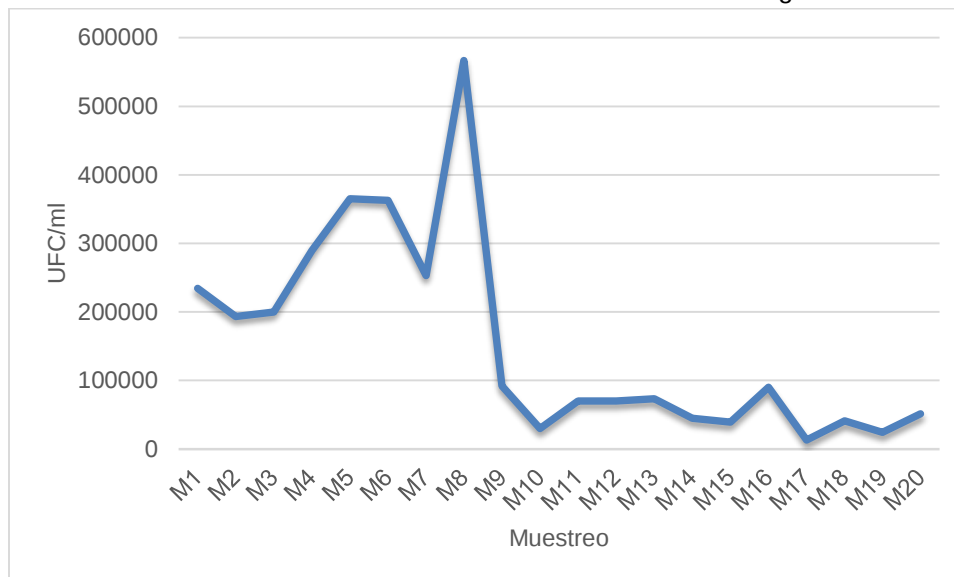
Tabla 10. UFC de *Escherichia coli* halladas en los muestreos tomados en agua residual tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E

Agua residual sin tratamiento							
ANTES/ DIL	UFC encontradas en cada caja Petri			UFC/ml en cada dilución			UFC _{total} /ml
	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	
M1-Dia1	1.740	289	24	174.000	289.000	240.000	234.333
M2-Dia1	1.284	132	32	128.400	132.000	320.000	193.467
M3-Dia1	1.850	235	18	185.000	235.000	180.000	200.000

M4-Dia1	3.000	249	32	300.000	249.000	320.000	289.667
M1-Dia2	1.848	371	54	184.800	371.000	540.000	365.267
M2-Dia2	3.000	428	36	300.000	428.000	360.000	362.667
M3-Dia2	1.826	277	30	182.600	277.000	300.000	253.200
M4-Dia2	3.000	630	77	300.000	630.000	770.000	566.667
M1-Dia3	395	116	12	39.500	116.000	120.000	91.833
M2-Dia3	258	24	4	25.800	24.000	40.000	29.933
M3-Dia3	685	42	10	68.500	42.000	100.000	70.167
M4-Dia3	376	92	8	37.600	92.000	80.000	69.867
M1-Dia4	336	47	14	33.600	47.000	140.000	73.533
M2-Dia4	582	36	4	58.200	36.000	40.000	44.733
M3-Dia4	123	45	6	12.300	45.000	60.000	39.100
M4-Dia4	467	124	10	46.700	124.000	100.000	90.233
M1-Dia5	76	12	2	7.600	12.000	20.000	13.200
M2-Dia5	320	52	4	32.000	52.000	40.000	41.333
M3-Dia5	145	28	3	14.500	28.000	30.000	24.167
M4-Dia5	186	45	9	18.600	45.000	90.000	51.200

Fuente: El Autor

Gráfica 2. UFC de *Escherichia coli* encontradas en las muestras de agua residual tratada.



Fuente: El Autor

En la tabla 11 se muestra el número de UFC/ml obtenido por cada muestreo del agua residual sin tratamiento y agua residual tratada, evidenciando la eficiencia de remoción de *Escherichia coli* con el proceso de tratamiento desarrollado en el centro médico; además se observó el comportamiento de la carga bacteriana de *Escherichia coli* en los diferentes muestreos para la misma hora. Como se mencionó anteriormente la carga de microorganismos en los muestreos de agua residual tratada en los días 3, 4 y 5 presentó una disminución debido al mantenimiento realizado a la PTAR, por otro lado a pesar de que la planta no cuenta con sistema de desinfección o tratamiento biológico, el tratamiento fisicoquímico contribuye con la eliminación de un cierto porcentaje de microorganismos.

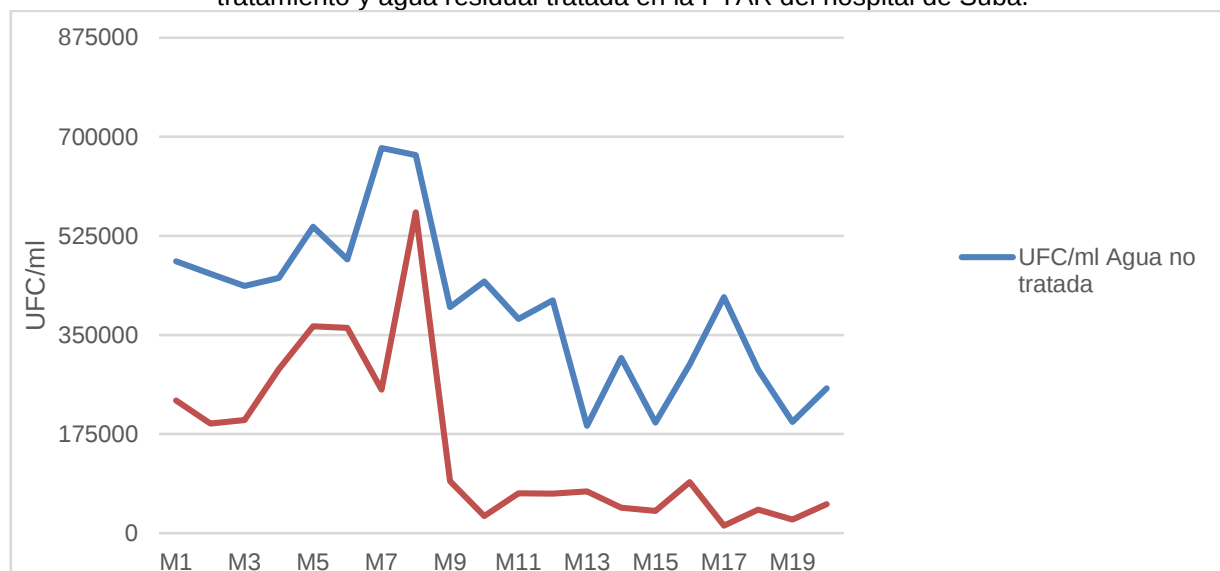
Tabla 11. Unidades formadoras de colonia por ml en los diferentes muestreos.

	UFC/ml en el agua residual sin tratamiento	UFC/ml en el agua residual tratada
M1-Dia1	480000	234333
M2-Dia1	458000	193467
M3-Dia1	436667	200000

	UFC/ml en el agua residual sin tratamiento	UFC/ml en el agua residual tratada
M4-Dia1	450667	289667
M1-Dia2	541333	365267
M2-Dia2	483333	362667
M3-Dia2	680000	253200
M4-Dia2	667667	566667
M1-Dia3	399000	91833
M2-Dia3	444233	29933
M3-Dia3	378233	70167
M4-Dia3	411333	69867
M1-Dia4	189533	73533
M2-Dia4	309100	44733
M3-Dia4	195067	39100
M4-Dia4	298333	90233
M1-Dia5	416867	13200
M2-Dia5	288667	41333
M3-Dia5	196533	24167
M4-Dia5	255800	51200

Fuente: El autor

Gráfica 3. Carga bacteriana de *Escherichia coli* de las muestras tomadas del agua residual sin tratamiento y agua residual tratada en la PTAR del hospital de Suba.



Fuente: El Autor

8.1.1. Análisis estadístico del conteo Bacteriano

Para conocer la variación de UFC/ml de *Escherichia coli* dependiendo de diversos factores, es necesario establecer el modelo para llevar a cabo el análisis de la siguiente forma.

Donde corresponde al efecto común, es el efecto de la ubicación del muestreo, en este caso la población de microorganismos presentes en el agua residual sin tratamiento y con tratamiento de la PTAR, corresponde al efecto del mantenimiento de la PTAR, corresponde al efecto del día de muestreo, corresponde al efecto de la hora de muestreo y es el término aleatorio.

Para el experimento, interesan las hipótesis:

- **Ubicación del muestreo**

Con el fin de identificar las diferencias entre el número de UFC/ml y la ubicación del muestreo se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula: ¿El número de UFC/ml es igual en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa: ¿El número de UFC/ml presenta variaciones en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Escrito de otra forma:

Donde μ_1 = UFC/ml del agua residual tratada
 μ_2 = UFC/ml del agua residual no tratada

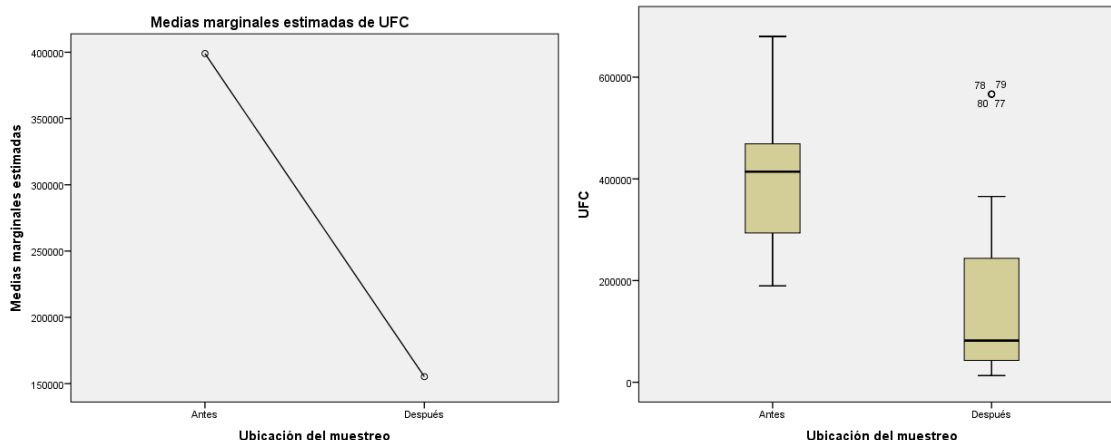
Dando respuesta a las hipótesis planteadas con ayuda del análisis ANOVA se identificó que como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 12) rechazando la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa, es decir que existen diferencias significativas entre la ubicación del muestreo y el número de UFC de *Escherichia coli*. Se evidenció reducción de la carga microbiana en el agua residual tratada en comparación del agua residual no tratada (Gráfica 4), lo cual se debe probablemente a la aplicación de Hipoclorito de Calcio durante el proceso de tratamiento, sin embargo la PTAR no es lo suficientemente eficiente para eliminar por completo la carga microbiana debido a la ausencia de desinfección.

Tabla 12. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente las UFC/ml y el factor la fase del muestreo.

ANOVA					
UFC/ml					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2971676986050,1 25	1	2971676986050,1 25	147,329	,000
Dentro de grupos	3993739369043,7 50	198	20170400853,756		
Total	6965416355093,8 75	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 4. UFC/ml de *Escherichia coli* vs Ubicación del muestreo.



Fuente: El Autor

▪ Estado de mantenimiento de la PTAR

Con el fin de identificar las variaciones entre el número de UFC/ml y el estado de mantenimiento de la PTAR se realizó análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula: ¿El número de UFC/ml es igual en los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento que en los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento en el hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa: ¿El número de UFC/ml cambia ente los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento y los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento?

