



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Escherichia coli*
RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN
MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *bla_{CTX-M}* EN EL CURSO DEL
RÍO ISINCHE LATACUNGA.

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Médicas
Veterinarias Zootecnistas

Autoras:

Bungacho Michilena Melanie Lizeth

Quezada Suárez Priscila Arianna

Tutor:

Molina Cuasapaz Edie Gabriel MSc.

Latacunga – Ecuador

Febrero 2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Melanie Lizeth Bungacho Michilena con cedula de ciudadanía No. **172511248-4** y **Priscila Arianna Quezada Suárez** con cédula de ciudadanía No. **172220676-8** declaramos ser autoras del presente proyecto de investigación: **“Ocurrencia y caracterización de Escherichia Coli resistente a cefalosporina de tercera generación mediado por la familia génica *bla*_{CTX-M} grupo 1 en el curso del Río Isinche, Latacunga”**, siendo el Médico Veterinario Zootecnista MSc. **Edie Gabriel Molina Cuasapaz** Tutor del presente trabajo; y eximimos expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certificamos que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 10 de marzo del 2021



.....
Melanie Lizeth Bungacho Michilena
Estudiante
CC: 172511248-4



.....
Priscila Arianna Quezada Suárez
Estudiante
CC: 172220676-8



.....
MVZ. MSc. Edie Gabriel Molina Cuasapaz
Docente Tutor
CC: 1722547278

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte de, **BUNGACHO MICHILENA MELANIE LIZETH** identificada con cedula de ciudadanía **172511248-4** de estado civil soltera a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el PhD. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. – **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Escherichia coli* RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *bla*_{CTX-M} EN EL CURSO DEL RÍO ISINCHE LATACUNGA**” el cual se encuentra elaborado según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – Inicio de la carrera: ABRIL 2016 - AGOSTO 2016 – Finalización.- OCTUBRE 2020-MARZO 2021

Aprobación de Consejo Directivo.- 26 de enero del 2021

Tutor.- MVZ. MSc. Molina Cuasapaz Edie Gabriel

Tema: “**OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Escherichia coli* RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *bla*_{CTX-M} EN EL CURSO DEL RÍO ISINCHE LATACUNGA**”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **EL CESIONARIO** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 10 días del mes de marzo del 2021



.....
Melanie Lizeth Bungacho Michilena
LA CEDENTE

.....
PhD. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga
EL CESIONARIO

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte de, **QUEZADA SUAREZ PRISCILA ARIANNA** identificada con cedula de ciudadanía 172220676-8 de estado civil soltera a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el PhD. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. – **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Escherichia coli* RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *bla*_{CTX-M} EN EL CURSO DEL RÍO ISINCHE LATACUNGA**” el cual se encuentra elaborado según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – Inicio de la carrera: ABRIL 2016 - AGOSTO 2016 – Finalización.- OCTUBRE 2020-MARZO 2021

Aprobación de Consejo Directivo.- 26 de enero del 2021

Tutor.- MVZ. MSc. Molina Cuasapaz Edie Gabriel

Tema: “**OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Escherichia coli* RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *bla*_{CTX-M} EN EL CURSO DEL RÍO ISINCHE LATACUNGA**”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **EL CESIONARIO** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. – LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas

se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 10 días del mes de marzo del 2021



.....
Priscila Arianna Quezada Suárez
LA CEDENTE

.....
PhD. Nelson Rodrigo Chigvano Umajinga
EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación sobre el título:

“OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Escherichia coli* RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *bla*_{CTX-M} EN EL CURSO DEL RÍO ISINCHE LATACUNGA” de Bungacho Michilena Melanie Lizeth y Quezada Suárez Priscila Arianna de la carrera de MEDICINA VETERINARIA, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del AVAL DE APROBACIÓN al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 10 de marzo del 2021



.....
MVZ. MSc. Edie Gabriel Molina Cuasapaz
Docente Tutor
CC: 1722547278

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

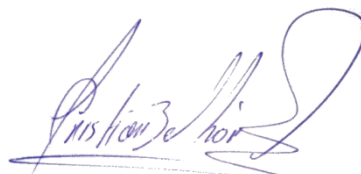
En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, las postulantes: Bungacho Michilena Melanie Lizeth y Priscila Arianna Quezada Suarez, con el título del Proyecto de Investigación “OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *BLA_{CTX-M}* EN EL CURSO DEL RÍO ISINCHE, LATACUNGA”, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúnen los méritos suficientes para ser sometidos al acto de sustentación de trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 10 de marzo del 2021



.....
Lector 1 (presidente)
Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar
CC: 050161635-3



.....
Lector 2
Dr. Cristian Fernando Beltrán Romero
CC: 050161635-3



.....
Lector 3
Dr. Cristian Neptalí Arcos Álvarez
CC: 050161635-3

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a mi papá y mamá; Wilson y Bety, por darme la vida y por hacer todo lo posible para que nunca me falte nada, por convertirse en mi apoyo y motivación para seguir adelante siempre; a mis hermanos, Jefferson y Camila, por las risas y enojos, por todos los consejos y amor que me han brindado a lo largo de mi vida; a mi familia en general por estar siempre presente directa e indirectamente; a mis mascotas, por ser fundamentales al momento de encontrar mi vocación y amor a la carrera; a mi mejor amiga y compañera de tesis Arianna, con quien empecé este largo camino y ahora lo terminamos juntas; a mi mejor amigo Richard, por ser una de las pocas personas que no me ha abandonado cuando más he necesitado de alguien; a mi persona especial, por ser mi apoyo y celebrar siempre mis triunfos; a quien puedo considerar como un amigo, el cucaracha, por guiarnos en esta gran tarea, tenernos paciencia y siempre estar al pendiente de nosotras y por último, a nuestro tutor.

Melanie Lizeth Bungacho Michilena

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer en primer lugar a mis padres, por la vida y el esfuerzo en darme una carrera, un techo y comida, por hacerme una mujer de valores, humilde y respetuosa; a mis hermanas por confiar en mí y apoyarme, a toda esa familia cercana que siempre estuvo esperando verme triunfar, al fin lo logré.

A mi mejor amiga y compañera de tesis, por estar a mi lado en mis peores y mejores momentos, sin duda esta experiencia sumará al resto que nos falta por compartir juntas.

A mis amigos con los que compartí esta loca vida Universitaria, llena de alegrías y penas, aunque ahora nuestros caminos tomen rumbos diferentes, sé que siempre podré contar con cada uno de ustedes.

Al equipo de Life Science Initiative, por todos los conocimientos que nos brindaron en la elaboración de esta tesis; al igual que a nuestro tutor Gabriel Molina, sin su paciencia y dedicación esto no hubiera sido posible.

Y por último quiero agradecer a mi precioso Bills, mi gato, por esos ronroneos que me salvaron muchas veces.

Priscila Arianna Quezada Suárez

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a las mismas personas a las que agradecí, por todo lo mencionado anteriormente, y a mí, por nunca rendirme a pesar de todas las veces que pensé no poder y seguir, por luchar y esforzarme en cada paso para poder conseguir mi sueño.

Melanie Lizeth Bungacho Michilena

DEDICATORIA

Llena de alegría quiero dedicarme este trabajo, como constancia de que puedo lograr todo lo que me proponga y a mi estrellita Paúl E., algún día nos volveremos a encontrar querido amigo.

Priscila Arianna Quezada Suárez

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

“OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Escherichia coli* RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA *bla*_{CTX-M} EN EL CURSO DEL RÍO ISINCHE LATACUNGA”

Autoras: Melanie Lizeth Bungacho Michilena
Priscila Arianna Quezada Suárez

RESUMEN

El uso de antibióticos como promotores de crecimiento, profilácticos y terapias empíricas es común en la producción animal a pequeña escala en las zonas rurales de Ecuador. Estas prácticas promueven la evolución de bacterias multirresistentes en animales. Las heces de animales se diseminan al medio ambiente circundante y a los ríos, mediante los cuales la contaminación llega a las personas a través de la cadena alimentaria. Sin embargo, las características de esta contaminación en nuestra región siguen siendo en gran parte desconocidas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la contaminación por bacterias multirresistentes en un río rural, utilizando *E. coli* como indicador de contaminación fecal y resistencia a cefalosporinas de tercera generación (3GC) como marcador de multirresistencia.

El río Isinche se muestreó en 4 puntos. Los recuentos totales de *E. coli* y *E. coli* resistentes a 3GC se calcularon mediante filtración en TBX y TBX suplementados con ceftriaxona 3 µg / ml. Se estudiaron mediante PCR los genes filogrupos, *bla*_{CTX-M} (Grupos 1, 2, 8 y 9) y *mcr-1*. La susceptibilidad a veintiún antibióticos pertenecientes a 10 familias se evaluó mediante Kirby-Bauer.

SP1, en el nacimiento del río, estaba libre de *E. coli* resistente a 3GC. SP2, SP3 y SP4, influenciados por la producción animal, mostraron una alta contaminación por *E. coli* resistente a 3GC, hasta 8×10^1 *E. coli* resistente a 3GC/mL y una *E. coli* resistente a 3GC/ *E. coli* 50 susceptible. Se aislaron ciento cuatro *E. coli* resistentes a 3GC para su posterior análisis. Los aislamientos pertenecían a los filogrupos D (67%), B2 (13%) y A (1%). Se detectaron genes de resistencia *bla*_{CTX-M} y *mcr-1* en 96% y 6%, respectivamente *bla*_{CTX-M}. Los grupos 1 y 9 fueron los más prevalentes (56% y 38). Este perfil de población es concordante con las identificadas en las infecciones de inicio comunitario. La población demostró multirresistencia incluida la resistencia a carbapenémicos y tigeciclina

Utilizando como modelo el río Isinche, nuestro estudio proporciona una advertencia sobre el alto potencial de los ríos rurales para propagar la *E. coli* multirresistente. Por lo tanto, se recomienda encarecidamente implementar regulaciones basadas en métodos de última generación.

PALABRAS CLAVES: Resistencia antimicrobiana, *Escherichia coli*, diseminación, río Isinche

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

“OCURRENCE AND CHARACTERIZATION OF *Escherichia coli* THIRD GENERATION
CEPHALOSPORIN RESISTANCE MEDIATED BY *bla*_{CTX-M} GENES IN ISINCHE RIVER,
LATACUNGA”

Authors: Melanie Lizeth Bungacho Michilena
Priscila Arianna Quezada Suárez

ABSTRACT

Antibiotics use as growth promoters, prophylactics, and empiric therapies is common in small-scale animal production in Ecuador’s rural zones. These practices promote the evolution of multidrug resistant bacteria (MDR) in animals. Animal’s feces disseminate MDR to the surrounding environment and rivers, from the contamination reaches people through the food chain. However, the characteristics of this pollution in our region remain largely unknown. Therefore, the aim of this study was to evaluate MDR pollution in a rural river, using *E. coli* as the fecal contamination indicator and third-generation cephalosporin- (3GC) resistance as the MDR marker.

The Isinche River was sampled at 4 sampling points. Total *E. coli* and 3GC-resistant *E. coli* counts were estimated using filtration on TBX and TBX supplemented with ceftriaxone 3µg/mL. Phylogroups, *bla*_{CTX-M} (Groups 1,2,8 and 9) and *mcr-1* genes were studied by PCR. Susceptibility for twenty-one antibiotics belonging to 10 families was evaluated using Kirby-Bauer.

SP1, at the born of the river, was free of 3GC-resistant *E. coli*. SP2, SP3 and SP4, influenced by animal production, showed a high contamination by 3GC-resistant *E. coli*, up to 8x10¹ 3GC-resistant *E. coli*/mL and one 3GC-resistant *E. coli*/50 susceptible *E. coli*. One hundred four 3GC-resistant *E. coli* were isolated for further analysis. The isolates belonged to phylogroups D(67%), B2(13%) and A(1%). Resistance genes *bla*_{CTX-M} and *mcr-1* were detected in 96% and 6%, respectively. *bla*_{CTX-M} Groups 1 and 9 were the most prevalent (56% and 38%), and groups 2 and 8 were registered in 1% of the isolates. This population profile is concordant with identified in community-onset infections.

Using as a model Isinche River, our study provides a warning about the high potential of the rural rivers for spreading MDR *E. coli*. Therefore, implementing regulations based on state-of-the-art methods is strongly recommended.

KEYWORDS: MDR, Isinche River, *bla*_{CTX-M}, *E. coli*.

INDICE DE PRELIMINARES

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	vi
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	ix
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE TITULACIÓN	x
AGRADECIMIENTOS	xi
AGRADECIMIENTOS	xii
DEDICATORIA	xiii
DEDICATORIA	xiv
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvi
INDICE DE PRELIMINARES	xvii
INDICE DE CONTENIDO	xviii
INDICE DE TABLAS	xxi
INDICE DE FIGURAS	xxii
INDICE DE ANEXOS	xxiii

INDICE DE CONTENIDOS

1. INFORMACIÓN GENERAL	1
Título del Proyecto:	1
Fecha de inicio:.....	1
Fecha de finalización:.....	1
Lugar de ejecución.....	1
Facultad que auspicia.....	1
Carrera que auspicia:	1
Proyecto de investigación vinculado:	1
Equipo de Trabajo	1
Área de Conocimiento:.....	1
Línea de investigación:	1
Sub líneas de investigación de la Carrera:.....	1
2. JUSTIFICACIÓN	2
3. BENEFICIARIOS	2
Directos:.....	2
Indirectos:	2
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
5. OBJETIVOS	3
Objetivo general:	3
Objetivos específicos:.....	3
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS	3
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	4
7.1 Historia	4
7.2 Consecuencias del uso inapropiado de antibióticos	5
7.3 Uso apropiado e inapropiado de los antibióticos.....	5
7.4 Uso inapropiado extra e intra hospitalariamente	6
7.4.1 Extra.....	6
7.4.2 Intra.....	6
7.5 Uso en animales.....	6
7.6 Tipos de resistencia.	7
7.6.1 Natural o intrínseca.....	7
7.6.2 Adquirida.	8
7.6.3 Las resistencias cromosómicas	8

7.6.4 Las resistencias transferibles	8
7.7 Mecanismos de resistencia	9
7.8 Antibióticos de uso común	9
7.8.1 Cefotaxima.....	10
7.8.2 Ceftazidima.....	10
7.8.3 Cefepime.....	10
7.8.4 Cefoxitin	10
7.8.5 Aztreonam	10
7.8.6 Imipenem.....	11
7.8.7 Tetraciclina	11
7.8.8 Tigeciclina	11
7.8.9 Doxiciclina.....	11
7.8.9 Ciprofloxacina	11
7.8.10 Ácido Nalidíxico.....	11
7.8.11 Norfloxacina	11
7.8.12 Levofloxacina	12
7.8.13 Gentamicina.....	12
7.8.14 Netilmicina	12
7.8.15 Amikacina.....	12
7.8.16 Nitrofurantoina	12
7.8.17 Fosfomicina	12
7.8.18 Cloranfenicol	13
7.8.19 Sulfametoxazol/Trimetoprima.....	13
7.8.20 Azitromicina	13
7.9 GENÉTICA (<i>bla</i> _{CTX-M}).....	13
7.9.1 Betalactamasas de espectro extendido BLEE.....	14
7.10 CTX-M	14
7.11 MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA EN LAS CEFALOSPORINAS	15
8. VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS	15
9. METODOLOGÍA.....	15
Método.....	15
Técnica.....	15
9.1 Instrumentos	15
9.2 Trabajo de campo	16

9.3 Trabajo de Laboratorio	16
9.3.1 Cuantificación.....	16
9.3.2 Antibiogramas	17
9.3.3 Análisis bla _{CTX-M}	19
9.3.4 Filogrupos.....	20
10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	20
11. IMPACTOS SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS:	26
11.1 Impacto Ambiental:	26
11.2 Impacto Social:	27
12. CONCLUSIONES	28
13. RECOMENDACIONES	28
14. BIBLIOGRAFÍA	29
15. ANEXOS	35

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Clasificación y uso de las cefalosporinas</i>	9
Tabla 2 <i>Antibióticos usados</i>	17
Tabla 3 <i>Parámetros de susceptibilidad</i>	18
Tabla 4 <i>Protocolos PCR de identificación de la familia génica bla_{CTX-M}</i>	19
Tabla 5 <i>Cuantificación de Escherichia coli total y Escherichia coli resistentes a Cefotaxima en los puntos de muestreo</i>	21
Tabla 6 <i>Perfiles genéticos de las 104 E. coli resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche</i>	25
Tabla 7 <i>Datos del conteo de unidades formadoras de colonias TBX por cada mililitro.</i>	38
Tabla 8 <i>Datos del conteo de unidades formadoras de colonias TBX+Ceftriaxona (CRO) por cada mililitro.</i>	38

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Uso de suelo y puntos de muestreo</i>	21
Figura 2. <i>Frecuencia de presentación de Escherichia coli y Escherichia coli resistente a C3G, en los puntos de muestreo del río Isinche</i>	22
Figura 3. <i>Perfil de susceptibilidad de las E. Coli resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche</i>	23
Figura 4. <i>Perfil de multirresistencia de las E. Coli resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche</i>	24
Figura 5. <i>Río Isinche puntos de muestreo</i>	38
Figura 6. <i>Recolección de muestras Punto 1</i>	39
Figura 7. <i>Recolección de muestras Punto 2</i>	39
Figura 8. <i>Recolección de muestras Punto 3</i>	40
Figura 9. <i>Recolección de muestras Punto 4</i>	40
Figura 10. <i>Procedimiento de Recolección de muestras</i>	41
Figura 11. <i>Preparación de medio de cultivo sin y con antibiótico</i>	41
Figura 12. <i>Procedimiento de filtración</i>	42
Figura 13. <i>Repique de colonias</i>	42
Figura 14. <i>Etiquetado de eppendorf para colonias</i>	43
Figura 15. <i>Proceso de extracción de ADN</i>	43
Figura 16. <i>Preparación de muestras para electroforesis</i>	43
Figura 17. <i>Resultado PCR en transiluminador</i>	44

INDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Hoja De Vida Docente Tutor	35
Anexo N° 2: Hoja de vida Estudiante 1	36
Anexo N° 3: Hoja de vida estudiante 2.....	37
Anexo N° 4: Tablas de conteo de colonias	38
Anexo N° 5: Metodología del trabajo de campo.....	38
Anexo N° 6: Aval de Traducción.....	45

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

Ocurrencia y caracterización de *Escherichia coli* resistente a cefalosporina de tercera generación mediado por la familia génica *bla*_{CTX-M} gen el curso del río Isinche, Latacunga.

Fecha de inicio: 30/11/2020

Fecha de finalización: 15/02/2021

Lugar de ejecución:

La Victoria-Pujilí- Cotopaxi

Facultad que auspicia

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado:

Equipo de Trabajo:

Tutor: Edie Gabriel Molina Cuasapaz (Anexo N° 1)

Estudiantes: Melanie Lizeth Bungacho Michilena – Priscila Arianna Quezada Suárez (Anexo N° 2 y N° 3)

Área de Conocimiento:

Veterinaria - Ciencias de la Salud

Línea de investigación:

Salud Animal

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Microbiología, Parasitología, Inmunología y Sanidad Animal.

2. JUSTIFICACIÓN

La resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema de gran impacto en la Salud Pública y este ha ido en incremento durante los últimos años debido al uso imprudente que se le ha dado a los mismos, recalcando que el 70% de su uso es en animales sanos como promotores de crecimiento y de manera preventiva.

En vista a tal problemática, se planteó desarrollar la investigación en el río Isinche ya que este recorre diferentes sitios de conglomeración de personas, entre ellos el campus Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi. El uso del agua de este río durante su recorrido incluye actividades antropogénicas, entre ellas la producción agropecuaria. La existencia de estos microorganismos resistentes se debería a que, al liberarse los desechos en los ríos sin ningún tratamiento, estos aportan con gran cantidad de estos microorganismos y estos son diseminado por toda su trayectoria. Además, la información genética desarrollada para sobrevivir a los antimicrobianos podría expandirse e incrementar la población de bacterias resistentes con sus alarmantes consecuencias a la población que vive en sus cercanías y usa el agua para el riego de cultivos, y a la población en general que consume estos productos.

3. BENEFICIARIOS

Directos:

Pobladores y animales de las cercanías del Río Isinche desde Pujilí hasta Salache Bajo

Indirectos:

Consumidores de los productos agropecuarios de la zona encontrada a las riveras del Río Isinche desde Pujilí hasta Salache Bajo

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La gran capacidad para adaptarse de las bacterias y generar resistencia es uno de los mayores problemas para la humanidad, se cree que incluso estas estuvieron en contacto con antibióticos naturales antes del descubrimiento por parte del ser humano por lo que su resistencia se considera como un mecanismo adaptativo natural adquirido durante su evolución, por lo cual el uso de antibióticos por el hombre podría poner en evidencia dicha resistencia, así como acelerar su aparición o promoverla.

La resistencia se puede dar por el uso inadecuado de los antibióticos como emplearlos sin prescripción médica o el incumplimiento de la posología descrita, pobre calidad de la medicina, programas deficientes para la prevención y control de la infección e incluso la prescripción innecesaria de estos.

Como consecuencia de esta resistencia es la reducción de resultados favorables ante enfermedades, desde las más simples hasta complejas, por lo que se vuelve necesario utilizar medicamentos de mayor generación y alargar el tiempo de tratamiento, y, de igual manera aumenta el riesgo de mortalidad.

Es por esto por lo que la resistencia antibiótica es considerada uno de los mayores problemas, por lo cual es necesario un plan de acción global para combatirla, crear conciencia, optimizar el uso de antibióticos y promover investigaciones para reducir la reproducción de microorganismos resistentes.

5. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar la ocurrencia de *Escherichia Coli* resistente a cefalosporina de tercera generación mediado por la familia génica *bla*_{CTX-M} en el curso del río Isinche, Latacunga.

Objetivos específicos:

- Cuantificar *Escherichia Coli* y *Escherichia Coli* resistentes en la demografía del río Isinche.
- Determinar las variaciones alélicas *bla*_{CTX-M} en las bacterias *Escherichia coli* resistentes.
- Establecer los patrones de resistencia de *Escherichia Coli bla*_{CTX-M} grupo 1.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS

Objetivos	Actividad	Resultado de la actividad	Medios de Verificación
Cuantificar <i>Escherichia Coli</i> y <i>Escherichia Coli</i> resistentes en la demografía del río Isinche.	Muestreo y análisis de agua en 4 puntos diferentes del río Isinche tomados en 4 diferentes tomas cada 2 horas.	Cantidad de <i>Escherichia Coli</i> total: 7099.52 <i>Escherichia coli</i> resistente: 1044700 en el río Isinche.	Cuantificación de <i>Escherichia coli</i> total y <i>Escherichia coli</i> resistentes a Cefotaxima en los puntos de muestreo.
Determinar las variaciones alélicas <i>bla</i> _{CTX-M} en las bacterias <i>Escherichia Coli</i> resistentes.	Análisis molecular de bacterias <i>Escherichia Coli</i> resistente a <i>bla</i> _{CTX-M}	Descripción de las variantes génicas: <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1, grupo 9, grupo 8, grupo 2	Perfiles genéticos de las 104 <i>E. coli</i> resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche.
Establecer los patrones de resistencia de <i>Escherichia Coli bla</i> _{CTX-M} grupo 1.	Antibiogramas de resistencia antibiótica producida por el gen <i>bla</i>	Cuantificación de las bacterias que contengan el gen <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1	Antibiogramas y Perfil de susceptibilidad de las <i>E. Coli</i> resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche.

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 Historia

En la actualidad, los antibióticos son considerados como uno de los descubrimientos más importantes en la medicina contemporánea, varios científicos contribuyeron al descubrimiento y desarrollo de los antibióticos en el siglo XX, en 1941 el microbiólogo estadounidense Selamn Waksman propuso la utilización del término “antibiótico”. Sin embargo, muy probablemente los antibióticos fueron utilizados inadvertidamente mucho antes de su descubrimiento oficial. (1)

Existen evidencias de la presencia de tetraciclinas en materiales provenientes de la civilización egipcia, y, probablemente, la costumbre de utilizar tierra en la curación de enfermedades por parte de muchas tribus y civilizaciones antiguas guarda relación con el hecho de que el suelo es una de las principales fuentes de microorganismos productores de antibióticos.(2).

No obstante, fue hace aproximadamente 70 años, que el descubrimiento de la penicilina, por Alexander Fleming, supuso una revolución total en el ámbito del tratamiento de enfermedades infecciosas, lo cual conllevó a salvar millones de vidas. Además, con el pasar del tiempo dentro del arsenal terapéutico se han ido incorporando alrededor de unos doscientos compuestos antibióticos, esto provocó que se presuma que las bacterias patógenas terminarían siendo derrotadas de cualquier forma, pero, esto está completamente alejado a la realidad en la que estamos viviendo, debido a que muchos de estos antibióticos se han tornado inútiles para cumplir su función, debido a que la resistencia bacteriana a varios de estos antibióticos cada vez se va extendiendo más y más, dando como resultado que enfermedades como la meningitis o la tuberculosis ya no se curen tan fácilmente.(2)

Tras el descubrimiento de la penicilina por Fleming surgieron nuevos estudios encabezados por Florey, Chain y Abraham lo que desencadenó posteriormente el descubrimiento real de la resistencia bacteriana el cual fue dado a conocer por los mismos Abraham y Chain, naciendo las conocidas hoy en día como penicilinasas. (1)

En 1960 tras la producción de penicilinasas sintéticas, se desarrolla la primera generación de cefalosporinas de primera generación, desde el mismo año hasta 1978 se desarrolló la siguiente generación de cefalosporinas (3), fue en el año 1963 que se aislaron las primeras betalactamasas, la TEM-1 de Ecoli, SHV-1 y la PSE-1, las cuales se fueron diseminando gracias a los plásmidos que eran capaces de transferir genes que otorgan resistencia a antibióticos betalactámicos (4).

Para finales de 1977 e inicios de 1978 se produce la aparición de cefalosporinasas, a partir de este último año a 1995 inició la era de las cefamicinas, oxymiocefalosporinas, monobactams, carbapenems y de los inhibidores de betalactamasas (5), por otro lado en 1978, en Estados Unidos, se aprobó el uso de cefoxitina, debido a que era un antibiótico resistente a los plásmidos conocidos, posteriormente se utilizó un antibiótico betalactámico de tercera generación conocido como cefotaxime, siendo usado ampliamente en hospitales (6).

Surge el aztreonam, que actúa en presencia de las betalactamasas producidas por bacilos gramnegativos y actividad antipseudomónica más no contra bacterias grampositivas y

organismos anaeróbicos (7), continuaron estudios con la molécula carbapenems, esta fue mejorada y como resultado se obtuvo el imipenem el cual era inactivado únicamente con unas pocas bacterias productoras de metaloencimas (8).

Se observaron betalactamasas que mostraban afinidad por las cefalosporinas de tercera generación y monobacterias para 1983 se reporta la primera betalactamasa de espectro extendido, denominada SHV-2 descubierta en Alemania, reportada en Francia y Estados Unidos, por otro lado, en el año 1984, para evitar la hidrólisis de la penicilina, se comenzó a utilizar ácido clavulánico con el objetivo de inactivar el sitio de unión de la betalactamasa bacteriana. (5)

En 1985 se comenzó el uso de imipenem combinado con el fin de sobrellevar las resistencias de betalactamasas, sin embargo, era inactivado por metaloenzimas, en el transcurso de ocho años se abrían identificado seis nuevos agentes betalactámicos; de origen natural, cefamicinas, carbapenems y clavams, de origen sintético, monobactam y dos semisintéticos, oxyminobetalactámicos, sulfonas del ácido penicilánico. (9).