Escrito de otra forma:

Donde = UFC/ml encontradas en la PTAR sin mantenimiento

Donde = UFC/ml encontradas en la PTAR con mantenimiento

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 13) se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, es decir que existen diferencias significativas entre el mantenimiento de la PTAR y el número de UFC/ML de *Escherichia coli*. Se evidenció reducción

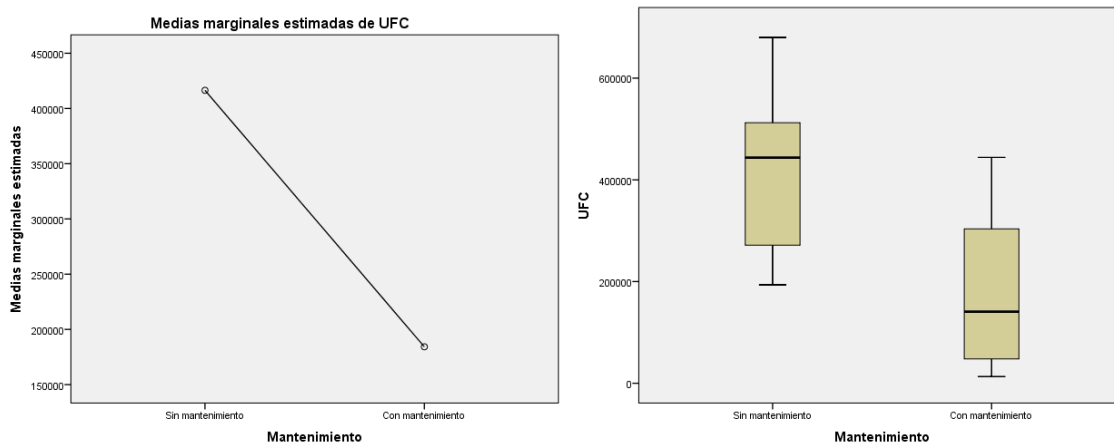
de la carga microbiana en el agua residual después del mantenimiento (Gráfica 5), esto indica que el mantenimiento constante y preventivo favorece los objetivos de la planta de tratamiento en cuanto a la reducción de carga microbiana.

Tabla 13. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente las UFC/ml y el factor el mantenimiento de la PTAR.

ANOVA					
UFC/ml					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2587640992635,0 21	1	2587640992635,0 21	117,035	,000
Dentro de grupos	4377775362458,8 56	198	22109976578,075		
Total	6965416355093,8 77	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 5. UFC/ML de *Escherichia coli* vs Mantenimiento de la PTAR.



Fuente: El Autor

▪ **Día de muestreo.**

Con el fin de identificar las diferencias entre el número de UFC/ml y el día de muestreo se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula: ¿El número de UFC/ml es igual entre días?

Hipótesis alternativa: ¿El número de UFC/ml cambia ente días?

Escrito de otra forma:

Donde = es día n.

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 14) se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, es decir que existen diferencias significativas entre el día del muestreo y el número de UFC de *Escherichia coli*. El comportamiento de carga microbiana a través de los días (Gráfica 6), permite determinar que los días de muestreo 1 y 2 presentan mayor carga microbiana debido a que en el momento de muestreo la planta no contaba con mantenimiento, además en el día 2 las muestras presentaron turbiedad y olores a materia fecal significativamente mayor a los demás días.

Tabla 14. Análisis ANOVA de un factor con variable dependiente las UFC y el factor el día del muestreo.

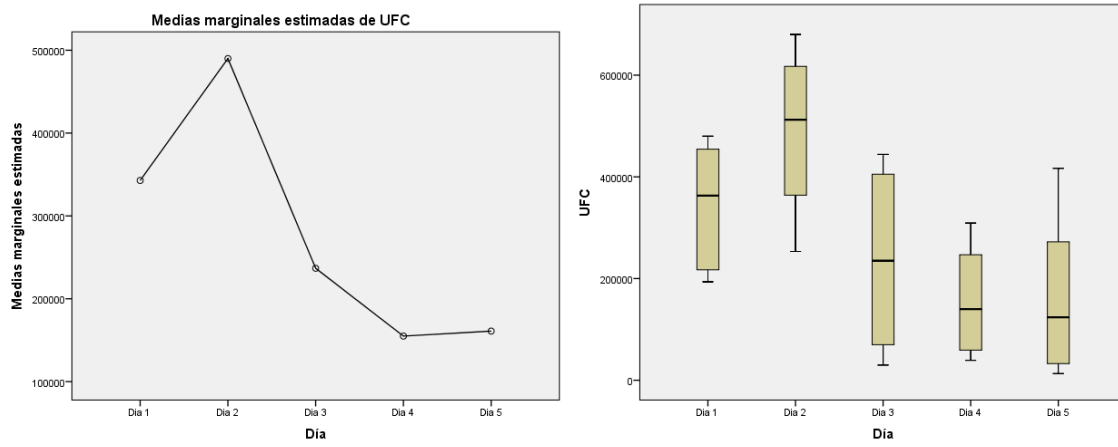
ANOVA

UFC

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3187372933233,250	4	796843233308,313	41,128	,000
Dentro de grupos	3778043421860,625	195	19374581650,567		
Total	6965416355093,875	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 6. UFC de *Escherichia coli* vs Día de muestreo.



Fuente: El Autor

8.2. Resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.

Los datos del análisis de laboratorio acerca de la resistencia de *Escherichia coli* a 3 antibióticos de uso común (Ampicilina, Clindamicina, Meropenem) en el hospital, se obtuvieron dando continuidad a lo establecido en el diseño muestral y diseño experimental propuesto en la metodología (Tabla 15).

Tabla 15. Resultados de pruebas de susceptibilidad de *Escherichia coli* ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem

Hora de muestreo	Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm						Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm					
		AMP		CC		MEM			AMP		CC		MEM	
		mm	c*	m m	c*	m m	c*		m m	c*	m m	c*		
Muestreo 1, día martes 24 de enero de 2017														
9:50 am.	Antes 1	7	R	6	R	19	R	Después 1	6	R	7	R	16	R
		7	R	6	R	26	S		6	R	7	R	18	R
		6	R	6	R	21	I		6	R	7	R	18	R
		6	R	7	R	18	R		6	R	7	R	19	R
		7	R	7	R	16	R		6	R	8	R	20	I
10:02 am.	Antes 2	6	R	7	R	17	R	Después 2	7	R	7	R	27	S
		7	R	6	R	19	R		8	R	7	R	28	S
		6	R	6	R	18	R		9	R	6	R	22	I
		7	R	7	R	23	S		10	R	6	R	15	R
		7	R	6	R	20	I		7	R	6	R	26	S
10:16 am.	Antes 3	10	R	7	R	12	R	Después 3	22	S	11	R	24	S
		9	R	6	R	12	R		18	S	9	R	27	S
		8	R	7	R	17	R		11	R	12	R	25	S
		6	R	7	R	12	R		20	S	9	R	21	I
		8	R	6	R	10	R		18	S	11	R	19	R
11:28 am.	Antes 4	6	R	11	R	18	R	Después 4	6	R	11	R	15	R
		6	R	8	R	21	I		6	R	7	R	14	R

Hora de muestreo	Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm						Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm					
		AMP		CC		MEM			AMP		CC		MEM	
		mm	c*	m m	c*	m m	c*		m m	c*	m m	c*	m m	c*
		7	R	7	R	19	R		6	R	7	R	17	R
		7	R	7	R	15	R		6	R	6	R	16	R
		6	R	7	R	17	R		7	R	10	R	19	R
Muestreo 2, día jueves 16 de febrero de 2017														
10:20 am.	Antes 1	12	R	8	R	47	S	Después 1	7	R	6	R	17	R
		8	R	6	R	25	S		7	R	6	R	15	R
		7	R	7	R	23	S		6	R	6	R	19	R
		6	R	7	R	22	I		7	R	7	R	16	R
		6	R	7	R	22	I		6	R	7	R	18	R
10:30 am.	Antes 2	13	R	8	R	26	S	Después 2	17	S	14	R	25	S
		9	R	10	R	14	R		17	S	11	R	25	S
		12	R	7	R	22	I		15	I	13	R	22	I
		11	R	6	R	19	R		13	R	14	R	21	I
		7	R	7	R	23	S		17	S	8	R	26	S
10:41 am.	Antes 3	19	S	17	I	12	R	Después 3	8	R	13	R	14	R
		15	I	15	I	17	R		6	R	11	R	15	R
		8	R	17	I	11	R		6	R	8	R	16	R
		7	R	17	I	15	R		6	R	14	R	16	R
		6	R	20	I	9	R		6	R	13	R	10	R
10:54 am.	Antes 4	6	R	23	S	30	S	Después 4	6	R	15	I	18	R
		6	R	23	S	30	S		7	R	7	R	26	S
		6	R	19	I	28	S		6	R	7	R	19	R
		6	R	21	S	22	I		8	R	6	R	25	S
		6	R	25	S	23	S		7	R	7	R	24	S
Muestreo 3, día miércoles 15 de marzo de 2017														
1:16 pm.	Antes 1	17	S	13	R	26	S	Después 1	12	R	6	R	25	S

Hora de muestreo	Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm						Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm					
		AMP		CC		MEM			AMP		CC		MEM	
		mm	c*	m m	c*	m m	c*		m m	c*	m m	c*	m m	c*
		6	R	9	R	28	S		7	R	7	R	22	I
		6	R	6	R	30	S		6	R	6	R	22	I
		12	R	12	R	24	S		6	R	7	R	23	S
		12	R	12	R	23	S		6	R	6	R	22	I
1:28 pm.	Antes 2	12	R	6	R	30	S	Después 2	10	R	17	I	23	S
		8	R	6	R	28	S		6	R	15	I	28	S
		6	R	6	R	25	S		6	R	14	R	27	S
		9	R	6	R	23	S		6	R	14	R	28	S
		12	R	6	R	24	S		6	R	12	R	20	I
1:39 pm.	Antes 3	11	R	8	R	24	S	Después 3	6	R	6	R	6	R
		10	R	7	R	24	S		6	R	7	R	6	R
		6	R	6	R	23	S		6	R	7	R	6	R
		6	R	6	R	27	S		6	R	6	R	6	R
		7	R	7	R	24	S		8	R	7	R	6	R
1:51 pm.	Antes 4	18	S	6	R	26	S	Después 4	12	R	6	R	17	R
		14	I	6	R	27	S		12	R	6	R	18	R
		11	R	6	R	27	S		13	R	6	R	16	R
		6	R	6	R	24	S		12	R	6	R	16	R
		12	R	6	R	25	S		7	R	6	R	16	R
Muestreo 4, día viernes 24 de marzo de 2017														
11:10 am.	Antes 1	8	R	6	R	38	S	Después 1	13	R	6	R	24	S
		7	R	7	R	35	S		8	R	6	R	26	S
		7	R	7	R	38	S		7	R	6	R	27	S
		7	R	7	R	33	S		6	R	6	R	22	I
		14	I	7	R	36	S		6	R	6	R	23	S
11:21 am.	Antes 2	8	R	16	I	34	S	Después 2	6	R	23	S	25	S

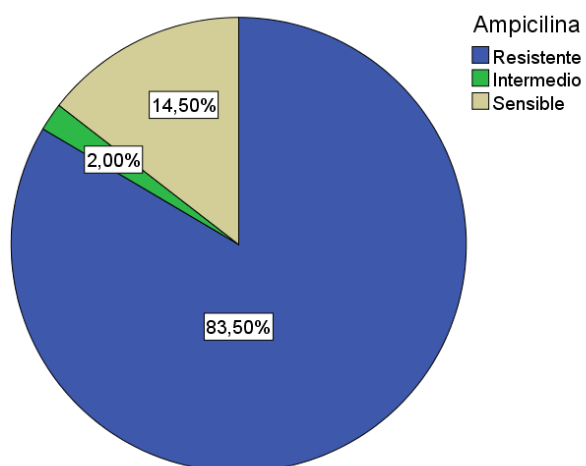
Hora de muestreo	Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm						Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm					
		AMP		CC		MEM			AMP		CC		MEM	
		mm	c*	m m	c*	m m	c*		m m	c*	m m	c*	m m	c*
		8	R	13	R	33	S		6	R	20	I	26	S
		6	R	14	R	37	S		6	R	19	I	20	I
		6	R	12	R	37	S		6	R	20	I	29	S
		7	R	13	R	31	S		6	R	22	S	32	S
11:36 am.	Antes 3	8	R	6	R	39	S	Después 3	6	R	6	R	26	S
		8	R	6	R	38	S		6	R	6	R	23	S
		8	R	7	R	36	S		6	R	6	R	24	S
		9	R	7	R	39	S		6	R	6	R	28	S
		8	R	7	R	37	S		6	R	6	R	27	S
11:49 am.	Antes 4	9	R	28	S	28	S	Después 4	6	R	17	I	6	R
		8	R	30	S	24	S		7	R	15	I	6	R
		10	R	30	S	20	I		6	R	14	R	6	R
		10	R	24	S	25	S		7	R	6	R	6	R
		7	R	26	S	23	S		6	R	13	R	6	R
Muestreo 5, día lunes 17 de abril de 2017														
10:15 am.	Antes 1	21	S	30	S	42	S	Después 1	18	S	38	S	34	S
		27	S	34	S	46	S		28	S	37	S	39	S
		21	S	33	S	45	S		20	S	33	S	43	S
		23	S	28	S	39	S		12	R	32	S	42	S
		19	S	25	S	37	S		26	S	31	S	36	S
10:28 am.	Antes 2	30	S	30	S	32	S	Después 2	6	R	6	R	33	S
		24	S	28	S	28	S		6	R	6	R	34	S
		26	S	31	S	29	S		6	R	6	R	36	S
		26	S	32	S	27	S		6	R	6	R	39	S
		28	S	30	S	25	S		6	R	6	R	39	S
10:42 am.	Antes 3	6	R	20	I	28	S	Después 3	6	R	6	R	29	S

Hora de muestreo	Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm						Ubicación del muestreo	Halo de inhibición en mm					
		AMP		CC		MEM			AMP		CC		MEM	
		mm	c*	m m	c*	m m	c*		m m	c*	m m	c*	m m	c*
		6	R	25	S	29	S		6	R	6	R	32	S
		6	R	28	S	29	S		6	R	6	R	28	S
		6	R	22	S	30	S		6	R	9	R	30	S
		6	R	24	S	26	S		6	R	11	R	30	S
10:55 am.	Antes 4	21	S	32	S	27	S	Después 4	6	R	6	R	34	S
		24	S	34	S	29	S		6	R	6	R	28	S
		27	S	28	S	29	S		6	R	6	R	34	S
		23	S	31	S	28	S		6	R	6	R	36	S
		30	S	34	S	33	S		6	R	6	R	36	S

Fuente: El autor

De las 40 cepas de *Escherichia coli* aisladas durante el desarrollo del proyecto el 83,5% fue resistente a ampicilina, el 2% intermedio y el 14,5% sensible (Gráfica 7).