Se descubren los primeros derivados de betalactamasas TEM con alta afinidad al ácido clavulánico en 1991, así mismo, se describen dos betalactamasas de espectro expandido, OXA-11 y OXA-14 y para 1999 se observaron multirresistencia a diferentes antibióticos en un mismo individuo (5).

Desde el descubrimiento de la resistencia se han desarrollado diferentes investigaciones las cuales creaban nuevos antibióticos, uno más fuerte que otro, para poder contrarrestar a las bacterias, logrando su objetivo, pero no por mucho tiempo, ya que, el mal uso de estos y las diferentes capacidades para adaptarse de las bacterias, generaban resistencia tras resistencia, dándonos como resultado superbacterias que son capaces de terminar con la vida. (9)

7.2 Consecuencias del uso inapropiado de antibióticos

Para instaurar una terapia antibiótica adecuada, es necesario considerar la efectividad, sin dejar de lado ámbitos importantes como:

- Daño en el paciente por riesgo de toxicidad o alergia.
- Emergencia de gérmenes multirresistentes y superinfecciones.
- Incremento de costos. (10)

Con esto podemos darnos cuenta de que el uso inadecuado de los antibióticos puede acarrear problemas serios en varios ámbitos como el económico, bienestar del paciente, inutilidad del antibiótico, adaptación de las bacterias, entre otros. Que en consecuencia sobrecargan el sistema de salud pública. (11)

7.3 Uso apropiado e inapropiado de los antibióticos

El mito de la eficacia absoluta de los antibióticos se ha expandido, desde el siglo pasado cada vez con mayor énfasis, por lo tanto, se ha provocado sobre utilización de estos, dentro del ámbito ambulatorio como en el hospitalario.

7.4 Uso inapropiado extra e intra hospitalariamente

7.4.1 Extra

En el ámbito extrahospitalario la administración por vía parental de los antibióticos se vuelve inapropiada, debido a que existen razones técnicas que nos llevan a la ineficacia en el tratamiento, esto por las dosis subterapéuticas que son dañinas potencialmente, en especial aquellos antibióticos donde las tasas séricas son poco previsibles y de manera eventual son asociadas a la toxicidad. Al igual que el uso inapropiado de agentes orales con una absorción mediocre, más que nada si existen alternativas con espectro idéntico y absorción más eficientes. (10)

7.4.2 Intra

Los factores que están implicados en la utilización racional de los antimicrobianos en los hospitales son muchos, entre estos hay que destacar la participación del médico prescriptor, la calidad de la administración por parte de la enfermera, la expectativas y necesidades del paciente, por otro lado también tenemos la influencia ejercida por la promoción de la industria farmacéutica, el abastecimiento regular de los medicamentos que depende exclusivamente de la logística y el cumplimiento adecuado de la normatividad de los organismos de regulación, un claro ejemplo de esto es “el cumplimiento del peticionario farmacológico y la prescripción con Denominación Común Internacional (DCI)” (10) esto debido a que su costo es elevado, se desarrollan resistencias y pueden ocasionar problemas peores que los que pretenden resolver (12).

7.5 Uso en animales

La mayoría de los animales criados para consumo reciben o están expuestos a algún tipo de antibiótico durante el curso de su vida. En muchos casos los animales reciben antibióticos, como en el caso de los seres humanos, para el tratamiento de infecciones. Pero también estos fármacos son utilizados para el tratamiento de los ambientes de desarrollo de distintos animales y, durante mucho tiempo, también se emplearon como factor de promoción del crecimiento (13).

Estos usos mencionados con anterioridad generan de manera principal una difusión de concentraciones subterapéuticas, esto adicionado a la asociación con los tiempos prolongados de exposición, nos da como resultado un incremento constante del riesgo de provocar el desarrollo de cepas resistentes, además que los antibióticos que son administrados en animales tienen incluso más posibilidades de volver a circular en el medio ambiente a través de las deposiciones, junto con los gérmenes que hubieran sobrevivido al antibiótico en el tracto intestinal(14), según los estudios, en un porcentaje del 75 al 90% (14).

Ahora bien, la selección de existencia constituye un gran problema que es reconocido de manera global, gracias al uso de concentraciones subóptimas de antibióticos, que no tienen un fin terapéutico, cabe considerar que en varios países en la actualidad el uso de estos para los fines ya tratados se encuentra prohibido. (15).

Por otro lado, existen riesgo de presencia de antibióticos en los alimentos, tales como: problemas alérgicos, tóxicos y asociados a las resistencias bacterianas. Los problemas alérgicos son conocidos y afectan a la población sensibilizada, sin embargo, si se encuentran en

concentraciones bajas de antibióticos, no afectan gravemente a este grupo de personas, pero pueden desencadenar reacciones que a largo plazo pueden ser graves (16).

En tanto a los problemas toxicológicos, son muy difíciles de probar debido a las bajas concentraciones residuales de los antibióticos, pero suelen identificarse de acuerdo al sitio de afección de dicho antibiótico a algún órgano. (17). Finalmente la resistencia antibiótica se asocia a la presencia de residuos de antibióticos en alimentos humanos, pero, como menciona (18).

“Las concentraciones residuales de antibióticos presentes en alimentos provenientes de animales tratados, difícilmente sean capaces de seleccionar bacterias resistentes, dado que a tan bajas concentraciones los antibióticos no pueden actuar sobre microorganismos resistentes ni sensibles” lo cual nos explica que debido a la baja cantidad de antibióticos presentes en los alimentos no tienen mayor efecto sobre quienes los consumimos, por lo que el riesgo de la salud de los consumidores no está en los residuos que se encuentran en los alimentos, si no, en que pueden provocar fallos terapéuticos en los tratamientos veterinarios e incluso riesgo de transferencia de bacterias resistentes de animales al hombre (19).

La resistencia de *Escherichia Coli* a los antibióticos es un fenómeno descrito hace mucho tiempo, desde la crianza intensiva bajo presión quimioterápica, la cual es una forma ideal de generar resistencia, dicho hecho fue demostrado por Smith en 1957, en cerdos tratados con tetraciclinas en la dieta, además, fue en esta época donde se descubrió el uso de antibióticos como promotores de crecimiento y esta actividad fue realizada en forma extensiva, dando como resultado cepas resistentes de *Escherichia Coli*.(19)

Escherichia coli , *Salmonella typhimurium* , enterococos vancomicina , *Campylobacter* quinolonas , son microorganismos que habrían desarrollado multiresistencia, por lo menos en parte de explotaciones agropecuarias (20). Este hecho se debe sumar al conocimiento de la enorme capacidad de intercambio genético existente en el intestino, y de la magnitud del reservorio de resistencia representado por los microorganismos saprófitos que lo pueblan, que, como bien se sabe, bajo presión antibiótica se vuelven extremadamente peligrosos. (18)

Consecuentemente, esta resistencia viene generando gran preocupación sobre la transferencia de bacterias resistentes de animales al hombre, causando discusión sobre el uso de los antibióticos a bajas dosis para la prevención de enfermedades y el beneficio de estos en cuanto se trata de producción, así mismo, se discute el tema sobre el origen de dicho fenómeno de transferencia, ¿proviene del uso inadecuado en los animales o del hombre?, siendo ambas partes culpables de este fenómeno. Por un lado, los seres humanos por el uso indebido e inadecuado de los antibióticos y por otro lado, el uso de los antibióticos en explotaciones agropecuarias como promotores de crecimiento, cuyos antibióticos utilizados tienen mecanismo de acción similares a los que se usan en tratamientos humanos (19).

7.6 Tipos de resistencia.

7.6.1 Natural o intrínseca.

Es una propiedad específica de las bacterias, cuya aparición es anterior al uso de los antibióticos. Existe en todas las bacterias de la misma especie, pero a diferentes familias

de antibióticos lo que les permite tener ventaja competitiva con respecto a otras cepas de la misma bacteria (21).

7.6.2 Adquirida.

Generalmente, los cambios en la secuencia de bases de cromosomas se transmiten de forma vertical de generación en generación. Sin embargo, entre bacterias la transmisión de material genético se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético movable como integrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas, produciendo mutaciones que convierten a las bacterias en resistentes. De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos. (22)

7.6.3 Las resistencias cromosómicas

Este tipo de resistencias presenta cambios estructurales, mismos que se producen por mutaciones que son errores, que se producen en el proceso de replicación del ADN. Clásicamente, antes de conocerse los mecanismos que la producían, el desarrollo de resistencias rápidas fue definido como resistencia tipo estreptomycin. En el caso de resistencias más lentas, se las conocía como resistencias tipo penicilina (23).

La mayoría de las veces, las mutaciones son escalonadas, lentas, como en el caso de las quinolonas. Esto requiere una mutación a nivel del gen que codifica la producción de una enzima (girasa de ADN) ayudando en el proceso de transcripción de ADN. Sin embargo, a veces, el desarrollo de resistencia a quinolonas es más rápido, como en el caso de las enterobacteriaceae en que una sola mutación da lugar a un nivel bajo de resistencia, requiriendo una segunda mutación para adquirir un nivel elevado (23).

7.6.4 Las resistencias transferibles

Este tipo de resistencia tiene como característica principal el obtener información genética que codifica resistencia de otra bacteria en ADN extracromosómico que se autoduplica en el interior de la bacteria, se cree que este material proviene de bacterias resistentes naturalmente o que producen antibiótico, ya sea por recombinación de genes o un mecanismo picking up. El intercambio de material genético entre bacterias puede incrementar enormemente la diseminación de los microorganismos resistentes (24).

La primera descripción de resistencia transferible fue hecha en Japón en los años 50. Sin embargo, se ignoraba la magnitud e importancia que ese fenómeno iba a tener en el tratamiento de las enfermedades infecciosas humanas y animales.² Los genes que codifican resistencia a antibióticos fluyen desde y hacia bacterias Gram positivas y Gram negativas y bacterias que habitan nichos extremadamente diferentes (23).

El tracto gastrointestinal animal y humano ha sido considerado como el lugar de elección de las transferencias de resistencias. Así, el intestino de animales salvajes, animales de compañía, y, esencialmente peces, en especial considerando explotaciones comerciales para producción de éstos, representan lugares donde el fenómeno se produce en gran escala.

La actividad microbiana se puede encontrar en el medio ambiente en circunstancias especiales, y es ahí donde los intercambios de material genético se dan de una forma

más extensa, al igual que en los cursos de agua que tienen relación con el vertido de desechos cloacales que no tiene un tratado de agua previo (23).

7.7 Mecanismos de resistencia.

El primer mecanismo de resistencia a las sulfas determinado que se conoció es la hiperproducción de PABA (ácido paraaminobenzoico). Además de la hiperproducción metabólica, otros mecanismos incluyen la inactivación enzimática de los antibióticos, como es el caso de las enzimas betalactamasas. Aquí la enzima elaborada por la bacteria inactiva a la molécula de la droga volviéndola incapaz de actuar. Hay que tener presente que este mecanismo es el único capaz de inactivar a la molécula de antimicrobiano (5).

La impermeabilidad de la membrana o pared celular está dada por la expulsión de mecanismos activos del antibiótico mientras que la modificación del sitio blanco del antibiótico en la bacteria puede presentar en algunos casos una reducción de la afinidad del receptor por la molécula de antimicrobiano (25).

7.8 Antibióticos de uso común

Las cefalosporinas se clasifican de acuerdo a su generación, cada generación contiene miembros que comparten actividad antibacteriana similar.

Tabla 1
Clasificación y uso de las cefalosporinas

Generación	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta	
Fármacos	Oral	Cefalexina Cefadroxilo Cefradina	Loracarbef Cefaclor Cefuroxime axetil Cefprozil	Cefixime Cefdinir Cefpodoxima proxetil Ceftibuten	
	Parenteral	Cefalotina Cefazolina Cefradina Cefapirina	Cefamandol Cefonicid Cefoxitina Ceforinida Cefuroxime Cefotetan Cefmetazole	Cefoperazone Ceftazidime Moxalactam Cefotaxime Ceftizoxime Cefmenoxime Ceftriaxone	Cefepime Cefpirone
	Bacterias aerobias gram-positivas y algunos gram-negativos	Bacilos gram-negativos	La mayoría de las bacterias gram-negativas y contra bacterias productoras de betalactamasas	Bacilos aerobios gram-negativos resistentes a cefalosporinas de tercera generación	
Usos	Profilaxis de intervenciones quirúrgicas. prevenir infecciones de microorganismos gran-positivos	Prevenir y tratar infecciones causadas por bacterias gram-negativas	Cubren enterobacterias poco habituales e inhiben a las más comunes a concentraciones mucho más bajas	Infecciones nosocomiales causadas por agentes resistente	

Cada una de las generaciones de cefalosporinas son usadas de acuerdo a su necesidad, es por esto que conforme más resistencia se genere, más es la necesidad de nuevos antibióticos con mayor espectro que el anterior para erradicar al agente patógeno.

7.8.1 Cefotaxima

Es antibiótico betalactámico de amplio espectro, semisintético de tercera generación, actúa contra una variedad de bacterias grampositivas y gramnegativas, incluyendo algunos microorganismos resistentes a antibióticos como ampicilina, tetraciclina y cloranfenicol. (26)

Este medicamento es utilizado en veterinaria para el tratamiento de infecciones susceptibles a la acción de la cefotaxima en hueso, articulaciones, próstata, sistema nervioso, aparato respiratorio, genitourinario, gastro-entérico, en el caso de bovinos está recomendado como tratamiento contra pasteurelosis y manhemiosis. En porcinos está indicado contra salmonelosis. (27)

Utilizado este producto no se puede consumir la leche hasta 96 horas después de su última aplicación y no debe ser administrado 5 días antes del sacrificio de animales destinados al consumo humano.

7.8.2 Ceftazidima

Antibiótico cefalosporina de amplio espectro, de tercera generación. Su actividad frente a microorganismos Gram positivos es hasta un 50 % inferior a cefotaxima, y es similar frente a las enterobacterias Gram negativas. No obstante, su característica más destacada es la buena actividad frente a Pseudomonas, lo que explica su denominación de cefalosporina antipseudomona. (28)

Este medicamento es de uso humano, y no es se adquiere sin prescripción médica ya que su uso es intrahospitalario.

7.8.3 Cefepime

Es un antibiótico betalactámico perteneciente a la cuarta generación de cefalosporinas, cuya formulación le confiere mayor espectro y potencia, mejor penetración celular y un alto grado de resistencia a la hidrólisis de las β -lactamasas. Este medicamento es usado en humanos, cánidos y felinos para infecciones varias, mas no se suministra sin prescripción médica. (29)

7.8.4 Cefoxitin

Cefoxitin se usa en el tratamiento de muchos tipos de infecciones bacterianas, incluyendo las infecciones severas o que ponen su vida en peligro, también se usa para prevenir infección en las personas que tienen ciertos tipos de cirugía, por lo tanto este medicamento es de uso intrahospitalario y no es común en uso veterinario porque provoca efectos secundarios gastrointestinales.(30)

7.8.5 Aztreonam

El aztreonam es actualmente el único monobactámico disponible tiene actividad similar a la ceftazidima contra, no es activo contra anaerobios, actúa en forma sinérgica con los aminoglucósidos (31). Este antibiótico no está autorizado como medicamentos veterinarios, no deben usarse en animales productores de alimentos y en animales domésticos solo son administrados en circunstancias excepcionales (32)

7.8.6 Imipenem

El imipenem es un antibiótico beta-lactámico derivado de la tienamicina y es el primer miembro de la familia de los antibióticos carbapenem, el imipenem es una de las drogas de más amplio espectro conocido, utilizada intrahospitalariamente. Poco usada en el campo veterinario. Se absorbe rápida y completamente a partir de los tejidos muscular y subcutáneo. Además inhibe el crecimiento in vitro de algunas cepas de *Escherichia coli* que habían mostrado resistencias a varios antimicrobianos.(33)

7.8.7 Tetraciclina

Las tetraciclinas son antimicrobianos de amplio espectro, con actividad contra una gran gama de bacterias gram-positivas y gram-negativas, fueron propuestos por primera vez a mediados de los años cincuenta, cuando se descubrió que medicamentos como la penicilina procaína y la tetraciclina, usados en pequeñas dosis (terapéuticas) en la alimentación, tienen la capacidad de incrementar el peso de aves, cerdos y bovinos de corte en una proporción cercana al 5 %. (34)

7.8.8 Tigeciclina

La tigeciclina es eficaz en uso humano y veterinario contra muchas bacterias resistentes, incluso aquellas con resistencia a las tetraciclinas. Sin embargo, el aumento progresivo de resistencia bacteriana a tetraciclina de primera y segunda generación ha limitado el uso de este antibiótico. (35)

7.8.9 Doxíciclina

La doxíciclina es un antibiótico de tetraciclina de amplio espectro muy utilizado en medicina veterinaria. Sin embargo, no es usada en animales de consumo o producción de leche por el alto tiempo de retiro del mismo. El espectro antimicrobiano de la doxíciclina permite su uso en diversas enfermedades de los animales domésticos. (36)

7.8.9 Ciprofloxacina

Es el fármaco más activo de este grupo contra los microorganismos gramnegativos aerobios, sobre todo en *P. aeruginosa*. Por el desarrollo de microorganismos resistentes a las fluoquirononas se ha visto la probabilidad de retirar estos antibióticos de la aplicación veterinaria ya que dicha resistencia puede transmitirse a los humanos que consumen los animales tratados con estos medicamentos. (37)

7.8.10 Ácido Nalidíxico

A través de los años, el ácido nalidíxico ha sido modificado con el objetivo de obtener un espectro más amplio de cobertura antimicrobiana, dando origen a las primeras fluoroquinolonas, su espectro ataca principalmente enterobacterias Bacilos gramnegativos: *E. coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* (38)

7.8.11 Norfloxacina

Quinolona fluorinada muy activa contra diversas bacterias aerobias grampositivas y gramnegativas, útil en especial en el tratamiento de las infecciones de vías urinarias. Según su concentración, su efecto puede ser bacteriostático o bactericida. Actúa a nivel intracelular e inhibe la subunidad A de la DNA girasa, enzima esencial para el enrollamiento y superenrollamiento del DNA bacteriano, acción que impide su duplicación y favorece su rompimiento.(39). La norfloxacina se absorbe rápido, pero de

manera incompleta después de administración oral. Su biodisponibilidad es cercana a 70%. Este medicamento ha sido retirado de las casas farmacéuticas. (40)

7.8.12 Levofloxacin

La levofloxacin es el isómero L de la ofloxacin, una fluoroquinolona antibacteriana, utilizada en el tratamiento de infecciones producidas por gérmenes sensibles. La levofloxacin muestra un efecto post-antibiótico: después de una exposición a este antibiótico, los gérmenes no pueden reiniciar su crecimiento durante unas 4 horas, aunque los niveles del antibiótico sean indetectables. En caninos se utilizan en patologías a nivel cutáneo como urinario, con alta eficacia (41)

7.8.13 Gentamicina

Es un antibiótico aminoglucósido de amplio espectro. Actúa sobre bacterias gramnegativas aerobias, incluyendo enterobacteriáceas, *Pseudomonas* y *Haemophilus*. Actúa también sobre estafilococos (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*) incluyendo cepas productoras de penicilinas, tiene actividad muy limitada sobre estreptococos. Carece de actividad sobre bacterias anaerobias. En veterinaria es comúnmente usado en colibacilosis neonatal en lechones, mientras que en cánidos y felinos se usa para infecciones genitourinarias, infecciones del tracto respiratorio, infecciones de piel y tejidos blandos, gastroenteritis bacterianas, bacteriemias y septicemias. (42)

7.8.14 Netilmicina

La netilmicina es un antibiótico aminoglucósido semisintético derivado de la sisomicina, utilizado por vía parenteral en el tratamiento de infecciones producidas por gérmenes sensibles. Este antibiótico no es muy común en el mercado y en su remplazo se administra gentamicina. Los estudios clínicos han demostrado que netilmicina es eficaz en bacteriemia, septicemia (incluyendo sepsis neonatal). Infecciones graves de las vías respiratorias, renales y genitourinarias. (43)

7.8.15 Amikacina

La amikacina se ha utilizado con éxito para tratar infecciones que de otro modo serían resistentes a los aminoglucósidos y es el aminoglucósido semisintético más utilizado. Su farmacocinética es similar a la de la gentamicina y tobramicina. Sin embargo, a pesar de los primeros resultados prometedores en el tratamiento de varias afecciones como infección del tracto urinario, endocarditis, infecciones por *Klebsiella pneumoniae* y *Mycobacterium*. (44)

7.8.16 Nitrofurantoina

Es un fármaco de primera línea para el tratamiento de infecciones del tracto urinario no complicadas, de las cuales *E. coli* es la causa principal. El fármaco tiene múltiples mecanismos de acción que no se conocen bien, pero que implican daños en el ADN y los ribosomas. Es usada para el tratamiento o profilaxis de infecciones urinarias bajas no complicadas como cistitis. (45)

7.8.17 Fosfomicina

La fosfomicina es una nueva clase de medicamentos antibacterianos, con una estructura química no relacionada con la de otros antibióticos conocidos. Es un fármaco bactericida que interrumpe la síntesis de la pared celular mediante la inhibición de la

fosfoenolpiruvato sintetasa, y por lo tanto interfiere con la producción de peptidoglucano.(46)

En el campo veterinario este medicamento ha sido probado en varios estudios con resultados favorables, se puede mencionar la eficacia del tratamiento de colibacilosis en pollos Broiler como menciona Puyuelo, R. (47)

7.8.18 Cloranfenicol

El cloranfenicol es un antibiótico que es principalmente bacteriostático. Se une a la subunidad 50S del ribosoma e inhibe así la síntesis de proteínas bacterianas. Debido a su toxicidad sobre la médula ósea, la disponibilidad de antibióticos alternativos y la aparición de resistencias, el cloranfenicol no es un fármaco de elección. (48)

En veterinaria es poco usada debido al residuo que deja en carne y leche si no se cumple el tiempo de retiro recomendado.

7.8.19 Sulfametoxazol/Trimetoprima

Se distribuye ampliamente en tejidos y líquidos, incluyendo el pleural, peritoneal, sinovial y ocular. Atraviesa fácilmente la barrera placentaria. La unión a proteínas es variable, menor en pacientes con disfunción renal severa. (40)

Este medicamento en veterinaria está indicado para el tratamiento de infecciones de vías respiratorias, tracto urinario, gastrointestinal, piel y enteritis por coccidias en todas las especies.

7.8.20 Azitromicina

La azitromicina es un antimicrobiano de la familia de los macrólidos cuya actividad bacteriostática consiste en inhibir la síntesis proteica de las bacterias, al unirse al ribosoma de estas. El mayor problema de los macrólidos es su elevada capacidad para inducir el desarrollo de resistencia adquirida en patógenos Gram positivos y Gram negativos. Las tasas de resistencia están en relación con el alto consumo de este antibiótico.(49)

7.9 GENÉTICA (*bla*_{CTX-M})

Las betalactamasas son enzimas producidas por bacterias capaces de inactivar los antibióticos de la familia betalactámicos, se han descrito más de 190 enzimas de tipo betalactamasas, estas son las principales causas de resistencia bacteriana a antibióticos.

Existen diversos mecanismos de resistencia de las betalactamasas, y estas ocurren por dos tipos de mutaciones: cromosómicos o por elementos extracromosómicos. (50).

“En el tipo cromosómica, la resistencia ocurre por mutaciones en los genes de la bacteria, que controlan las funciones y estructuras sobre las que actúan los distintos antibióticos, modificando la susceptibilidad de la bacteria a ellos.” (51)

En el tipo cromosómica, la resistencia ocurre por mutaciones en los genes de la bacteria, en esta modificación, actúa sobre la secuencia de bases del ácido nucleico de la bacteria, haciendo que esta transmita dicha resistencia a su descendencia. Se encuentra mayormente en bacterias Gram negativas, siendo resistentes a penicilinas y cefalosporinas, esta modificación se debe a la gran

cantidad de tiempo en que la bacteria se encuentra expuesta con el antibiótico, donde se seleccionan mutaciones específicas cromosómicas las cuales codifican proteínas, permitiéndoles su expresión en alto nivel (52).

El otro mecanismo de resistencia ocurre por elementos extracromosómicos, , que tienen la capacidad de transferirse de una bacteria a otra, de igual o diferente género y especie.

Se manifiestan por tres procesos: conjugación, transformación y transducción. La conjugación es el paso de un plásmido o de un transposón, de una bacteria a otra, involucro el contacto de ADN de célula a célula; La transformación incluye incorporación directa en el cromosoma bacteriano de ADN presente en el medio (e.g. factor de resistencia RTF); Y la transducción en donde el ADN de un bacteriófago se incorpora al ADN bacteriano. (53)

7.9.1 Betalactamasas de espectro extendido BLEE

Como se escribió anteriormente, las betalactamasas son la causa principal de la resistencia a los antibióticos y con el uso de los antibióticos se han ido desarrollando nuevas variantes de betalactamasas hasta 1983, donde se describió por primera vez las conocidas como betalactamasas de espectro extendido (BLEE), con capacidad de inactivar a cefalosporinas de tercera generación, la cual resultó de la mutación de la SHV-1 y fue nombrada SHV-2, posteriormente, en Francia, se aislaron cepas de *Klebsiella pneumoniae*, con una mutación de las TEM-2 y la denominaron TEM-3. Para finales de los años 90 la mayoría de las betalactamasas de espectro extendido pertenecían a estas dos familias, las cuales pueden transferirse a otras bacterias por conjugación, lo que explica su rápida dispersión. (54).

7.10 CTX-M

En 1989 en varios países entre ellos Alemania, Argentina y Francia, se describe las primeras CTX-M, un grupo de BLEE aisladas de enterobacterias, que no tenían relación alguna con las BLEE descritas hasta ese momento, filogenéticamente diferentes a las TEM y SHV. Actualmente se han descrito alrededor de 65 tipos de CTX-M. (5).

Las cuales constituyen una familia de betalactamasas de espectro extendido mediada por plásmidos, hidrolizan cefotaxima, se han encontrado, principalmente, en *salmonella entérica serovar, Typhimurium* y *Escherichia coli* y en otras especies de *Enterobacteriaceae*. Incluyen enzimas de tipo CTX-M-1, CTX-M-2 a CTX-M-10 así como las enzimas Toho 1 y 2, estos tipos no están muy relacionadas con las betalactamasas TEM o SHV debido a que muestran solo un 40% de identidad con estas enzimas, se sugiere que este tipo de enzimas surgió de la AmpC (Adenosín monofosfato cíclico) de *Kluyvera ascorbata* ya que existe un alto grado de homología entre ambas. (55)

Se cree que la actividad de espectro extendido de las betalactamasas de tipo CTX-M viene mediado por el residuo de la serina en posición 237, la cual se encuentra presente en todas las enzimas CTX-M, se han aislado varias cepas en el mundo, mayormente en Europa, de *Escherichia coli* y *Salmonella*, así también cepas de *Salmonella entérica serovar Typhimurium* tanto en Europa oriental como en América del Sur (56).