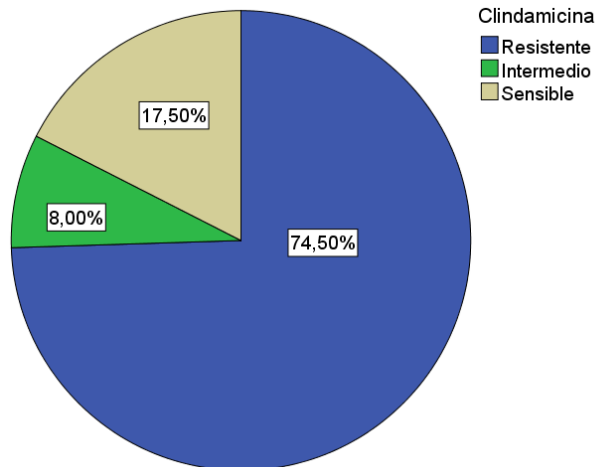
Gráfica 7. Porcentaje de resistencia para Ampicilina.



Fuente: El autor

De las 40 cepas de *Escherichia coli* aisladas el 74,5% fue resistente a Clindamicina, el 8% intermedio y el 17,5% sensible (Gráfica 8).

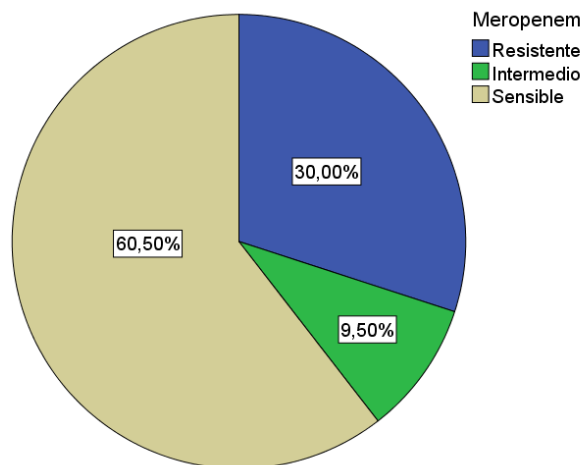
Gráfica 8. Porcentaje de resistencia para Clindamicina



Fuente: El autor

De las 40 cepas de *Escherichia coli* aisladas durante el desarrollo del proyecto el 74,5% fue resistente a Meropenem, el 8% intermedio y el 17,5% sensible (Gráfica 9).

Gráfica 9. Porcentaje de resistencia para Meropenem.



Fuente: El autor

8.2.1. Resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina.

Con la evidencia de una alta resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina mostrada anteriormente (Gráfica 7), se estableció la variación de resistencia dependiendo de diversos

factores, por esta razón fue necesario establecer el modelo para llevar a cabo el análisis de la siguiente forma.

Donde μ corresponde al efecto común, es el efecto de la ubicación del muestreo, en este caso resistencia de *Escherichia coli* en el agua residual sin tratamiento y con tratamiento de la PTAR, α corresponde al efecto del mantenimiento de la PTAR, β corresponde al efecto del día de muestreo, γ corresponde al efecto de la hora de muestreo y es el término aleatorio.

Para el experimento, interesan las hipótesis:

- **Efecto de la ubicación del muestreo.**

Hipótesis nula: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina es igual en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina presenta variaciones en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Escrito de otra forma:

Donde μ_1 = Cepas de *E. coli* del agua residual tratada
 μ_2 = Cepas de *E. coli* del agua residual no tratada

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 16), se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alternativa, es decir que existen diferencias significativas entre la ubicación del muestreo y la resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina. El comportamiento de resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina dependiendo la ubicación del muestreo (Gráfica 10), indica que es menor en las cepas que fueron aisladas en el agua residual tratada con una media de 10,79 mm en los halos de inhibición (resistente), a las cepas que fueron aisladas del agua residual sin tratamiento con una media de 8,54 mm en los halos de inhibición (resistente), lo que indica que la planta de tratamiento estaría actuando durante los procesos unitarios para el tratamiento de agua residual del hospital como una incubadora de resistencia. En las 2 fases

de muestreo la media de las cepas de *E. coli* fueron resistentes a la Ampicilina siendo consistente con la información contemplada en la Tabla 8.

Tabla 16. Análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina y el factor la fase del muestreo.

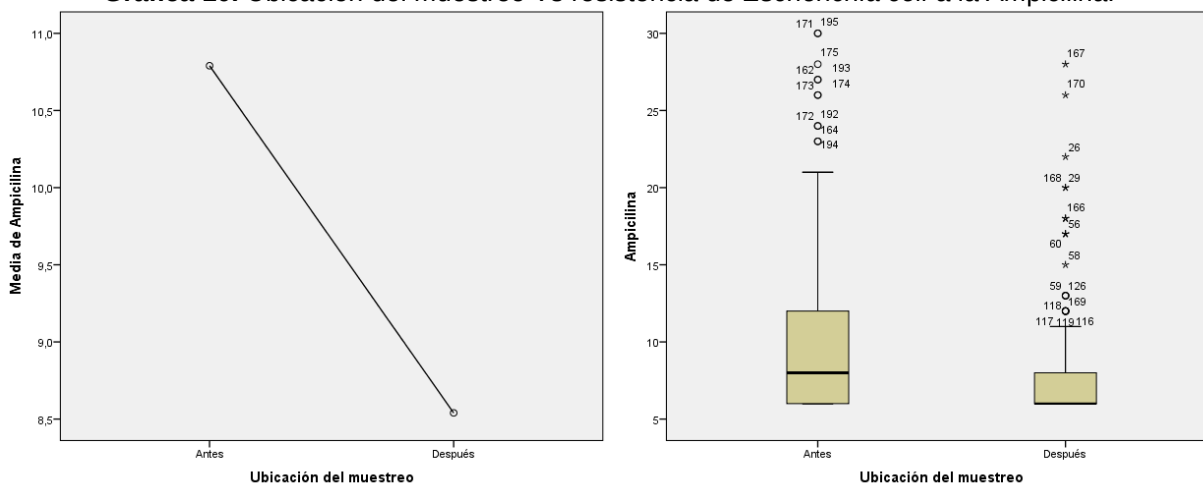
ANOVA

Ampicilina

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	253,125	1	253,125	7,735	,006
Dentro de grupos	6479,430	198	32,724		
Total	6732,555	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 10. Ubicación del muestreo Vs resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina.



Fuente: El Autor

▪ Efecto del mantenimiento de la PTAR

Con el fin de identificar las variaciones entre la resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina y el estado de mantenimiento de la PTAR se realizó análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina es igual en los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento que en los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento en el hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina cambia en los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento que en los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento en el hospital de Suba II nivel E.S.E?

Escrito de otra forma:

Donde = cepas de *E. coli* aisladas en la PTAR sin mantenimiento

Donde = cepas de *E. coli* aisladas en la PTAR Con mantenimiento

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 17), se rechaza la hipótesis nula se establece que existen diferencias significativas entre la ubicación del muestreo y la resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina. El comportamiento de resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina dependiendo el estado de mantenimiento de la PTAR (Gráfica 11), indica que es menor en las cepas que fueron aisladas después del mantenimiento y lavado general de la PTAR con una media de 10,41 mm en los halos de inhibición (resistente), a las cepas que fueron aisladas de la PTAR sin mantenimiento con una media de 8,55 mm en los halos de inhibición (resistente), indicando que la planta de tratamiento reduce la resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina con un mantenimiento frecuente y apropiado en la PTAR del hospital. En las 2 fases de muestreo la media de las cepas de *E. coli* fueron resistentes a la Ampicilina dando consistencia con la información contemplada en la Tabla 8.

Tabla 17. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina y factor el estado de mantenimiento de la PTAR.

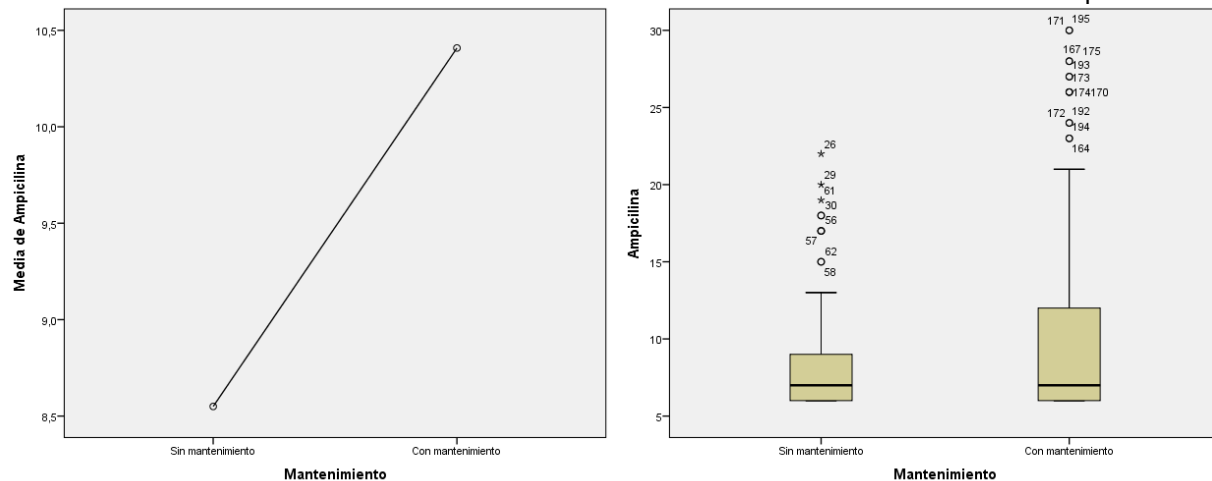
ANOVA

Ampicilina

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	165,763	1	165,763	4,998	,026
Dentro de grupos	6566,792	198	33,166		

Total	6732,555	199			
-------	----------	-----	--	--	--

Gráfica 11. Estado de mantenimiento de la PTAR vs resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina



Fuente: El Autor

▪ Efecto del día

Con el fin de identificar las diferencias entre el número de UFC/ml y el día de muestreo se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula : ¿El número de UFC/ml es igual entre días?

Hipótesis alternativa : ¿El número de UFC/ml cambia ente días?

Escrito de otra forma:

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 18), se rechaza la hipótesis nula y se establece que existen diferencias significativas entre los días muestreo y la resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina. Respecto a la media de halos de inhibición en mm para las cepas de *Escherichia coli* aisladas en los días (8,25 mm), día 2 (8,85 mm), día 3 (9 mm) y el día 4 (7,38 mm), se observó resistencia a la Ampicilina, mientras que las cepas aisladas en el día 5 (media de 14,85 mm) se catalogan como resistencia intermedia (Gráfica 12), también se observa que el día de muestreo con mayor resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina es el día 4 con una media de 7,38 mm de los halos de inhibición, y el día donde se presentó una mayor sensibilidad

de *Escherichia coli* al antibiótico fue en el día 5 con una media de 14,85 mm de los halos de inhibición.

Tabla 18. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina y factor el día de muestreo.

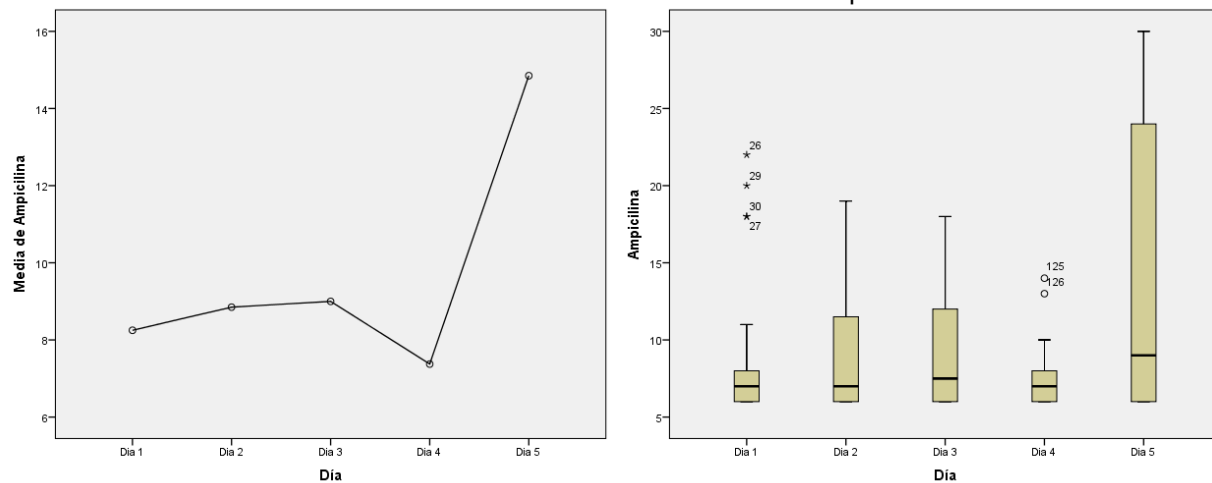
ANOVA

Ampicilina

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1409,480	4	352,370	12,908	,000
Dentro de grupos	5323,075	195	27,298		
Total	6732,555	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 12. Días de muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina



Fuente: El Autor

▪ Efecto de la hora

Con el fin de identificar las variaciones entre la resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina y la hora de muestreo se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula : ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina es igual durante todo el tiempo en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa : ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E varía entre horas?

Escrito de otra forma:

donde son las diferentes horas de muestreo.

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 19), se rechaza la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa, es decir que existen diferencias significativas entre la hora del muestreo y la resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina. Con las variaciones presentes en la Gráfica 13 se identifica que el porcentaje de cepas de *Escherichia coli* resistentes a la Ampicilina dependen del día y no de la hora en que se realizó el muestreo, esto es debido a que las actividades realizadas en el centro médico en las cuales se genera y se puede identificar *Escherichia coli* no son semejantes entre horas por día, es decir no todos los días a las 10 de la mañana los pacientes tratados con antibiótico van al baño o se vierten antibióticos, entre otras, cabe destacar que por información del operario de la PTAR y por observación propia, sobre las 10 de la mañana existe un pico en la generación de vertimientos, pero el agua proviene de las diferentes actividades que se generan en el hospital, como de lavado, y de cocinas; por otro lado la población que utiliza los servicios médicos y aporta vertimientos es intermitente.

Tabla 19. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina y factor la hora de muestreo.

Descriptivos

Ampicilina

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
9:50:00,00	10	6,30	,483	,153	5,95	6,65	6	7
10:02:00,00	10	7,40	1,265	,400	6,50	8,30	6	10

10:15:00,00	10	21,50	4,790	1,515	18,07	24,93	12	28
10:16:00,00	10	13,00	5,850	1,850	8,82	17,18	6	22
10:20:00,00	10	7,20	1,814	,573	5,90	8,50	6	12
10:28:00,00	10	16,40	11,067	3,500	8,48	24,32	6	30
10:30:00,00	10	13,10	3,479	1,100	10,61	15,59	7	17
10:41:00,00	10	8,70	4,547	1,438	5,45	11,95	6	19
10:42:00,00	10	6,00	,000	,000	6,00	6,00	6	6
10:54:00,00	10	6,40	,699	,221	5,90	6,90	6	8
10:55:00,00	10	15,50	10,288	3,253	8,14	22,86	6	30
11:10:00,00	10	8,30	2,830	,895	6,28	10,32	6	14
11:21:00,00	10	6,50	,850	,269	5,89	7,11	6	8
11:28:00,00	10	6,30	,483	,153	5,95	6,65	6	7
11:36:00,00	10	7,10	1,197	,379	6,24	7,96	6	9
11:49:00,00	10	7,60	1,578	,499	6,47	8,73	6	10
13:16:00,00	10	9,00	3,944	1,247	6,18	11,82	6	17
13:28:00,00	10	8,10	2,514	,795	6,30	9,90	6	12
13:38:59,99	10	7,20	1,874	,593	5,86	8,54	6	11
13:50:59,99	10	11,70	3,368	1,065	9,29	14,11	6	18
Total	200	9,67	5,817	,411	8,85	10,48	6	30

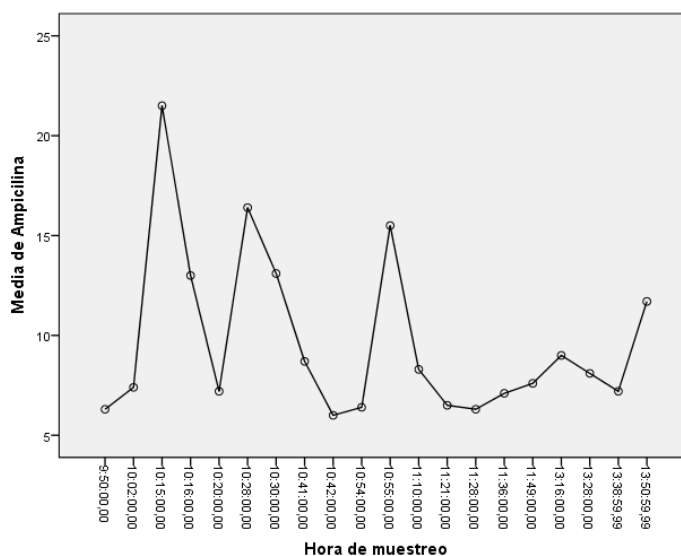
ANOVA

Ampicilina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3371,055	19	177,424	9,501	,000
Dentro de grupos	3361,500	180	18,675		
Total	6732,555	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 13. Hora de muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* a la Ampicilina.



Fuente: El Autor

8.2.2. Resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina.

Con la evidencia de resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina mostrada anteriormente (Gráfica 8), el conocer la variación de resistencia dependiendo diversos factores ayudaría a comprender mejor la situación, por esta razón se estableció el modelo para llevar a cabo el análisis de la siguiente forma.

Donde corresponde al efecto común, es el efecto de la ubicación del muestreo, en este caso resistencia de *Escherichia coli* en el agua residual sin tratamiento y con tratamiento de la PTAR,

corresponde al efecto del mantenimiento de la PTAR, corresponde al efecto del día de muestreo, corresponde al efecto de la hora de muestreo y es el término aleatorio.

Para el experimento, interesan las hipótesis:

- **Efecto de la ubicación del muestreo.**

Hipótesis nula: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina es igual en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina presenta variaciones en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Escrito de otra forma:

Donde = Cepas de *E. coli* del agua residual tratada
 = Cepas de *E. coli* del agua residual no tratada

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 20), se rechaza la hipótesis nula, aceptando la alterna. El comportamiento de resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina dependiendo de la ubicación del muestreo (Gráfica 14), al igual que con la Ampicilina es menor en las cepas que fueron aisladas en el agua residual tratada con una media de 14,05 mm en los halos de inhibición (resistente), a las cepas que fueron aisladas del agua residual sin tratamiento con una media de 10,19 mm (resistente).

Tabla 20. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina y factor la ubicación del muestreo.

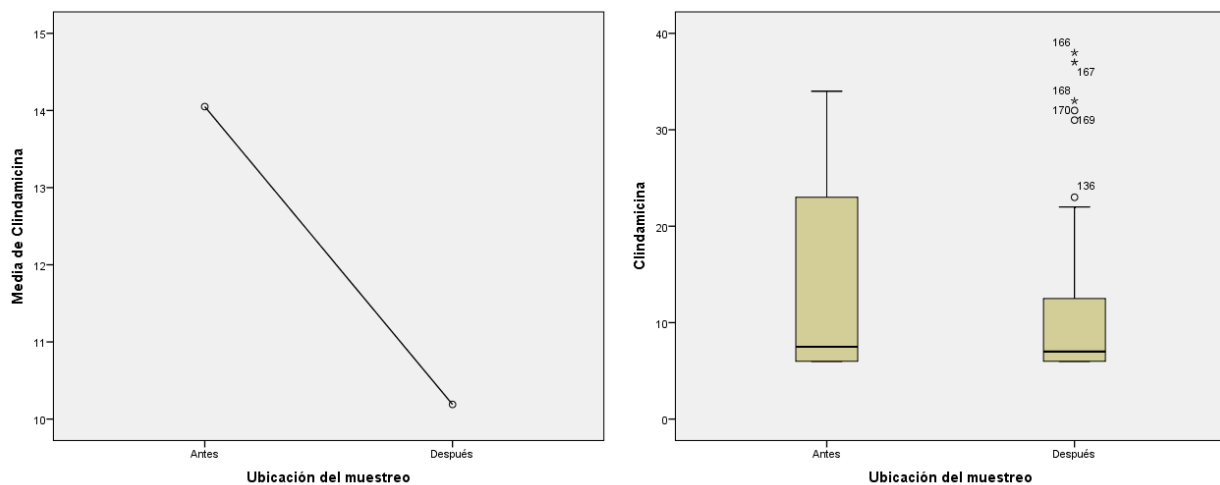
ANOVA

Clindamicina

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	744,980	1	744,980	10,587	,001
Dentro de grupos	13932,140	198	70,364		
Total	14677,120	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 14. Ubicación del muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina



Fuente: El Autor

▪ Efecto del mantenimiento de la PTAR

Con el fin de identificar las variaciones entre la resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina y el estado de mantenimiento de la PTAR se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina es igual en los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento que en los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento en el hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa: ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina cambia en los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento que en los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento en el hospital de Suba II nivel E.S.E?

Escrito de otra forma:

Donde = cepas de *E. coli* aisladas en la PTAR sin mantenimiento

Donde = cepas de *E. coli* aisladas en la PTAR Con mantenimiento

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 21), se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna. El comportamiento de resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina dependiendo del estado de mantenimiento de la PTAR (Tabla 18), al igual que Ampicilina indica que es menor en las cepas que fueron aisladas después del mantenimiento y lavado general de la PTAR con una media de 13,86 mm en los halos de inhibición (resistente), a las cepas que fueron aisladas de la PTAR sin mantenimiento con una media de 9,51 mm (resistente). En las 2 fases de muestreo la media de las cepas de *E. coli* fueron resistentes a la Clindamicina dando consistencia con la información contemplada en la Tabla 8.

Tabla 21. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina y factor estado de mantenimiento de la PTAR.

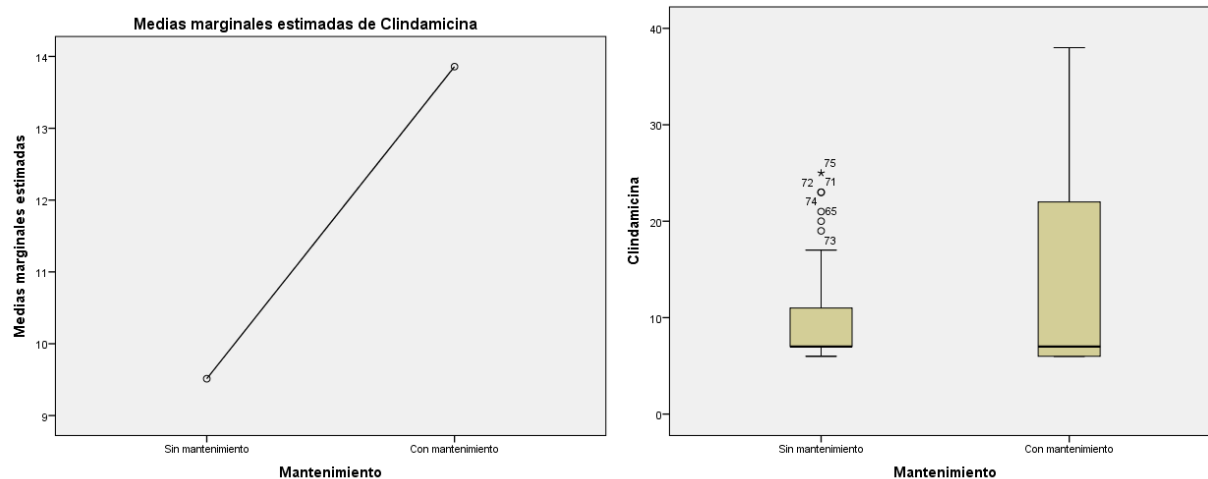
ANOVA

Clindamicina

	Suma de cuadrado s	gl	Media cuadrático	F	Sig.
Entre grupos	906,541	1	906,541	13,0 35	,000
Dentro de grupos	13770,57 9	198	69,548		
Total	14677,12 0	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 15. Estado de mantenimiento de la PTAR vs resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina



Fuente: El Autor

▪ Efecto del día

Con el fin de identificar las diferencias entre el número de UFC/ml y el día de muestreo se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula : ¿El número de UFC/ml es igual entre días?