7.11 MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA EN LAS CEFALOSPORINAS

Las cefalosporinas tienen sensibilidad variable a las betalactamasas, las de primera generación son susceptibles a las betalactamasas de *Staphylococcus aureus*, las de tercera generación son susceptibles a las betalactamasas producidas por bacterias gram-negativas que por las de primera generación, la mayoría de resistencia de cefalosporinas es debido a la destrucción de las mismas por hidrólisis del anillo betalactámico, pero, en las cefalosporinas de tercera generación se produce una hidrólisis por inducción cromosomal de betalactamasas tipo I, este fenómeno ha ido en aumento con el tratamiento de infecciones con cefalosporinas de segunda y tercera generación e Imipenem, dando como resultado el incremento de la resistencia hacia estos antibióticos. En cuanto a las de cuarta generación, estas son pobres inductoras de betalactamasas del tipo I por lo que son menos susceptibles a esta hidrólisis (5).

La resistencia se da por varias razones, una de ellas es la incapacidad del antibiótico para ejercer su acción por cambios en las proteínas de unión, en consecuencia se disminuye la afinidad de unirse el antibiótico a estas proteínas, por tanto, si llega a unirse a una sola enzima esta puede generar una mutación y por consiguiente la resistencia.(57)

8. VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS

De acuerdo a los resultados de la investigación validamos a la hipótesis alternativa porque la cantidad de *Escherichia coli* existente a cefalosporina de tercera generación tuvo una proporción mayor y preocupante de acuerdo avanzaba los puntos y focos de contaminación de las aguas

H1; Existe una cantidad de *Escherichia coli* existente a cefalosporina de tercera generación en mayor proporción que la cantidad de *Escherichia coli*.

9. METODOLOGÍA

Método

Inductiva, ya que a partir de varias aproximaciones de análisis de las colonias aisladas de las muestras del río llegamos a concluir que el río Isinche presenta una alta contaminación con bacterias multi-resistentes a cefalosporinas de tercera generación, así como a la mayoría de antibióticos usados en clínica de humanos y animales.

Técnica

De observación

9.1 Instrumentos

Autoclave, Modelo 25X-1 Serie 021042, UL

Balanza electrónica, Modelo EHA351

Cámara de flujo.

Incubadora Mini Fridge

Refrigeradora Haier

Ultracongeladora -20°C Modelo FCC15A6HQW, Serie, Marca Electrolux

Termociclador Applied Biosystems Modelo 2720. Serial 272s6121312

Termobloque Labnet. Modelo AccuBlock. Serial s92420168

Transiluminador Espectroline. TR365A, serie 936924
 Fuente de poder Bio-Rad. Modelo Power Pac 300, Serie 282BR18394
 Cámara electroforesis Labnet. Modelo EasyGel, Serie. S2656
 Centrifuga jouan. Modelo winchester. Serie. 00550119
 Vortex LB Scientific. Modelo TM-1000. Serie 0407179

9.2 Trabajo de campo

1. El muestreo tuvo lugar en el río Isinche el 26 de diciembre del 2020.
2. Las muestras fueron recolectadas en 4 puntos diferentes a lo largo del río:

Punto 1: Origen del río, este lugar se encuentra ubicado en el cantón Pujilí. En un lugar alejado de la población, en medio de las montañas a bajas temperaturas. Se puede encontrar aves y conejos silvestres en el sector. (Anexo 5)

Punto 2: Antes de Campus CEASA de la Universidad Técnica de Cotopaxi, lugar con pequeña población cercana al río, donde podemos encontrar animales de producción y animales domésticos. (Anexo 5)

Punto 3: Después de Campus CEASA antes del paso por las avícolas, en este punto encontramos, pequeños canales que se unen al río con afluentes provenientes de la universidad y de otras viviendas con animales de producción. (Anexo 5)

Punto 4: Previa a la unión con el Río Cutuchi, este punto se encuentra ubicado después del paso por varias avícolas, donde probablemente exista eliminación de desechos al río, además de ganado y población. (Anexo 5)

3. Se realizaron 3 repeticiones en cada punto de 125ml cada dos horas aprox. del centro del río, ya que en las orillas puede existir mayor cantidad de bacterias estancadas por la corriente, a la vez se midió temperatura, pH, caudal, uso de suelo y coordenadas. (Anexo 4)
4. Las muestras fueron 12 en total y se conservaron en incubadora Mini Fridge a 9°C durante 24 horas.

9.3 Trabajo de Laboratorio

9.3.1 Cuantificación

5. Se preparó el medio de cultivo selectivo para *Escherichia Coli*, Tryptone Bile Glucoronic Agar (TBX Agar). Según las recomendaciones del fabricante.
6. Repartimos en dos porciones iguales de 250ml cada uno y colocamos 10µl llegando a una concentración de 4µg/ml. (Anexo 5)
7. Colocamos el agar en las placas Petri, 12 con Ceftriaxona y 12 sin antibiótico más 2 de control, dándonos un total de 26 placas y dejamos reposar hasta que se solidifique.
8. Las muestras obtenidas se diluyeron de la siguiente forma:
 - Punto 1: 10^{-2} - 10^{-4} .
 - Punto 2: 10^{-2} - 10^{-4} .
 - Punto 3: 10^{-2} - 10^{-4} .
 - Punto 4: 10^{-3} - 10^{-6} .

9. Posterior a este proceso, se seleccionó las bacterias mayores a un diámetro de 0.45µm mediante un filtro nanopore, siguiendo las recomendaciones del fabricante. (Millipore Corporation Bedford, MA 01730).
10. El filtro se colocó inmediatamente sobre las placas con el medio de cultivo selectivo.
11. Colocamos el nanopore en las placas respectivas y dejamos cultivar durante 18h a una temperatura de 35 ± 2 °C. (Anexo 5)
12. Realizamos en conteo de UFC/mL de cada placa para estimar la dinámica de la carga bacteriana a través de los puntos antes mencionados en el transcurso del río.
13. Para la purificación de las colonias preparamos el agar mencionado con anterioridad al cual adicionamos 6µl de Ceftriaxona repartido en 6 placas con 20 divisiones cada una etiquetadas por número de punto, dilución y colonia.
14. Realizamos 40 repiques de colonias por punto seleccionadas de las 3 repeticiones por su morfología y color. (Anexo 5)
15. Estas son sembradas en diferentes placas con el mismo agar y concentración de Ceftriaxona.

9.3.2 Antibiogramas

16. Se realizó una suspensión de cada una de las 104 colonias de un cultivo puro, en 10 mililitros (mL) de suero fisiológico estéril, a una concentración de 0,5 Mac Farland.
17. Posteriormente se sembró homogéneamente esta suspensión en cajas Petri con agar Mueller Hinton. Se dispuso sobre el agar, discos de inhibición con:

Tabla 2

Antibióticos usados

Familia	Antibióticos	Abreviatura
Aminoglucósidos	<i>Amikacina</i>	AK
	<i>Gentamicina</i>	CN
	<i>Netilmicina</i>	NET
Quinolonas	<i>Ácido nalidíxico</i>	NA
	<i>Ciprofloxacina</i>	CIP
	<i>Levofloxacina</i>	LEV
	<i>Norfloxacina</i>	NOR
Beta-lactámicos	<i>Aztreonam</i>	ATM
	<i>Cefoxitin</i>	FOX
	<i>Cefepime</i>	FEP
	<i>Cefotaxima</i>	CTX
	<i>Ceftazidima</i>	CAZ
	<i>Imipenem</i>	IMP
Tetraciclinas	<i>Doxiciclina</i>	DO

	<i>Tetraciclina</i>	TE
Fosfonatos	<i>Fosfomicina</i>	FF
Macrólidos	<i>Azitromicina</i>	AZM
Anfenicoles	<i>Cloranfenicol</i>	C
Nitrofuranos	<i>Nitrofurantoína</i>	F
Antagonistas del folato	<i>Sulfametoxazol/trimetropin</i>	STX
Glicilciclinas	<i>Tigeciclinas</i>	TGC

18. Se incubó a 37°C por 24 horas.

19. Finalmente, la susceptibilidad de los antibióticos se midió a través de los siguientes parámetros:

Tabla 3

Parámetros de susceptibilidad

			≥S	SDD	I	R
1	Aztreonam	30µg	21	-	18-20^	17
2	Ácido nalidíxico	30µg	19	-	14-18	13
3	Amikacin	30µg	17	-	15-16^	14
4	Azithromycin	15µg	13	-	-	12
5	Cefotaxima	30µg	26	-	23-25^	22
6	Ceftazidime	30µg	21	-	18-20^	17
7	Cefepime	30µg	25	19-24	-	18
8	Cefoxitin	30µg	18	-	15-17^	14
9	Ciprofloxacin	5µg	26	-	22-25^	21
10	Chloramphenicol	30µg	18	-	13-17	12
11	Doxycycline	30µg	14	-	11-13	10
12	Fosfomicina	200µg	16	-	13-15	12
13	Gentamicina	10µg	15	-	13-14^	12
14	Imipenem	11µg	23	-	20-22	19
15	Levofloxacin	5µg	21	-	17-20^	16
16	Netilmicin	30µg	15	-	13-14^	12
17	Nitrofurantoin	300µg	17	-	15-16	14
18	Norfloxacin	10µg	17	-	13-16	12
19	Sulphamethoxazole/ trimethoprim	5µg	16	-	11-15	10
20	Tigecycline	15µg				
21	Tetracycline	30µg	15	-	12-14	11

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). CLSI M100 30th Edition. Journal of Services Marketing (Vol. 30th).

Los datos obtenidos de la susceptibilidad de las cepas de *Escherichia coli* resistentes a Cefalosporinas de tercera generación (C3G), se utilizaron para calcular el ARI (índice de resistencia a antibióticos), mediante la ecuación descrita por Mohanta & Goel (2014),

y el MARI (índice de resistencia a múltiples antibióticos) como se describe previamente por Blasco et al. (2008), con el fin de determinar la distribución de fenotipos de resistencia en la población.

9.3.3 Análisis *bla*_{CTX-M}

20. Se colocó en 104 eppendorf 300µl de TE buffer (1N TRIS, 05M EDPA, pH 8,0) por cada uno, adicionalmente en la misma cantidad de eppendorf se colocó 500µl de Caldo de soja tréptica (TSB), Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152 USA. Los cuales fueron preparados siguiendo las recomendaciones del fabricante.
21. Se identificó con un código a cada una de las colonias, al igual que los eppendorf con cada uno de los medios. (Anexo 5)
22. Se realizó un raspado en cada colonia con un asa estéril, la misma que fue introducida en los tubos eppendorf que contenían el medio TE, posteriormente la misma asa fue introducida en los tubos eppendorf que contenían el caldo TSB.
23. Una vez terminado el procedimiento antes mencionado en los 104 tubos eppendorf con caldo TSB se los llevaron a incubar 24h y finalmente adicionamos 500µl de glicerol para su almacenamiento como ADN de respaldo.
24. Terminados los 104 tubos eppendorf con medio TE los llevamos a termobloque durante 10min a una temperatura de 90°C, posteriormente los llevamos a centrifugar durante 3min a 12400 rpm, finalmente se extrajo 150µl del sobrenadante (ADN) los cuales fueron depositados en nuevos eppendorf etiquetados de cada una de las colonias. (Anexo 5)
25. Seleccionamos el PCR Master Mix Hot Start Taq (GOLDBIO) 12,5µl (2x), iniciador derecho 1µl (10mM), iniciador izquierdo 1µl (10mM) (Eurofins Genomics 8785689) ADN 3.5 µl (~200nmol) y agua libre de nucleasa hasta completar 25 µl.
26. Colocamos los eppendorf PCR en el termociclador según los protocolos correspondientes a cada familia génica *bla*_{CTX-M}

Tabla 4

*Protocolos PCR de identificación de la familia génica bla*_{CTX-M}

<i>bla</i>	CTX-M1		CTX-M9		CTX-M2		CTX-M8	
	°C	Tiempo	°C	Tiempo	°C	Tiempo	°C	Tiempo
Desnaturalización inicial	94°C	5min	94°C	5min	94°C	5min	94°C	5min
SEGMENTADO								
Desnaturalización	94°C	30seg	94°C	30seg	94°C	30seg	94°C	30seg
Annealing	60°C	30seg	55°C	30seg	55°C	30seg	55°C	30seg
Extensión	72°C	30seg	72°C	30seg	72°C	30seg	72°C	30seg
Extensión Final	72°C	7min	72°C	7min	72°C	7min	72°C	7min
CICLOS	35		35		35		35	
Foward	CCC ATG GTT AAA AAA TCA CTG C		TGG TGA CAA AGA GAG TGC AAC G		ATG ACT CAG AGC ATT CG		TGA TGA GAC ATC GCG TTA AG	
Reverse	CAG CGC TTT TGC CGT CTA AG		TCA CAG CCC TTC GGC GAT		TGG GTT ACG ATT TTC GCC GC		TAA CCG TCG GTG ACG ATT TT	

27. Se preparó el gel de agarosa con 80ml de TBE 5x y 1.5mg de Agarosa, el cual se colocó en la cámara de solidificación con un peine que enmarca los espacios donde posteriormente introduciremos el resultado PCR (5µl) y Sybr gold (1µl). (Figura 15).

28. Una vez completado este proceso colocamos el gel en la cámara de electroforesis a 150V-400mAh durante 45 minutos.
29. Transcurrido los 45 minutos llevamos el gel al Transiluminador, para observar las bandas de acuerdo con el peso molecular del gen. (Figura 16)

9.3.4 Filogrupos

30. Para la determinación de los filogrupos se utilizaron 104 tubos eppendorf etiquetados, seleccionamos el PCR Master Mix Hot Start Taq (GOLDBIO) 12,5µl (2x), Chu R 0.5µl (10mM), Chu F 0.5µl (10mM), Yja F 0.5µl (10mM), Yja R 0.5µl (10mM), Tsp F 0.5µl (10mM), Tsp R 0.5µl (Eurofins Genomics 8785689), ADN 3.5 µl (~200nmol) y agua libre de nucleasa 6µ, de acuerdo a lo descrito por Clermont, 2002 (58).
31. Colocamos los eppendorf PCR en el termociclador según el protocolo para filogrupo
32. Se preparó el gel de agarosa con 80ml de TBE 5x, 2mg de Agarosa y 8 µl de Sybr el cual se colocó en la cámara de solidificación con un peine que enmarca los espacios donde posteriormente introduciremos el resultado PCR (5µl).
33. Una vez completado este proceso colocamos el gel en la cámara de electroforesis a 150V-400mAh durante 35 minutos.
34. Transcurrido los 35 minutos llevamos el gel al transiluminador, para observar las bandas de acuerdo con el leader.