Hipótesis alternativa : ¿El número de UFC/ml cambia ente días?

Escrito de otra forma:

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 22), se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna. Respecto a la media de halos de inhibición en mm para las cepas de *Escherichia coli* aisladas en los días, el día 1 (7,45 mm), día 2 (11,58 mm), día 3 (7,83 mm) y el día 4 (12,55), se observó resistencia a la Clindamicina, mientras que las cepas aisladas en el día 5 (media de 21,20 mm) se catalogan como Sensibles (Gráfica 16), también se observa que el día de muestreo con mayor resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina es el día 1 con una media de 7,45 mm, y el día donde se presentó una mayor sensibilidad de *Escherichia coli* al antibiótico fue en el día 5 con una media de 21,20 mm.

Tabla 22. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina y factor el día de muestreo..

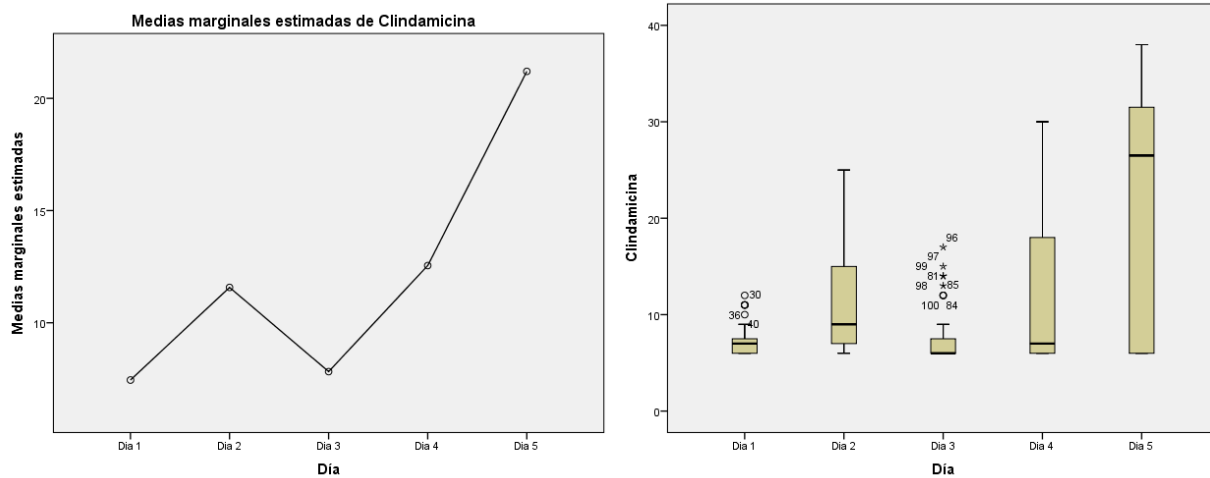
ANOVA

Clindamicina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4927,370	4	1231,842	24,637	,000
Dentro de grupos	9749,750	195	49,999		
Total	14677,120	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 16. Día de muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina.



Fuente: El Autor

▪ Efecto de la hora

Con el fin de identificar las variaciones entre la resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina y la hora de muestreo, se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula : ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina es igual durante todo el tiempo en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa : ¿La resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E varía entre horas?

Escrito de otra forma:

Donde T es las diferentes horas de muestreo.

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 23), se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alterna. En la Gráfica 17 se observa que el porcentaje de cepas de *Escherichia coli* resistentes a Clindamicina depende del día de muestreo y no de la hora, al igual que sucede con las cepas resistentes a la Ampicilina.

Tabla 23. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina y factor la hora de muestreo..

Descriptivos

Clindamicina

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
9:50:00,00	10	6,80	,632	,200	6,35	7,25	6	8
10:02:00,00	10	6,40	,516	,163	6,03	6,77	6	7
10:15:00,00	10	32,10	3,900	1,233	29,31	34,89	25	38
10:16:00,00	10	8,50	2,224	,703	6,91	10,09	6	12
10:20:00,00	10	6,70	,675	,213	6,22	7,18	6	8
10:28:00,00	10	18,10	12,793	4,045	8,95	27,25	6	32
10:30:00,00	10	9,80	3,048	,964	7,62	11,98	6	14

10:41:00,00	10	14,50	3,472	1,098	12,02	16,98	8	20
10:42:00,00	10	15,70	8,908	2,817	9,33	22,07	6	28
10:54:00,00	10	15,30	7,832	2,477	9,70	20,90	6	25
10:55:00,00	10	18,90	13,699	4,332	9,10	28,70	6	34
11:10:00,00	10	6,40	,516	,163	6,03	6,77	6	7
11:21:00,00	10	17,20	4,077	1,289	14,28	20,12	12	23
11:28:00,00	10	8,10	1,853	,586	6,77	9,43	6	11
11:36:00,00	10	6,30	,483	,153	5,95	6,65	6	7
11:49:00,00	10	20,30	8,367	2,646	14,31	26,29	6	30
13:16:00,00	10	8,40	2,875	,909	6,34	10,46	6	13
13:28:00,00	10	10,20	4,590	1,451	6,92	13,48	6	17
13:38:59,99	10	6,70	,675	,213	6,22	7,18	6	8
13:50:59,99	10	6,00	,000	,000	6,00	6,00	6	6
Total	200	12,12	8,588	,607	10,92	13,32	6	38

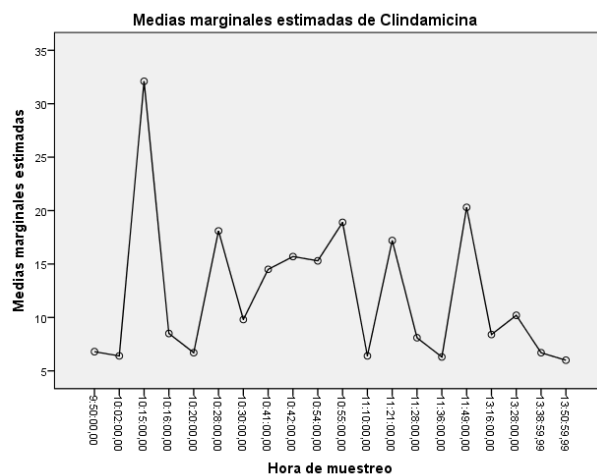
ANOVA

Clindamicina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8782,320	19	462,227	14,114	,000
Dentro de grupos	5894,800	180	32,749		
Total	14677,120	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 17. Hora de muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* a la Clindamicina



Fuente: El Autor

8.2.3. Resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem.

Con la evidencia de resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem mostrada anteriormente (Gráfica 8), el conocer la variación de resistencia dependiendo diversos factores ayudaría a comprender mejor la situación, por esta razón fue necesario establecer el modelo para llevar a cabo el análisis de la siguiente forma.

Donde corresponde al efecto común, es el efecto de la ubicación del muestreo, en este caso resistencia de *Escherichia coli* en el agua residual sin tratamiento y con tratamiento de la PTAR, corresponde al efecto del mantenimiento de la PTAR, corresponde al efecto del día de muestreo, corresponde al efecto de la hora de muestreo y es el término aleatorio.

Para el experimento, interesan las hipótesis:

- **Efecto de la ubicación del muestreo.**

Hipótesis nula: ¿La resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem es igual en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa: ¿La resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem presenta variaciones en los muestreos tomados del agua residual tratada que en los muestreos de agua residual no tratada en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Escrito de otra forma:

Donde = Cepas de *E. coli* del agua residual tratada
 = Cepas de *E. coli* del agua residual no tratada

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 24), se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alterna. El comportamiento de resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem dependiendo la ubicación del muestreo (Gráfica 18), al igual que con la Ampicilina y Clindamicina es menor en las cepas que fueron aisladas en el agua residual tratada con una media de 26,01 mm (Sensible), a las cepas que fueron aisladas del agua residual sin tratamiento con una media de 22,50 (resistencia intermedia). Las cepas adquieren resistencia durante el proceso de tratamiento pasando de ser sensibles a obtener una resistencia intermedia de acuerdo con la información contemplada en la Tabla 8.

Tabla 24. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem y factor la ubicación del muestreo..

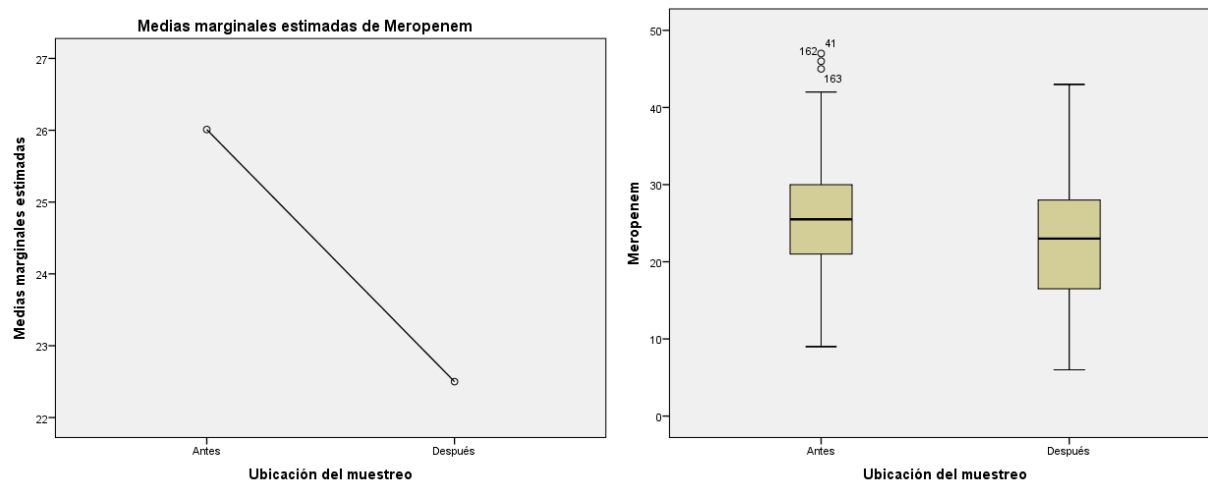
ANOVA

Meropenem

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	616,005	1	616,005	8,550	,004
Dentro de grupos	14265,990	198	72,050		
Total	14881,995	199			

Fuente: El Autor

Gráfica 18. Ubicación del muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem



Fuente: El Autor

▪ Efecto del mantenimiento de la PTAR

Con el fin de identificar las variaciones entre la resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem y el estado de mantenimiento de la PTAR se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula : ¿La resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem es igual en los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento que en los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento en el hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa : ¿La resistencia de al Meropenem cambia en los muestreos de agua residual en la PTAR con mantenimiento que en los muestreos de agua residual en la PTAR sin mantenimiento en el hospital de Suba II nivel E.S.E?

Escrito de otra forma:

Donde = cepas de *E. coli* aisladas en la PTAR sin mantenimiento

Donde = cepas de *E. coli* aisladas en la PTAR Con mantenimiento

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 25), se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna. El comportamiento de resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem dependiendo el estado de mantenimiento de la PTAR (Gráfica 19), al igual que Ampicilina y Clindamicina indica que es menor en las cepas que fueron aisladas después del mantenimiento

y lavado general de la PTAR con una media de 27,23 mm (Sensible), a las cepas que fueron aisladas de la PTAR sin mantenimiento con una media de 19,79 mm (resistente). El mantenimiento de la PTAR cambia la resistencia, con estas acciones las cepas de *Escherichia coli* sometidas a sensibilidad microbiana pasaron de ser resistentes a sensibles.