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es uno de los retos más importantes que enfrenta la salud pública en este siglo. Las predicciones indican que, de mantener la tendencia en el manejo de antibióticos, hacia el año 2050, las bacterias resistentes a los antibióticos cobrarán más vidas que el cáncer y diabetes juntos. Además de las pérdidas humanas, la resistencia bacteriana conlleva una alta carga económica para los sistemas de salud, cercana a los 100 000 000 millones de dólares hasta el año 2050 (14). Cifra 1000 veces superior al producto interno bruto del Ecuador.

La contaminación por este tipo de bacterias ha sido reportada ampliamente en grandes ciudades del país, e.g. Quito, en donde no solo ha alcanzado parques públicos (59), alimentos preparados (60), vegetales que se expenden en los mercados de la ciudad (61). Sino que ya forman parte de la flora comensal (bacterias que se encuentran en el intestino de las personas) de los habitantes de Quito (62).

No obstante, es necesario analizar la resistencia a los antimicrobianos de una forma holística, es decir, considerando las interacciones entre los componentes involucrados, a saber: humanos, animales y ambiente. En este contexto, dado que actualmente se utilizan más antibióticos en animales sanos que en personas enfermas (14), la producción animal podría ser la piedra angular del origen de la resistencia a los antimicrobianos. En efecto, se han reportado bacterias multirresistentes en explotaciones pecuarias de la región (63,64). Consecuentemente se consideró determinar la prevalencia de *Escherichia coli* resistentes a Cefalosporinas de tercera generación (C3G), por ser el organismo modelo de enterobacterias, en el río Isinche (Tabla 5), como piloto de en una zona rural, mayoritariamente agropecuaria, tomando de 4 puntos diferentes (Figura 1).

Tabla 5.

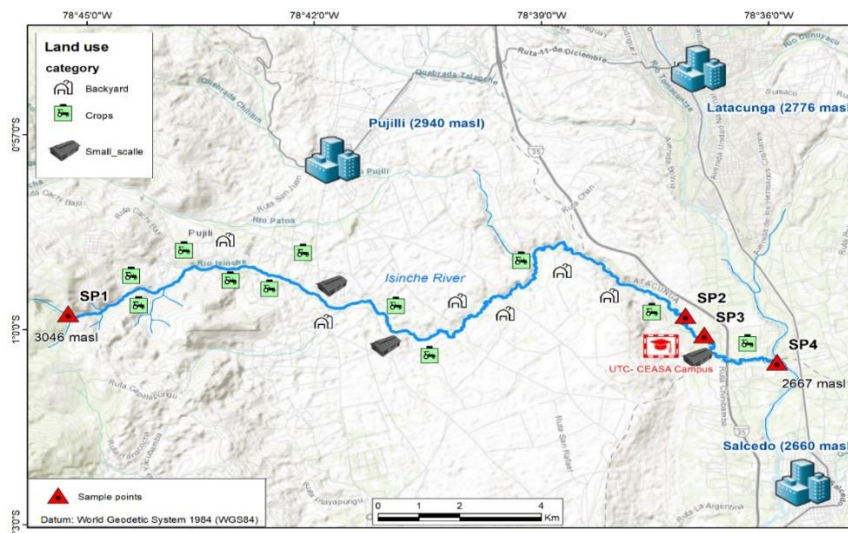
Cuantificación de Escherichia coli total y Escherichia coli resistentes a Cefotaxima en los puntos de muestreo.

	SP1	SP2	SP3	SP4
Media pH	7	7	7	7
Temperatura media (°C)	13.9	14.8	15,1	14,1
Caudal medio (m³/s)	1.65	1,09	0,54	0,62
Altitud (msnm)	3046	2714	2697	2667
<i>E. coli</i> total/100ml	0,52	1833	1933	3333
<i>E. coli</i> resistente a CTX/100ml	0	33	35	80
Ratio <i>E. coli</i> resistente a CTX/ <i>E. coli</i> total	0	1/55	1/55	1/41
<i>E. coli</i> resistente a CTX/s	0	359700	189000	496000

En el primer punto de muestreo (SP1), origen del río Isinche, no se encontró *Escherichia coli* resistente a cefalosporina de tercera generación. Además, se determinó una concentración baja de *Escherichia coli* total. Puesto que las actividades antropogénicas son limitadas en esta locación. Sin embargo, río abajo en el SP2, antes del paso por el campus Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi, se evidenció un incremento exponencial de *Escherichia coli* resistente a C3G, principalmente a causa de las actividades relacionadas con el curso del río. Asimismo, en el SP3, después del campus Salache, la cantidad de bacterias resistentes se mantiene (Figura 2), no obstante, el caudal es menor que en el P2. Por causa del uso del agua del río en actividades agropecuarias.

Figura 1.

Uso de suelo y puntos de muestreo

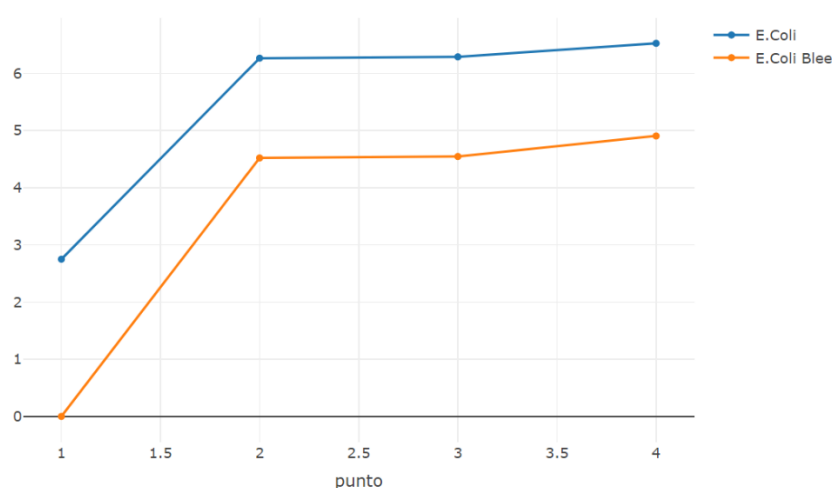


En el Ecuador, las personas involucradas en actividades agropecuarias representan un porcentaje considerable de la población, específicamente se ha determinado que la zona 3, conformada por las provincias de Cotopaxi, Chimborazo, Pastaza y Tungurahua, consta con un 77% de potencial agropecuario (65), de este porcentaje, la mayoría de las explotaciones registradas la constituyen pequeños y medianos productores. (66). Quienes aplican modelos tradicionales de subsistencia en sus explotaciones, es decir, emplean las técnicas necesarias con el fin de obtener réditos económicos. Una de ellas es la aplicación a sus animales de antibióticos, altamente disponibles en el medio, sin prescripción y seguimiento veterinario (67). Incluso, en este ámbito, la mayoría de los veterinarios administra antibióticos a sus pacientes, sin las pruebas necesarias que permitan seleccionar el antibiótico apropiado.

Esto explicaría las altas prevalencias de *Escherichia coli* resistentes a Cefalosporinas de tercera generación, encontradas en los puntos 2, 3 y 4 de muestreo del río Isinche, alrededor de treinta millones por minuto, son transportadas río abajo. Las *E. coli* resistentes son eliminadas por las heces animales y humanas al ambiente y alcanzan los ríos, este resultado alerta sobre un grave riesgo para la salud de los pobladores que se encuentran de alguna manera vinculados a sus aguas. Cabe recalcar que los afectados no son solo las personas que viven a sus orillas, sino que la contaminación se extiende a quienes consumen productos cultivados con sus aguas, animales de abasto que hayan sido criados bajo su influencia y se ha demostrado que a través de la manipulación de alimentos se transmite entre personas. Por este motivo, es un tema que compromete a toda la población. Al ingerir estos alimentos, damos entrada a bacterias potenciales causantes de infecciones difíciles de tratar a nuestro cuerpo, donde estas se establecen y se quedan camufladas como parte de nuestras bacterias comensales.

Figura 2.

Frecuencia de presentación de Escherichia coli y Escherichia coli resistente a C3G, en los puntos de muestreo del río Isinche. (La concentración de bacterias está expresada en base logarítmica de la cantidad de unidades formadoras de colonias.)



Hacia el final del río, en el P4, es notorio el aumento de bacterias resistentes, dado el incremento en la densidad de explotaciones agropecuarias del sector (Figura 2).

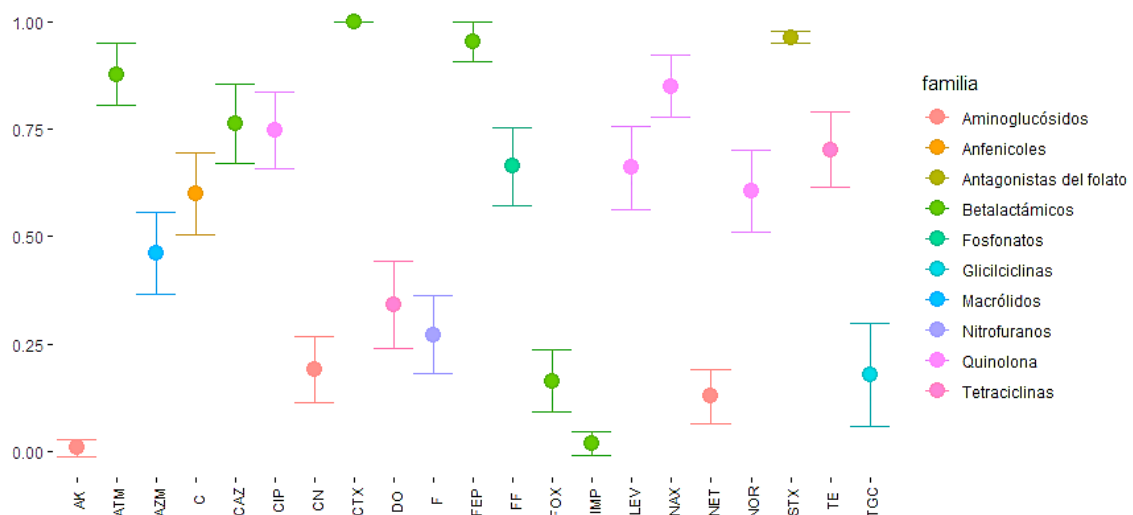
Además, la resistencia a C3G es un indicador de multirresistencia. Es decir que las bacterias resistentes a C3G en general son resistentes a otras familias de antibióticos, el perfil de

susceptibilidad de las colonias aisladas del río Isinche (Figura 3 y 4) demostró resistencia frente a 19 de los 21 antibióticos testeados y 8 de las 10 familias de antibióticos. Análogamente, el promedio del índice de resistencia antibiótica (ARI) entre los puntos de muestreo SP2, SP3 y SP4 fue 0.47 y el rango fluctuó entre 0.24 a 0.86, sumando evidencia sobre la contaminación por antibióticos del río Salache, dado que es superior a 0.2 (Mohanta y Goel 2014; Titilawo et al. 2015). Por término medio el nivel de contaminación en los tres puntos es similar, indicando homogeneidad en la contaminación antibiótica a lo largo del río. Asimismo, el índice de multiresistencia antibiótica (MARI) fue igual a 1, dado que todas las colonias aisladas de *E. coli* resistentes a C3G demostraron resistencia a al menos un antibiótico. Esto podría ser un alarmante indicador de alto riesgo de contaminación del agua y evidencia de la resistencia generalizada a los antimicrobianos al medio ambiente del agua del río Isinche.

Estos indicadores confirman el estatus de multiresistencia de las *Escherichia coli* que se encuentran en el río, las opciones terapéuticas más usadas en casos de infecciones extra-intestinales por *Escherichia coli*, como la tan conocida gentamicina, quinolonas, como la ciprofloxacina o la tetraciclina, ya no son efectivas contra las bacterias que contaminan el río Isinche, dejando únicamente tres opciones terapéuticas amikacina, carbapenémicos y tigeciclina, las últimas líneas de defensa dentro del arsenal terapéutico, las cuales no se pueden aplicar en todos los casos, dado que estos fármacos son de alto costo y de uso restringido, dando como resultado bacterias con capacidad de producir infecciones sin opciones terapéuticas.

Figura 3.

Perfil de susceptibilidad de las E. Coli resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche.