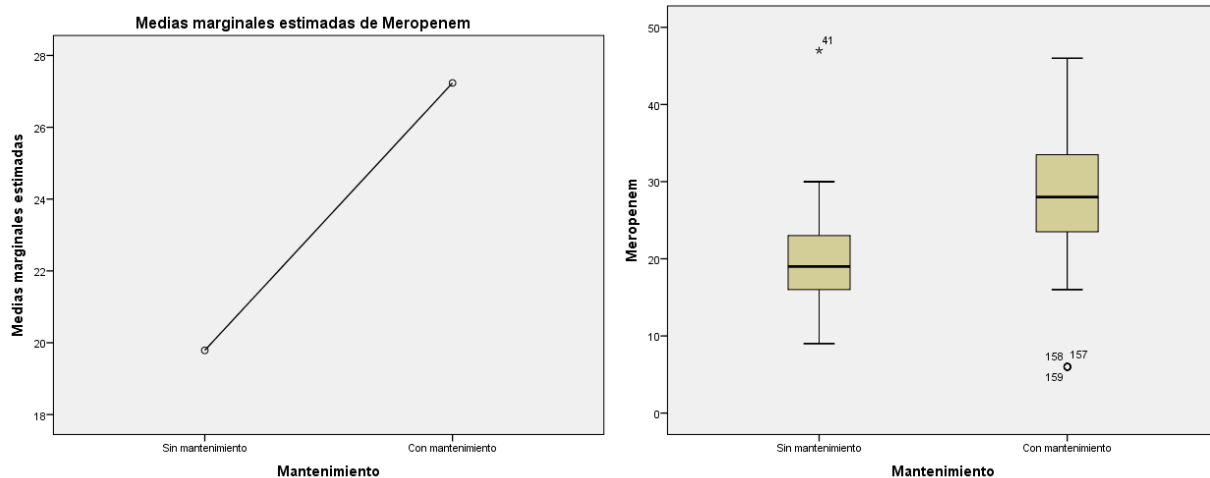
Tabla 25. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem y factor el estado de mantenimiento de la PTAR.

ANOVA

Meropenem

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2661,141	1	2661,141	43,115	,000
Dentro de grupos	12220,854	198	61,721		
Total	14881,995	199			

Gráfica 19. Mantenimiento de la PTAR vs resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem.



Fuente: El Autor

▪ Efecto del día

Con el fin de identificar las diferencias entre la resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem y el día de muestreo se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula : ¿El número de UFC/ml es igual entre días?

Hipótesis alternativa : ¿El número de UFC/ml cambia ente días?

Escrito de otra forma:

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 26), se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alterna. Respecto a la media de halos de inhibición para las cepas de *Escherichia coli* aisladas, el día 1(18,9 mm) mostró resistencia, los días 2 (20,68 mm) y 3 (21,63 mm) mostraron resistencia intermedia y en los días 4 (26,83 mm) y día (14,85 mm) se observó sensibilidad de *Escherichia coli* al Meropenem (Gráfica 20); también se observó que el día de muestreo con mayor resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem es el día 1, y el día donde se presentó una mayor sensibilidad de *Escherichia coli* al antibiótico fue en el día 5.

Tabla 26. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem y factor el día de muestreo.

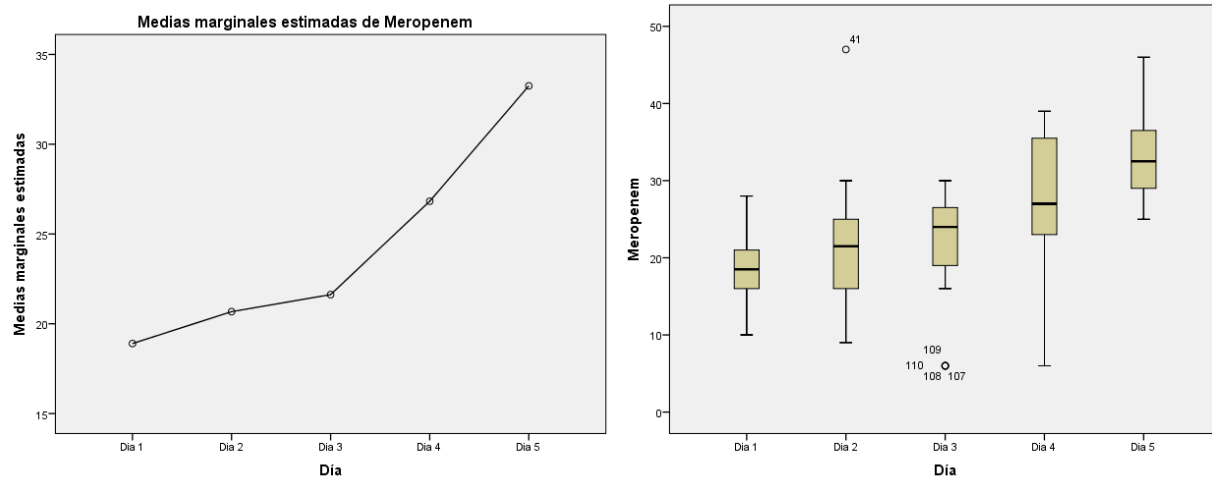
ANOVA

Meropenem

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5436,970	4	1359,243	28,063	,000
Dentro de grupos	9445,025	19	48,436		
Total	14881,995	23			

Fuente: El Autor

Gráfica 20. Día de muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem.



Fuente: El Autor

▪ Efecto de la hora

Con el fin de identificar las variaciones entre la resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem y la hora de muestreo se realizó un análisis ANOVA de un factor definiendo las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula : ¿La resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem es igual durante todo el tiempo en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E?

Hipótesis alternativa : ¿La resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem en la PTAR del hospital de Suba II nivel E.S.E varía entre horas?

Escrito de otra forma:

donde T es las diferentes horas de muestreo.

Como el nivel de significancia es menor que 0,05 (Tabla 27), se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. En la Gráfica 21 se observa que el porcentaje de cepas de *Escherichia coli* resistentes a Meropenem depende del día de muestreo y no de la hora, al igual que sucede con las cepas resistentes a la Ampicilina y Clindamicina.

Tabla 27. Datos descriptivos y análisis ANOVA de un factor con variable dependiente resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem y factor la hora del muestreo..

Descriptivos

Meropenem

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
9:50:00,00	10	19,10	2,885	,912	17,04	21,16	16	26
10:02:00,00	10	21,50	4,453	1,408	18,31	24,69	15	28
10:15:00,00	10	40,30	3,945	1,248	37,48	43,12	34	46
10:16:00,00	10	17,90	6,226	1,969	13,45	22,35	10	27
10:20:00,00	10	22,40	9,240	2,922	15,79	29,01	15	47
10:28:00,00	10	32,20	4,917	1,555	28,68	35,72	25	39
10:30:00,00	10	22,30	3,713	1,174	19,64	24,96	14	26
10:41:00,00	10	13,50	2,799	,885	11,50	15,50	9	17
10:42:00,00	10	29,10	1,595	,504	27,96	30,24	26	32
10:54:00,00	10	24,50	4,170	1,319	21,52	27,48	18	30
10:55:00,00	10	31,40	3,534	1,118	28,87	33,93	27	36
11:10:00,00	10	30,20	6,426	2,032	25,60	34,80	22	38
11:21:00,00	10	30,40	5,461	1,727	26,49	34,31	20	37
11:28:00,00	10	17,10	2,183	,690	15,54	18,66	14	21
11:36:00,00	10	31,70	6,634	2,098	26,95	36,45	23	39

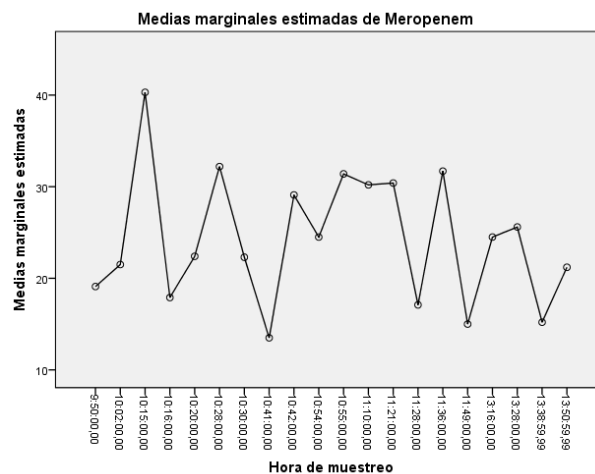
11:49:00,00	10	15,00	9,684	3,062	8,07	21,93	6	28
13:16:00,00	10	24,50	2,759	,872	22,53	26,47	22	30
13:28:00,00	10	25,60	3,098	,980	23,38	27,82	20	30
13:38:59,99	10	15,20	9,750	3,083	8,23	22,17	6	27
13:50:59,99	10	21,20	4,962	1,569	17,65	24,75	16	27
Total	200	24,26	8,648	,611	23,05	25,46	6	47

ANOVA

Meropenem

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9512,095	19	500,637	16,781	,000
Dentro de grupos	5369,900	180	29,833		
Total	14881,995	199			

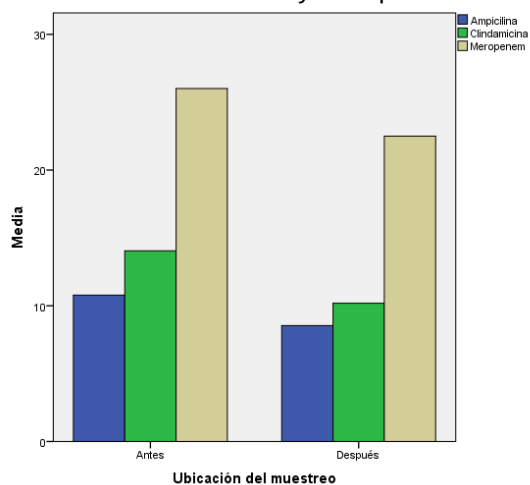
Gráfica 21. Hora de muestreo vs resistencia de *Escherichia coli* al Meropenem.



Fuente: El Autor

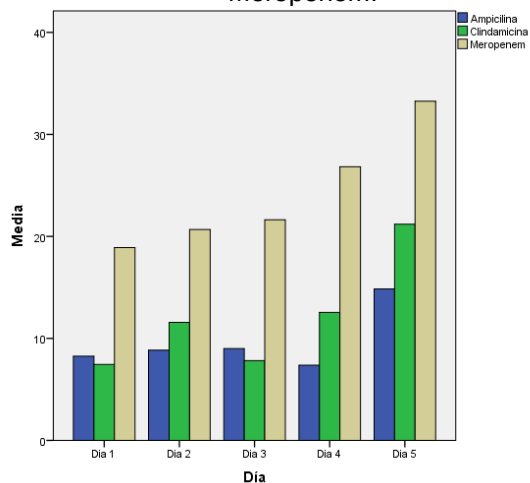
En la Gráficas 22, 23 y 24 se identifican las relaciones entre los antibióticos (Ampicilina, Clindamicina y Meropenem) y las diferentes variables de estudio. *Escherichia coli* presentó una mayor resistencia a los 3 antibióticos en el agua residual tratada; en el día 5 *Escherichia coli* mostró una mayor sensibilidad a la Ampicilina, Clindamicina y Meropenem; otro aspecto significativo se encuentra en la relación de resistencia de *Escherichia coli* a los 3 antibióticos antes y después del mantenimiento general realizado a la PTAR, donde la resistencia disminuyó con el lavado general de la planta.

Gráfica 22. Ubicación del muestreo vs la susceptibilidad de *Escherichia coli* ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.



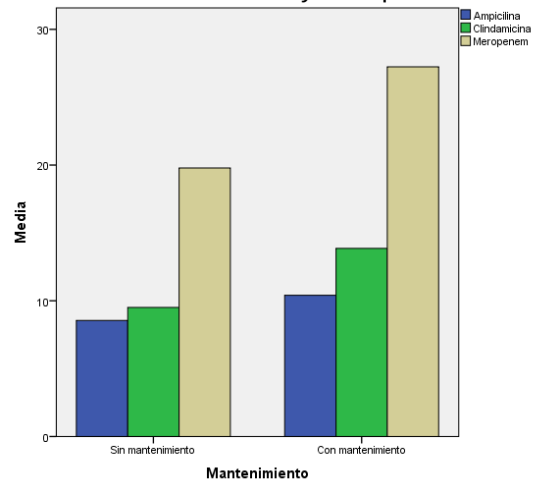
Fuente: El Autor

Gráfica 23. Día de muestreo vs la susceptibilidad de *Escherichia coli* ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.



Fuente: El Autor

Gráfica 24. Mantenimiento de la PTAR vs la suceptibilidad de *Escherichia coli* ante Ampicilina, Clindamicina y Meropenem.



Fuente: El Autor

9. Análisis de resultados

El presente trabajo evaluó la resistencia de *Escherichia coli* a 3 antibióticos usados en el hospital de Suba II nivel E.S.E para el manejo de infecciones; este microorganismo fue seleccionado debido a ser representativo de la flora microbiana del tracto gastrointestinal de animales y humanos y, por lo tanto, el indicador clásico de contaminación fecal [55].

Dentro de los hallazgos del estudio, Ampicilina fue el antibiótico al cual *Escherichia coli* mostró mayor resistencia, con un 83,5% a partir de los aislamientos realizados en el hospital; un estudio similar mostró resistencia de bacilos Gram negativos aislados en una quebrada aledaña a un hospital clase A en Costa Rica a la Ampicilina en un 82% [56], esto se debe a el suministro frecuente de este tipo de antibiótico betalactamico en hospitales, inicialmente por ser un fármaco noble (las reacciones adversas que causa en el ser humano son mínimas comparado con otro tipo de antibióticos), además de estar dentro del grupo de las penicilinas los cuales son antibióticos de primera elección para mujeres embarazadas [57].

Por otro lado, *Escherichia coli* mostró una mayor sensibilidad a Meropenem, con un 60,5% a partir de los aislamientos realizados en el hospital; este valor es menor al compararlo con la tesis doctoral titulada “Sistemas de liberación controlada de Meropenem” [58], donde *Escherichia coli* fue 98,6% susceptible a Meropenem; este incremento de la resistencia se puede explicar debido a que las infecciones bactericidas severas requieren un tratamiento con antibiótico rápido y efectivo a nivel hospitalario, con el fin de evitar complicaciones incluyendo la muerte, por esta razón habitualmente se utiliza una terapia empírica con antibióticos de amplio espectro hasta que el patógeno sea identificado y se seleccione un antibiótico específico contra determinado organismo causante de la infección [59]. Meropenem posee una amplia actividad bactericida por lo cual es seleccionado para tratar este tipo de infecciones, el mal uso de antibióticos y el constante uso como terapia empírica, favorecen la adquisición de resistencia de microorganismos patógenos, ya que la excreción en pacientes tratados con este antibiótico es del 70% en 12 horas por orina y aproximadamente el 2% en heces sin ningún cambio en su estructura [58].

A diferencia de Ampicilina y Meropenem que actúan inhibiendo la síntesis de pared celular, Clindamicina inhibe la síntesis de proteínas en la subunidades ribosomales [60]; en el presente

estudio la resistencia de Clindamicina fue del 74,5%, la constante mutación y alteración genética que se produce en los microorganismos pueden ser algunos factores que favorecen la resistencia a este antibiótico.

En general, se evidenció un aumento de resistencia de *Escherichia coli* a los tres antibióticos estudiados en las cepas aisladas en el agua residual tratada, es decir las cepas están adquiriendo resistencia durante el proceso de tratamiento del hospital, debido a que las cepas con genes de resistencia entran en contacto con cepas sin genes de resistencia y por medio de conjugación, transformación y traducción, alteraciones genéticas y demás [61], dan respuesta con el fin de favorecer supervivencia de la especie creando y aumentando la resistencia al antibiótico.

El mantenimiento realizado a la PTAR mostró en primera instancia la reducción de carga bacteriana en el agua residual tratada, junto con este resultado se evidenció una reducción de resistencia de *Escherichia coli* a los antibióticos, lo cual se debe a que en el momento de lavado del tanque de oxidación principalmente, se remueve una capa gruesa de sedimento, en el que aparentemente estaría presente el reservorio que favorece la resistencia.

La resistencia varía entre días dependiendo de 2 factores principalmente, que además están asociados con la carga bacteriana presente: el primero es el mantenimiento de la PTAR, los días donde no se practica lavado general y mantenimiento a la PTAR mostraron una resistencia mayor a los días en que sí; el otro factor son las características del agua, donde el agua con mayor turbidez, mostró una mayor cantidad de UFC/ml, de esta manera con una mayor carga bacteriana aumenta la probabilidad de encontrar microorganismos resistentes.

La presencia y persistencia de bacterias resistentes a antibióticos ha sido descrita en diferentes ambientes incluyendo suelo, sedimento, agua superficial y agua potable, representando un creciente problema de salud pública [38]. El vertimiento de microorganismos como *Escherichia coli*, que está presente en diferentes entornos, representa un riesgo a la salud, debido a que tienen la facilidad de compartir los genes de resistencia. El desarrollo de resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno natural en los microorganismos y es acelerado por la presión selectiva ejercida por uso y abuso de los agentes antimicrobianos en los seres humanos y animales. La actual falta de nuevos antimicrobianos en el horizonte para reemplazar a los que actualmente funcionan de manera ineficiente, trae mayor urgencia a la necesidad de proteger la eficacia de los medicamentos existentes. Las bacterias inevitablemente encontrarán formas de

resistencia a los antibióticos que desarrollamos, por eso es necesario implementar acciones agresivas para disminuir el desarrollo de nuevos mecanismos de resistencia y evitar la diseminación de la resistencia que ya existe.

Acciones básicas como la utilización de antibióticos solo cuando son necesarios y en el espectro apropiado, no utilizar los antibióticos de forma profiláctica salvo en situaciones que se ha demostrado su eficacia, evitar el uso en tratamiento de virosis y controlar el uso indiscriminado de antibióticos contribuye con la disminución de riesgo en la salud pública debido a que se limita los ambientes propicios para la adquisición de resistencia.

10. Conclusiones y recomendaciones

10.1. Conclusiones

En todas las muestras realizadas en la planta de tratamiento de agua residual del hospital de Suba II nivel E.S.E. se identificó presencia de *Escherichia coli* permitiendo el análisis de susceptibilidad en todas las muestras para identificar el perfil de resistencia.

El porcentaje de resistencia de *Escherichia coli* a los 3 antibióticos de estudio fue, para Ampicilina el 83,5 % de las cepas fue resistente, el 2% intermedio y el 14,5% fue sensible; para Clindamicina el 74,5% de las cepas fue resistente, el 8% fue intermedio y el 17,5 % fue sensible y finalmente para Meropenem el 30% fue resistente, el 9,5% fue intermedio y el 60,5% sensible.

La resistencia de *Escherichia coli* a los diferentes antibióticos siempre fue mayor en el agua residual tratada, esto indica que la planta de tratamiento de agua residual del hospital de Suba II nivel E.S.E actúa como incubadora de resistencia, siendo una posible que la PTAR no cuenta con tratamiento biológico ni desinfección, lo que facilitaría la adquisición de resistencia y proliferación de cepas de *Escherichia coli* resistentes al exterior.

Con el mantenimiento general de la PTAR se evidenció que las cepas de *Escherichia coli* disminuyeron, al mismo tiempo que se redujo la resistencia a los 3 antibióticos estudiados después del mantenimiento general de la PTAR, esto indica que la buena operación, mantenimiento y lavado general de la planta disminuye parcialmente el riesgo biológico producido por la descarga de agua residual con cepas de microorganismos resistentes a los antibióticos, y beneficia la reducción del volumen de UFC de *Escherichia coli* vertidas al alcantarillado.

El día de muestreo donde se obtuvo mayor sensibilidad de *Escherichia coli* a los 3 antibióticos de estudio fue el día lunes 17 de abril de 2017 (último día en que se realizaron los muestreos), esto se debe a la baja actividad y presencia de población generadora de vertimientos en el hospital durante el fin de semana, sumado a las buenas prácticas de manejo en la PTAR.

El día donde se presentó mayor resistencia de *E. coli* a los antibióticos fue el día 1, debido a la falta de mantenimiento de la PTAR por la acumulación de sedimento en el tanque de

homogenización, que es un factor que puede favorecer el aumento de la resistencia adquirida por *Escherichia coli*.

La planta de tratamiento del hospital actualmente no cuenta con un proceso de desinfección, aplican hipoclorito de calcio en el tanque de oxidación con el fin de oxidar la DBO y DQO, de esta forma se están vertiendo contaminantes emergentes como antibióticos, además de una alta carga de microorganismos a ecosistemas acuáticos, de forma que es necesario tomar medidas oportunas con el fin de evitar riegos biológicos como causa de un mal tratamiento de agua residual.

Se realizó un protocolo para la toma de muestras y análisis de susceptibilidad microbiana con el fin de que el hospital tenga control de esta problemática; a pesar de la falta de normatividad y control gubernamental en este campo, realizar estas prácticas es necesario con el fin de evitar riesgos o daños en los ecosistemas y por ende afectar la salud pública.

10.2. Recomendaciones

Para obtener una mayor exactitud de los datos es recomendable usar agar Mueller Hinton, para la elaboración de los antibiogramas, y usar discos de antibióticos comerciales, de acuerdo a lo establecido en la CLSI [9].

El hospital debe involucrar un proceso de tratamiento biológico o aplicar desinfección no clorada como la ozonización o aplicación de rayos UV en la planta de tratamiento, esto contribuye a la reducción o eliminación de microorganismos con genes de resistencia que actualmente el centro médico está vertiendo; del mismo modo tratamientos con tecnologías avanzadas, optimizan y reducen al máximo la generación de riesgos biológicos causados por el tratamiento ineficiente que actualmente posee el centro médico.

El hospital debe realizar vigilancia en la resistencia bacteriana periódicamente, además de esto debe tener como mínimo un informe de resistencia microbiana anual [9], para lo cual puede hacer uso del protocolo elaborado.

Se recomienda disponer en la universidad de instalaciones adecuadas con presencia de insumos y equipos necesarios de laboratorio, debido a que la ausencia o las condiciones precarias de los

laboratorios pueden llegar a alterar los resultados de la investigación o demorar los resultados de la misma.

Bibliografía

- [1] R. Gómez-Lus, Interviewee, *Adaptarse o morir: Bacterias resistentes a los antibioticos*. [Entrevista].
- [2] Anahi Magdaleno, Angela Juárez, Marta Paz, Carina Tornello, Lidia Núñez, Juan Moretton, «Evaluación ecotóxica y genotóxica de agua residuales hospitalarias,» *Acta toxicológica argentina*, vol. 20, nº 1, 2012.
- [3] Emmanuel E., Perrodin Y., Keck G., Blanchard J.M., Vermande P., «Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network,» *Journal of Hazardous Materials*, pp. 117: 1-11, 2005.
- [4] R. Group, Antibióticos una temática siempre actual, Bogotá: Lerner , 1990.
- [5] F. Paredes y J. J. Roca, «Acción de los antibióticos: Perspectiva de la medicación antimicrobiana,» *Farmacología*, vol. 23, nº 3, pp. 116-124, 2004.
- [6] Peter H. Raven, George B. Johnson, Biology, Sixth Edition.
- [7] Corporacion Autonoma Regional (CAR), «CAR,» [En línea]. Available: <https://www.car.gov.co/>. [Último acceso: 2 Marzo 2017].
- [8] «sstp water technologies,» [En línea]. Available: <http://www.sstp.mx/que-es-el-agua-residual.html>. [Último acceso: 2 Marzo 2017].
- [9] Jean B. Patel, Melvin P. Weinstein, George M. Eliopoulos, Stephen G. Jenkins, James S. Lewis II, Brandi Limbago, Amy J. Mathers, Tony Mazzulli, Robin Patel, Sandra S. Richter, Michael Satlin, Jana M. Swenson, Maria M. Traczewski, John D. Turnidge, Barbara, «Performace standards for antimicrobial suceptibility testing M100,» *Clinical and Laboratory Standards Insititute (CLSI)*, vol. 27, p. 282, Enero 2017.

- [10] Angela Muñoz, Carolina Duarte, «Manual de procedimientos para la determinación de suceptibilidad antibiótica en patogenos de importancia hospitalaria,» *Instituto Nacional de Salud*, p. 30, 2012.
- [11] E. Korzeniewska, A. Korzeniewska y 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.
- [12] F. Moges, E. Mengistu, B. Yeshambel y W. Walelegn, Isolation and characterization of multiple drug resistance bacterial pathogens from waste water in hospital and non- hospital environments, Northwest Ethiopia., Etiopia: BioMed Central, 2014.
- [13] S. Pignato, M. A. Coniglio, G. Faro, F. X. Weill y G. Giammanco, «Plasmid-mediated multiple antibiotic resistance of Escherichia coli in crude and treated wastewater used in agriculture.,» *Journal of Water and Health*, vol. 7, nº 2, pp. 251-258, 2009.
- [14] E. Tzoc, M. L. Arias y C. Valiente, «Efecto de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de Escherichia coli y Aeromonas sp.,» *Revista Biomed*, vol. 15, pp. 165-172, 2004.
- [15] Redaccion Salud , «Mujer fallece por una bacteria resistente a los fármacos,» *El Espectador*, 14 Enero 2017.
- [16] Diana Bolaños, Luis Mora, «Evaluación de la presencia de resistencia a Ceftriaxona, Amikacina y Oxacilina en Escherichia coli en vertimientos de agua residual del Hospital de Suba II Nivel E.S.E en Bogotá,» Bogotá, 2015.
- [17] Ingeniar Ambiente, *Manual de operación del sistema de tratamiento de aguas residuales industriales hospital de Suba E.S.E*, Bogotá D.C: Manual PTAR 2014, 2014.
- [18] J. Mensa, J. Gatell y J. E. Garcia Sanchez, «Guia terapeutica antimicrobiana,» Antares, Barcelona, 2014.
- [19] Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica- ANMAT, «AMPICILINA,» VADEMECUM, Argentina, 2010.