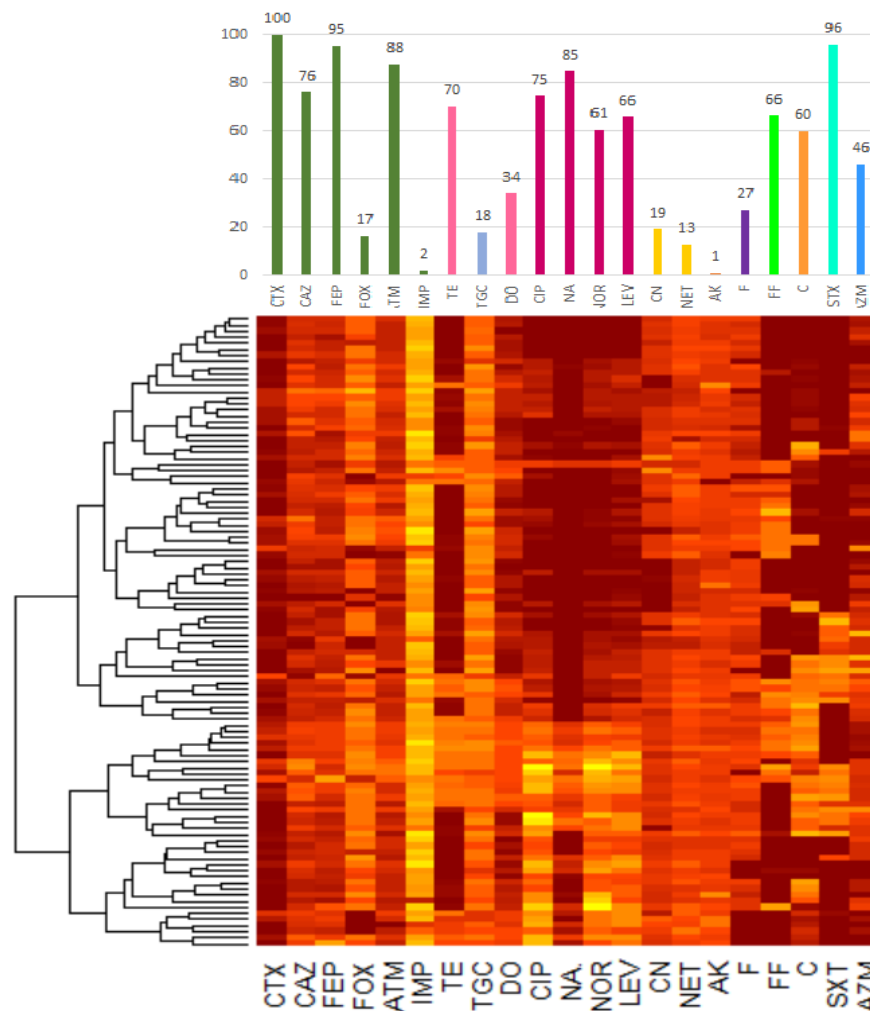
Nota: Las barras indican los intervalos de confianza al 95%. Los valores de 0 indican sensibilidad, mientras que 1 representa resistencia. AK, amikacina; ATM, aztreonam; AZM, azitromicina ; C, cloranfenicol ; CAZ, ceftazidima ; CIP, ciprofloxacina ; CTX, cefotaxima ; DO, doxiciclina ; F, nitrofurantoína ; FEP, cefepime ; FF, fosfomicina ; FOX, cefoxitina; IMP, imipenem ; LEV, levofloxacina; NAX, ácido nalidíxico; NET, netilmicina ; NOR, norfloxacina ; SXT, trimetoprim / sulfametoxazol ; TE, tetraciclina ; TGC, tigeciclina.

El problema radica en que en muchos casos se tratan a los animales con los mismos antibióticos que se emplean para tratar infecciones en humanos. Por ejemplo, los antibióticos de la familia de las tetraciclina, quinolonas, betalactámicos y antibióticos clave para la medicina humana como la fosfomicina y colistina se usan en grandes cantidades en animales de ceba (68), del

mismo modo que las cefalosporinas de tercera generación se emplean frecuentemente en vacas lactantes, ya que no tienen tiempo de retiro en leche (69). Limitando su uso clínico en humanos, es preciso señalar que *Escherichia coli* es la causa de la mayor parte de infecciones adquiridas en la comunidad, especialmente infecciones del tracto urinario (ITU), infecciones para las cuales, en casos graves se emplea C3G (70). En consecuencia, se ponen en riesgo la vida de las personas vulnerables como niños, ancianos, personas con enfermedades como diabetes o cáncer y a cualquier persona que sufra un accidente.

Figura 4.

Perfil de multirresistencia de las E. Coli resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche.



Nota: Las barras indican los intervalos de confianza al 95%. Los valores de 0 indican sensibilidad, mientras que 1 representa resistencia. AK, amikacina; ATM, aztreonam; AZM, azitromicina; C, cloranfenicol ; CAZ, ceftazidima ; CIP, ciprofloxacina ; CTX, cefotaxima ; DO, doxiciclina ; F, nitrofurantoína ; FEP, cefepime ; FF, fosfomicina ; FOX, ceftoxitina; IMP, imipenem ; LEV, levofloxacina; NAX, ácido nalidíxico; NET, netilmicina ; NOR,norfloxacina ; SXT, trimetoprim / sulfametoxazol ; TE, tetraciclina ; TGC, tigeciclina.

Sin embargo, no toda la resistencia puede atribuirse a esta actividad económica, también es posible una fuerte influencia de la automedicación y la falta de adhesión a los tratamientos por parte de la población. El problema se agrava cuando la comunidad usa de manera inadecuada los antibióticos en la ciudad (71). Automedicarse o no tomar las dosis completas que indico el

médico, hace que nuestros comensales adquieran resistencia a estos antibióticos. Además, cuando una persona portadora de bacterias multirresistentes entra al hospital, recibe terapia con antibióticos de última línea y en muchos casos sus bacterias comensales desarrollan resistencia a estos. En estos momentos, en los hospitales hay un incremento de pacientes que acuden con infecciones difíciles de tratar que han sido adquiridas en la comunidad. Finalmente, las bacterias que hemos vuelto más resistentes en la ciudad llegan al río y el ciclo de contaminación se reinicia.

En efecto, los datos genéticos muestran que el 96% de las *E. coli* resistentes a cefotaxima contienen genes *bla*_{CTX-M} (tabla 6), los cuales dominan sobre otros mecanismos de resistencia a C3G. De manera análoga, se ha reportado una mayor prevalencia del gen *bla*_{CTX-M} en muestras de *E. coli* resistente a C3G en granjas avícolas del Ecuador (63).

Tabla 6.

Perfiles genéticos de las 104 E. coli resistentes a cefotaxima aisladas del río Isinche.

<i>bla</i> _{CTX-M}				Filogrupo		
1	9	2	8	A	B2	D
58 ^a	39 ^b	1 ^c	1 ^c	10 ^a	13 ^a	81 ^b
0.56±0.05	0.38±0.05	0.01±0.01	0.01±0.01	0.1±0.03	0.13±0.03	0.77±0.04

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (*p-value*<0.05)

Además, dentro del grupo *bla*_{CTX-M}, los mecanismos de resistencia mediados por el gen *bla*_{CTX-M-1} fueron los más prevalentes. El gen *bla*_{CTX-M-1} es uno de los genes que codifican BLEE reportados con más frecuencia en animales, entre ellos: ganado vacuno, porcino, caballos y aves (72,73). Por lo tanto, la alta prevalencia podría estar explicado por la naturaleza del sector, dado que el uso del suelo alrededor del suelo es mayoritariamente agropecuario. Por otro lado, el *bla*_{CTX-M-9}, se ha reportado en humanos (74). En general, estos genes son identificados también con frecuencia en las bacterias causantes de infecciones en los hospitales del país, lo que sugiere que los elementos genéticos móviles median en la propagación de *bla*_{CTX-M}, por lo cual es se puede sugerir que la contaminación ambiental ya ha llegado a la población y causa infecciones que requieren tratamiento en los centros de salud del país. Ciertamente, los filogrupos de las *E. coli* resistentes a C3G, aisladas del río Isinche, lo corroboran. La mayoría de las *E. Coli* pertenecen al grupo de las extraintestinales (filogrupo D y B2). Y el 10% pertenece a las intestinales, específicamente al filogrupo A. La determinación del filogrupo se basó en la presencia/ausencia de los genes *chuA*, *yjaA* y *TspE4* (58). Conviene enfatizar, la relación de los filogrupos con ciertas enfermedades consideradas complejas, e.g. filogrupo B2 con meningitis neonatal en el humano (75). En síntesis, la capacidad de estos genes para movilizarse y compartirse entre bacterias potencia el problema al facilitar su diseminarse a otras especies bacteriana que también pueden amenazar la salud pública

Naturalmente, el agua constituye el eje fundamental de la producción de nuestros alimentos, por lo tanto, al estar contaminada, con este tipo de bacterias multirresistentes se convierte en el principal vehículo para la diseminación a la comunidad y el ambiente. El manejo apropiado del

agua en todo su ciclo impactaría positivamente en la salud de la población, animal, y del ambiente, a la vez que contribuiría a reducir la carga económica sobre el sistema de salud social. Sin lugar a duda, la población mundial demanda cada vez más alimentos nutritivos, actualmente la fuente principal de proteína de la dieta, al menos en países en vías de desarrollo, es la producción animal. Sin embargo, la producción animal, en este contexto, afronta varios retos, entre los principales incrementar la eficiencia de sus procesos, considerando el bienestar animal y el cuidado del medio ambiente. Ciertamente, hemos llegado a un punto de no retorno con las exigencias sobre la producción animal, lo cual representa un reto para las personas involucradas, dadas las correlaciones negativas entre las exigencias, e.g. en las producciones extensivas se beneficia el bienestar animal, pero se compromete la eficiencia y se contamina más el ambiente. No obstante, en países de primer mundo se está controlando la diseminación de la resistencia antimicrobiana en las explotaciones pecuarias (76). La realidad en el Ecuador es diferente, por varios factores, entre ellos la idiosincrasia y la inequitativa economía de nuestra sociedad. Sin embargo, se ha dado los primeros pasos, por ejemplo el control en el empleo de la colistina en producción animal desde el 2019 (77). Es necesario que la población entienda la gravedad del problema, con el fin de que se ejecuten normativas que limiten la diseminación de bacterias resistentes, basadas en evidencia científica. Por ejemplo, la eliminación de residuos orgánicos de explotaciones pecuarias sobre los cuerpos de agua debe ser prohibida, es decir, que los residuos orgánicos deben ser tratados mediante procesos que promuevan la eliminación de bacterias resistentes, como el compostaje o la biodigestión (78). En consecuencia, es necesario implementar procesos científicos con el fin de satisfacer las necesidades de la población, tener un mejor trato hacia los animales, y preservar los recursos del planeta.

11. IMPACTOS SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS:

11.1 Impacto Ambiental:

La contaminación de las aguas por la eliminación de desechos es un problema grave que se viene manejando a nivel mundial, ya que esta contaminación influye directamente en la salud del hombre, así como también en la flora y fauna del ecosistema, siendo necesario la aplicación de políticas públicas de los gobiernos sectoriales para que garanticen el cuidado y la calidad de este ambiente como patrimonio de la humanidad. (79)

En el ámbito veterinario los antibióticos son utilizados para el tratamiento y prevención de diferentes enfermedades, sin embargo, en muchas ocasiones es usado también como promotores de crecimiento, al llamado de la OMS, de la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), muchos países han tomado medidas para evitar esta forma de uso. Los antibióticos que se utilizan en la salud humana y animal a través de las excretas pueden alcanzar diferentes ambientes (suelos, aguas, plantas, seres vivos) alterando la función y estructura de las comunidades bacterianas que en ellos habitan, al facilitar la selección, desarrollo y diseminación de la resistencia. (80)

11.2 Impacto Social:

La acción del hombre ha desencadenado una emergencia ambiental de carácter internacional que se ve evidenciada con los cambios climáticos, la extinción de ciertas especies, la deforestación, la pérdida de la biodiversidad, la contaminación del agua, suelo y aire; por estos motivos actualmente el mundo tiende a considerar al medio ambiente como un bien jurídico para proteger los derechos de la naturaleza y la propia existencia humana. (79)

12. CONCLUSIONES

- La actividad antropogénica es mayoritariamente agropecuaria a pequeña escala en las zonas de influencia del río Isinche, el cual presenta una alta contaminación por *E. coli* resistente a C3G, incluso más alta que la reportada en el río Machángara de la ciudad de Quito.
- Existe una alta prevalencia de genes de resistencia *bla*_{CTX.M} en los aislados las colonias de *E. coli* resistentes a C3G del río Isinche, dichas cepas en su mayoría pertenecen a los filogrupos D y B2. Estos perfiles identificados más los genes de resistencia son concordantes con las identificadas en las infecciones clínicas de inicio comunitario.
- Los aislados demuestran una contaminación microbiológica de alto riesgo en el río, dado que se identificó resistencia a la mayoría de antibióticos testeados, los cuales son empleados en el tratamiento de enfermedades clínicas en humanos y animales. Limitando el arsenal terapéutico a las últimas líneas de defensa, como los carbapenémicos, antibióticos costosos y de uso intrahospitalario, lo cual plantea una advertencia sobre el alto potencial de los ríos rurales para propagar la *E. coli* multirresistente.