- [20] U.S. National Library of Medicine, «Ampicilina,» TOXICOLOGY DATA NETWORK, Rockville Pike , 2003.
- [21] R. Lakshmi y G. Sharon, «Role of beta lactamases in antibiotic resistance: a Review,» *INTERNATIONAL RESEARCH JOURNAL OF PHARMACY* , nº 5, pp. 37-40, 2014.
- [22] C. Toledo y E. Rocci, «Ampicilina,» Laboratorio Drawer S.A, Argentina, 2005.
- [23] K. Comber y J. Boon, «Comparative effects of amoxycillin and Ampicillin on the Morphology of Escherichia coli In Vivo and Correlation with activity,» *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, vol. 12, nº 6, pp. 736-744, 1993.
- [24] R. Hirscha, T. Ternes, K. Haberera y K.-L. Kratzb, «Occurrence of antibiotics in the aquatic environment,» *Science of The Total Environment*, vol. 225, pp. 109-118, 1999.
- [25] B. Halling, S. Nors Nielsen y F. Lanzky, «Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment- A Review,» *Chemosphere*, vol. 36, nº 2, pp. 357-393, 1998.
- [26] Comité de Medicamentos de Asociación de Pediatría, «Clindamicina,» 2015. [En línea]. Available: <http://www.pediamecum.es>. [Último acceso: Mayo 2017].
- [27] Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT, «Clindamicina,» Vademecum, Argentina, 2014.
- [28] C. Lamagna, «Clindamicina,» Laboratorio DRAWER S.A., Buenos Aires, 2013.
- [29] L. Samaranayake, J. Rojas y I. Brook, «Clindamicina para el tratamiento de infecciones dentales,» *Revista ADM* , vol. LXIV, nº 6, pp. 230-237, 2007.
- [30] M. Falagas y S. Gobach, «Clindamicina y metronidazol,» *Tratamiento antimicrobiano*, vol. II, nº 4, pp. 823-844, 1995.
- [31] U.S. National Library of Medicine, «Toxicology Data Network- Clindamicina,» 4 Noviembre 2016. [En línea]. Available: <https://toxnet.nlm.nih.gov>. [Último acceso: Mayo 2017].

- [32] Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT, «Meropenem,» VADEMECUM, Argentina, 2014.
- [33] Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría, «Pediamecum-Meropenem,» 2015. [En línea]. Available: <http://www.pediamecum.es>. [Último acceso: Mayo 2017].
- [34] G. Almaraz y C. Gomez, «MEROPENEM: UN NUEVO CARBAPENEM EN EL ARSENAL TERAPEUTICO,» *Sección de Microbiología. Hospital Virgen de los Lirios. Alcoy*, vol. 2, nº 19, pp. 109-113, 1995.
- [35] J. D. Sibaja Jimenez, «USO DE MEROPENEM EN INFECCIONES BACTERIANAS COMPLICADAS,» *Revista Médica de Costa Rica y Centroamerica* , vol. LXIX, pp. 513-516, 2012.
- [36] G. Fernandez Govantes, «Sistemas de liberación controlada de Meropenem,» Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 2015.
- [37] C. Ramos Alvariño, «Comportamiento de los indicadores sanitarios y ecotoxicológicos de las aguas residuales con trazas de medicamentos,» *Revista Cubana de Química*, vol. XXV, nº 2, pp. 180-205, 2013.
- [38] Events Emmanuel, Yves Perrodin, Paul Vermande, «Efectos del agua residual hospitalaria en ecosistemas acuaticos,» 2002. [En línea]. Available: [file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/Effects%20of%20hospital%20wastewater%20on%20aquatic%20ecosystem%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/Effects%20of%20hospital%20wastewater%20on%20aquatic%20ecosystem%20(1).pdf). [Último acceso: 6 Marzo 2017].
- [39] E. Tzoc, L. M. Arias y C. Valiente, «Efecto de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de Escherichia coli y Aeromonas sp.,» *Biomedica*, vol. 15, nº 3, pp. 165-172, 2004.
- [40] C. Rocha, N. Reynolds y M. Simons, «RESISTENCIA EMERGENTE A LOS ANTIBIÓTICOS: UNA AMENAZA GLOBAL Y UN PROBLEMA CRÍTICO EN EL CUIDADO DE LA SALUD,» *Peru Med Exp Salud Publica*, vol. 32, nº 6, pp. 39-45, 2015.
- [41] R. Hirsh, T. Ternes y K. Haberer, «Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. Science of the Total Environment,» nº 225, pp. 109-118, 1999.

- [42] K. Kummerer, «Pharmaceuticals in the Environment: Sources, fate, effects and risk,» 1st edition, 2001.
- [43] D. Kolpin, E. Furlong, M. M., M. Thurman y S. Zaugg, «Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. stream,» *Environmental Science and Technology*, vol. 6, nº 36, pp. 1202-1211, 1999-2000.
- [44] A. Rajić, M. M., A. Deckert y R. Reid Smith, «Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from finishing swine and the environment of 60 Alberta swine farms,» *Veterinary Microbiology*, nº 104, pp. 189-196, 2004.
- [45] J. M. Poirson, P. Otto y P. Kenmore, «Escherichia coli,» *Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales*, nº 39, pp. 20-27, 2011.
- [46] G. Rodriguez, «Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli,» *Salud pública*, vol. 44, nº 5, pp. 464-475, 2002.
- [47] Eliko- Fundacion Vasca para la seguridad agroalimentaria, «Escherichia coli,» Eliko, Barcelona, 2013.
- [48] B. Alvarez, «CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE Escherichia coli DE IMPORTANCIA CLÍNICA HUMANA AISLADAS DE ECOSISTEMAS DULCEACUÍCOLAS DE LA HABANA,» Universidad de la Habana, L Habana, 2012.
- [49] «EQUIPAMIENTO-MEDICO.NET,» [En línea]. Available: <http://www.equipamiento-medico.net/productos/tipo/192/envases>. [Último acceso: 12 Abril 2017].
- [50] [En línea]. Available: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/maconkeyagar.htm>. [Último acceso: 26 Abril 2017].
- [51] [En línea]. Available: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/embagar.htm>. [Último acceso: 26 Abril 2017].
- [52] «Libros de autores Cubanos,» [En línea]. Available: <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0preclini--00-0---0-10-0---0---0direct-10---4-----0-1l--11-vi-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-0utfZz-8-00&a=d&cl=CL1&d=HASH01ebc63ab80c0bbb5a182dab.20.4>. [Último acceso: 18 Mayo 2017].

- [53] «Organización Mundial de la Salud,» [En línea]. Available: <http://www.who.int/drugresistance/surveillance/es/>. [Último acceso: 12 junio 2017].
- [54] Lorena Florez, Tatiana Sanchez, «Evaluación de la presencia de resistencia a Ceftriaxona, Amikacina y Oxacilina en tres microorganismos en vertimientos de agua residual del Hospital de Suba II Nivel E.S.E en Bogotá,» 2017.
- [55] Edgardo Tzoc, Maria Arias, Carmen Valiente, «Efecto de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas* sp.,» *Biomed*, nº 15, pp. 165-172, 2004.
- [56] J. Méndez, «Evaluación y comparación del patrón de susceptibilidad a antibióticos de bacilos Gram negativos aislados de una quebrada aledaña a un hospital clase A y de la quebrada los negritos,» *Hidrogénesis*, vol. 4, nº 1, p. 14, 2006.
- [57] N. Flores, *Penicilina*, Santa Cruz de la Sierra, 2015.
- [58] G. Fernandez, «Sistemas de liberación controlada de Meropenem,» UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, Madrid, 2015.
- [59] D. Sibaja, «Uso de Meropenem en infecciones bacterianas complicadas,» *Revista medica de Costa Rica*, pp. 513-516, 2012.
- [60] Department of molecular biology, Odense University, «Interaction of the antibiotics clindamycin and lincomycin with *Escherichia coli* 23S ribosomal RNA,» *Nucleic Acids Research*, vol. 20, nº 18, pp. 4717-4720, 1992.
- [61] v. Wintersdorff, J. Penders, v. Niekerk, N. Mills, S. Majumder, A. van, P. Savelkoul y P. Wolffs, «Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer,» *U.S. National Library of Medicine*, 2016.

Anexo A. Protocolo para la toma de muestras y análisis de susceptibilidad.

Anexo B. Preparación de medios.

Para estudiar un microorganismo es necesario cultivarlo, por esta razón se recurre a optimizar los factores que facilitan su desarrollo en medios de cultivo los cuales son soluciones líquidas o gelatinosas que contienen los nutrientes necesarios para el crecimiento de microorganismos

Los medios de cultivo se preparan de la siguiente forma:

PREPARACIÓN DE AGAR EOSIN METHYLENE BLUE (EMB)

Para la preparación de placas con medio de cultivo MB se debe suspender 37,5 g del polvo en un litro de agua destilada, esta mezcla debe ser preparada en un matraz de Erlenmeyer; este procedimiento se realizó en matraz de Erlenmeyer con un volumen de 250 ml, para ser efectivo el procedimiento solo se preparan 120 ml de mezcla por cada Erlenmeyer de 250 ml, esto con el fin de evitar ebullición excesiva lo cual generaría erupción en el proceso de auto clavado.

De esta manera, mediante una ecuación se calcula la cantidad de polvo que será utilizado para la elaboración de 120 ml de medio, dicha fórmula es la siguiente.

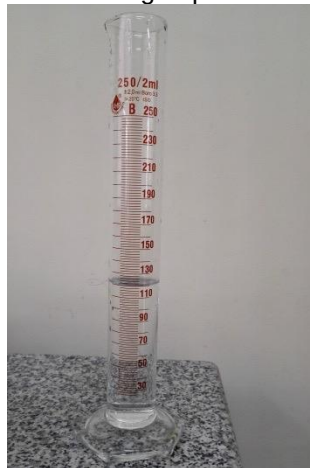
El agua destilada se mide en una probeta de 250 ml con el fin de tener exactitud del volumen deseado, el medio de cultivo es pesado en una balanza analítica, posterior a esto se realiza la mezcla en el Erlenmeyer de 250ml como se observa en las fotografías 13 y 14. Cuando la combinación este formalizada se debe dejar reposar 5 minutos; se mezcla, calentando a ebullición durante 1 o 2 minutos hasta su disolución. Posteriormente se esteriliza en autoclave a no más de 121°C durante 15 minutos.

Fotografía 13. Pesaje de polvo de agar.



Fuente: El autor

Fotografía 14. Medición de volumen de agua para la elaboración de medios de cultivo.



Fuente: El autor

Después de retirado el medio de la autoclave se realiza el respectivo depósito dentro de las cajas Petri, para esto, los medios de cultivo se deben enfriar a 45°C y distribuir suavemente por las cajas Petri, cada caja Petri debe contener un volumen aproximado de 20 ml.

Debido a las condiciones del lugar y con el fin de evitar la contaminación de los medios de cultivo se procede a servir las cajas Petri con los medios de cultivo recién salidos del proceso de auto clavado, cerca del calor producido por el fuego.

Se procedió a esperar mientras cada caja Petri con el medio de cultivo en su interior se solidifico, después de esto el paso siguiente fue realizar el sembrado de microorganismos con el agua residual recolectada en el Hospital de Suba II nivel E.S.E.

Preparación de Solución salina al 85%.

La preparación de solución salina fue realizada en Erlenmeyer de 250 ml, se utilizó Cloruro de Sodio () y agua destilada. Para obtener esta solución se procedió a diluir el Cloruro de Sodio () o sal de cocina, en agua destilada de la siguiente forma.

Cada 100 ml de agua destilada debe contener 0,85 gramos de NaCl, por lo tanto, dependerá del volumen de la solución salina la ecuación de su preparación.

Para las diluciones de agua residual antes de la siembra de colonias de *Escherichia coli* fueron necesarios 24 tubos de ensayo con un volumen de 9 ml cada uno para un día de muestreo, por lo tanto, se preparó de la siguiente forma:

Como son 24 tubos de ensayo con un volumen de 9ml cada uno fueron necesarios 216 ml de agua destilada.

De esta manera se evidenció que para preparar 216 ml de solución salina fue necesario 1,836 gr de NaCl y 216 ml agua destilada, se debió agitar suavemente hasta que no se evidenció visualmente ningún contenido de NaCl. El procedimiento fue el mismo para los diferentes volúmenes de solución salina requerida en los diferentes procesos.

Con la solución preparada se procedió a depositar los 9 ml pertinentes en cada tubo de ensayo con pipeta, para esto se introduce la pipeta (con la punta cónica hacia abajo) en el Erlenmeyer el cual contiene la solución salina preparada y del cual se desea extraer un volumen determinado de muestra, consecutivamente se colocó la pera de succión en la punta libre y se hizo ascender el líquido por encima del aforo superior, de esta forma fue posible graduar el volumen requerido para ser trasladado a los tubos de ensayo que en este caso son 9 ml, por último se trasladó la

pipeta al tubo de ensayo y se extrajo todo el líquido absorbido por la pipeta en el tubo de ensayo; los tubos de ensayo fueron tapados con la tapa rosca para su posterior esterilización en la autoclave a no más de 121 °C durante 15 minutos.