13. RECOMENDACIONES

- Ciertamente, no se vislumbra en la población en general una preocupación por la resistencia a los antimicrobianos. De hecho, incluso el personal médico asume que los antibióticos serán efectivos indefinidamente.
- Es fundamental concientizar a la población de esta problemática, e implementar regulaciones basadas en fundamentación científica, con el fin de precautelar la salud pública.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Fondo C. Historia y decadencia de los antibióticos: la fagoterapia como alternativa. 2020;1–24.
2. Perez E. MicroMundo: Diversidad microbiana en suelos y detección de antibióticos por “crowdsourcing” mediante una estrategia de aprendizaje-servicio. Zaragoza. 2014;
3. Himelfarb M. Evaluación farmacocinética/farmacodinámica de cefquinoma en suero y líquido tisular de llamas. 2018;
4. Carbajal P. Prevalencia y epidemiología molecular de cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEEs aisladas de casos de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad. Tesis de maestría. 2016;
5. Morejón García M. Betalactamasas de espectro extendido. *Rev Cubana Med* [Internet]. 2013;52(4):272–80. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/med/v52n4/med06413.pdf>
6. Yupanqui C. Frecuencia de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas aisladas en urocultivos de pacientes del Centro Salud Aranjuez Trujillo, La Libertad, 2013. 2016;51 pag.
7. Mazón M. Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en enterobacterias aisladas en muestras clínicas en H. Caborca, Sonora. 2009.
8. Moreno K. CARBAPENÉMICOS: TIPOS Y MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANOS. *Rev Médica Costa Rica y Centroamérica LXX*. 2013;608(608):599–605.
9. Sulca J. RESISTENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa* A CARBAPENEMES “IN VITRO” COMPARADO CON EL SISTEMA AUTOMATIZADO. 2018;
10. Fernández Betancourt Y, Cardosa Aguilar E, Reyes Cayón R, Rubio Sotomayor D, Martínez Dedieu D. Utilización de terapéutica antimicrobiana en enfermedades infecciosas. *Rev Inf Científica*. 2015;92(4):930–44.
11. Betancourt F, Aguilar C, Cayón R, Sotomayor R, Dedieu M. Redalyc. Utilización de terapéutica antimicrobiana en enfermedades infecciosas. 2015;
12. Castillo D, Orta I, Lambet J. Consumo de antimicrobianos seleccionados en el Cardiocentro Pediátrico “William Soler” durante el periodo 2011-2015. 2015.
13. Silva A. Determinación de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda comercializada. *Carrera De Medicina Veterinaria Y Zootecnia*. 2019. 60 p.
14. O’Neill J. Tackling drug-resistant infections globally. Vol. 7, *Archives of Pharmacy Practice*. 2016. 110 p.
15. Lindmeier C. Dejemos de administrar antibióticos a animales sanos para prevenir la

- propagación de la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2017. p. 2–5. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/07-11-2017-stop-using-antibiotics-in-healthy-animals-to-prevent-the-spread-of-antibiotic-resistance>
16. Iglesias F. Alergia a antibióticos betalactámicos. Procedimientos diagnósticos y características epidemiológicas en las poblaciones de Cantabria y Santa Cruz de Tenerife. 2016;1–5.
 17. Palavecino M. Toxicidad antibacterianos: farmacocinética-farmacodinamia: prevención y manejo. Rev Médica Clínica Las Condes. 2014;25(3):445–56.
 18. Errecalde JO. USO DE ANTIMICROBIANOS EN ANIMALES DE CONSUMO, DESARROLLO DE RESISTENCIAS, SU INCIDENCIA EN SALUD PUBLICA. 2018;
 19. OMS. Resistencia a los antibióticos. 2020.
 20. Rodrigues F. Resistencia a antimicrobianos en veterinaria. 2017. p. 1–6.
 21. Ibarra Morillo P. “Prevalencia de Escherichia coli productora de Beta- Lactamasas de espectro extendido (BLEE) en urocultivos en pacientes de consulta externa en el Hospital San Francisco de Quito en el periodo de Octubre 2016 – Abril 2017.” Vol. 4, UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. 2017.
 22. Quizhpe A, Encalada L, Sacoto M, Andrade D, Muñoz G. USO APROPIADO DE ANTIBIÓTICOS Y RESISTENCIA BACTERIANA. In Cuenca; 2014. p. 168. Available from: <https://www.reactgroup.org/wp-content/uploads/2016/10/Usa-Apropiado-de-Antibioticos-y-Resistencia-Bacteriana.pdf>
 23. FAO O de las NU para la A y la A-. La resistencia a los antimicrobianos, sus mecanismos y epidemiología. 2018;1–9. Available from: <http://www.fao.org/3/y5468s/y5468s0d.htm>
 24. Sánchez P, Muñoz R, Gutiérrez N. Spei Domus. Spei domus. 2012;1(1):31–7.
 25. Calderón G, Aguilar L. Infectología Resistencia Antimicrobiana : Microorganismos Más Resistentes Y Antibióticos. Rev médica Costa Rica y Centroamérica LXXIII [Internet]. 2016;(621):757–63. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2016/rmc164c.pdf>
 26. Zeefobet. Zeefobet [Internet]. Ciudad de México; 2017. Available from: http://www.sybrem.com.mx/adsnet/inventarios/productos_complemento/doc/4157FTZeefobet.pdf
 27. Iriana N, Mamani R. Farmacocinética de la ceftazidima por vía intravenosa y función renal en perros criollos de altura. 2018;
 28. Pediatría C de M de la AE de. Pediamécum, Ceftazidima [Internet]. 2020. p. 1–5. Available from: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/ceftazidima>
 29. AlphaChem. Tetracef [Internet]. 2018. Available from: <https://alphachem.mx/index.php/es/productos/pequenas-especies/pe-tetracef#:~:text=Cánidos y felinos domésticos%3A La,criterio del médico veterinario>

- tratante.&text=La cefepime no se absorbe,lo que debe administrarse parenteralmente.
30. Cigna. ¿Cuál es la información más importante que debo saber sobre cefoxitin? [Internet]. 2019. Available from: <https://www.cigna.com/individuals-families/health-wellness/hw-en-espanol/medicamentos/cefoxitin-d00094a3>
 31. Werth Brian J. Monobactámicos. Canada; 2020.
 32. Agency EM. Categorisation of antibiotics in the European Union Categorisation of antibiotics in the European Union Table of Contents. 2019;31(December).
 33. Werth Brian J. Carbapenémicos [Internet]. Canada; 2018. Available from: <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-y-farmacos-antibacterianos/carbapenemicos?query=Imipenem#>
 34. Hernández-Barrera JC, Angarita-Merchán M, Prada-Quiroga CF. Impacto del uso de antimicrobianos en medicina veterinaria The antimicrobials use impact on veterinary medicine. 2017;14(2):27–38.
 35. Werth Brian J. Tigeciclina [Internet]. Canada; 2018. Available from: <https://www.msmanuals.com/es-es/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-y-farmacos-antibacterianos/tigeciclina#>
 36. Mileva R, Milanova A. Review DOXYCYCLINE PHARMACOKINETICS IN MAMMALIAN SPECIES OF VETERINARY INTEREST – AN OVERVIEW. 2020;
 37. Cachitacari V, Palomino M. Evaluación de la sinergia en la asociación de antibióticos de productos farmacéuticos de uso veterinario. 2017.
 38. Álvarez-Hernández DA, Garza-Mayén GS, Vázquez-López R. Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. Rev Chil Infectol. 2016;I:499–504.
 39. Hernández-fillor RE, Báez-arias M, Alfonso-zamora P, Espinosa- I. Susceptibilidad antimicrobiana y formación de biopelícula en aislados de Escherichia coli procedentes de gallinas ponedoras Antimicrobial susceptibility and biofilm formation in Escherichia coli isolates from laying hens. 2017;39(3):1–13.
 40. Carranza RR. Vademécum Académico de Medicamentos. 2015;
 41. Casas L. Eficacia clínica de levofloxacina en el tratamiento de caninos con procesos infecciosos cutáneos y urinarios. 2019;30(1):17–22.
 42. VETERINARIOS DM. Departamento de medicamentos veterinarios [Internet]. Madrid; 2018. Available from: https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/304+ESP/FT_304+ESP.pdf
 43. Vademecum V. Netilmicina [Internet]. 2016. p. 7. Available from: <https://www.vademecum.es/principios-activos-netilmicina-j01gb07>
 44. Ramirez MS, Tolmasky ME. Amikacin: Uses, resistance, and prospects for inhibition. Molecules. 2017;22(12).

45. Roemhild R, Linkevicius M, Andersson DI. Molecular mechanisms of collateral sensitivity to the antibiotic nitrofurantoin. *PLoS Biol* [Internet]. 2020;18(1):1–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.3000612>
46. Werth Brian J. Fosfomicin. *Clinical Infectious Diseases*. Canada; 2020.
47. Puyuelo R, Fernandez A, Lara C, Gomez J, Ramos JJ, Loste A. Efectividad de la fosfomicina en el tratamiento de la colibacilosis en pollos broiler. 2015.
48. Briceño-Ferreira E del C, Brito-Echenique RG, Díaz-Rivera HY, Colina-Martinez JM, Maniglia-Mérida GC, Arrieta-Mendoza D. DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE CLORANFENICOL Y SULFAMIDAS EN LECHE DE LARGA DURACIÓN, EN LA CIUDAD DE MARACAY, VENEZUELA. *Redalyc* [Internet]. 2018;XXVIII(2):121–8. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95955158005>
49. Rodríguez SM, Hernández Isabel M. Azitromicina: antimicrobiano y antiinflamatorio. 2015; Available from: https://www.aepap.org/sites/default/files/documento/archivos-adjuntos/azitromicina_definitiva_gpi-gvr.pdf
50. Albelo AN, Tallet LAV, Tallet JIV, Álvarez LH. *Streptococcus pneumoniae*, mecanismos de resistencia antimicrobiana. *Rev Cubana Pediatr*. 2011;83(3):288–95.
51. Herrera L. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr . Carlos Sáenz Herrera*. 2021;1–21.
52. Concha R. Gestión clínica para el manejo apropiado de antibióticos. *Rev Chil Salud Pública*. 2016;20(1):45.
53. Sanchez P, Muñoz R, Gutiérrez N. Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. *Spei Domus*. 2012;1(1):31–7.
54. Hoyo V. Resistencia a antibióticos *Antibiotic resistance*. 2017;
55. López D, Torres M, Prada C. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia *Resistance genes in gram negative bacilli: Impact on public health in Colombia*. *Rev Universidades y Salud*. 2015;18(1):190–202.
56. Rivera-Jacinto M, Rodríguez-Ulloa C, Flores Clavo R, Serquén López L, Arce Gil Z. Betalactamasas de espectro extendido tipo TEM y CTX-M en *Klebsiella* spp y *Escherichia coli* aisladas de superficies de ambientes hospitalarios. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2015;32(4):752.
57. Rivas K, Rivas M, Dávila E, Rodríguez M. CEFALOSPORINAS. DE LA PRIMERA A LA CUARTA GENERACIÓN. *Rev Fac Med*. 2005;28(2):111–2.
58. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(10):4555–8.
59. Ortega-Paredes D, Haro M, Leoro-Garzón P, Barba P, Loaiza K, Mora F, et al. Multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from canine faeces in a public park in Quito, Ecuador. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;18:263–8.

60. Zurita J, Yáñez F, Sevillano G, Ortega-Paredes D, Paz y Miño A. Ready-to-eat street food: a potential source for dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* epidemic clones in Quito, Ecuador. *Lett Appl Microbiol*. 2020;70(3):203–9.
61. Ortega-Paredes D, Barba P, Mena-López S, Espinel N, Zurita J. *Escherichia coli* hyperepidemic clone ST410-A harboring blaCTX-M-15 isolated from fresh vegetables in a municipal market in Quito-Ecuador. *Int J Food Microbiol*. 2018;280(December 2017):41–5.
62. Leoro-Garzón P, Haro-Tipantiza M, Ortega-Paredes D, Leoro Monroy G. Diversidad alélica de genes productores de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en *E. coli* aislada de portadores sanos en Quito-Ecuador. Quito; 2018.
63. Vinuesa-Burgos C, Ortega-Paredes D, Narváez C, De Zutter L, Zurita J. Characterization of cefotaxime resistant *Escherichia coli* isolated from broiler farms in Ecuador. *bioRxiv*. 2018;000:1–14.
64. Barba PM, Ortega-paredes D, Molina-Cuasapaz G, Zurita J. OCCURRENCE OF EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE PRODUCING *Escherichia coli* IN A DAIRY FARM FROM QUITO , ECUADOR. *API Panamá*. 2017;(September 2019).
65. Senplades. Agenda zonal zona 3 centro provincias de: Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo y Pastaza 2013-2017 [Internet]. Vol. 1, Secretaria nacional de planificación y desarrollo. 2017. Available from: <http://www.planificacion.gob.ec>
66. Blaseca M. FACTORES DETERMINANTES DE LA ESTRUCTURA DE CAPITAL EN LAS EMPRESAS AGRÍCOLAS DE LA ZONA 3 DEL ECUADOR. 2020;
67. Ardoino S, Toso R, Toribio M, Álvarez H, Mariani E, Cachau P, et al. Antimicrobianos como promotores de crecimiento (AGP) en alimentos balanceados para aves: uso, resistencia bacteriana, nuevas alternativas y opciones de reemplazo. *Cienc Vet*. 2017;19(1):50–66.
68. BENÍTEZ AIJ. Uso de antibióticos en la industria ganadera y los riesgos que presenta para la salud humana [Internet]. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR. 2018. Available from: http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/16030/monografia_final_unido_IMPRIMIR.pdf?sequence=1&isAllowed=y
69. Caracundo Guamán EN. Determinación de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda comercializada. *Carrera De Medicina Veterinaria Y Zootecnia*. 2019. 60 p.
70. Diana Matovelle. Trabajo de Investigación previo a la obtención del Título de Especialista en Neumología. 2018;1–21.
71. Gonzáles Mendoza J, Maguiña Vargas C, Gonzáles Ponce F de M. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Medica Peru*. 2019;36(2):145–51.
72. Meunier D, Jouy E, Lazizzera C, Kobisch M, Madec JY. CTX-M-1- and CTX-M-15-type β -lactamasas in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *Int J Antimicrob Agents*. 2006;28(5):402–7.

73. Cormier A, Zhang PLC, Chalmers G, Weese JS, Deckert A, Mulvey M, et al. Diversity of CTX-M-positive *Escherichia coli* recovered from animals in Canada. *Vet Microbiol.* 2019;231(February):71–5.
74. Merida-Vieyra J, De Colosa A, Castañeda YC, Barbosa PA, Andrade AA. First report of group CTX-M-9 extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolates from pediatric patients in Mexico. *PLoS One.* 2016;11(12):1–12.
75. Cundon CC, Ameal A, Maubecín E, Bentancor A. Caracterización de cepas patógenas extraintestinales de *Escherichia coli* aisladas de perros y gatos de compañía de Buenos Aires, Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2018;50(3):290–4.
76. OIE. El bienestar animal: una ventaja para la industria ganadera. Oie [Internet]. 2017;2017:3–130. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2017-1-ESP.pdf
77. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Primer Informe Programa Reduce Colistina Noviembre 2017 [Internet]. 2017 p. 15. Available from: https://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/content_images/primer_informe_programa_reduce_colistina.pdf
78. Molina Cuasapaz G, Leoro Garzón P, Romero Borja E, Cevallos F. BIODIGESTORES EN UNIDADES PRODUCTIVAS AGROPECUARIAS (UPAs): UN PROCESO PARA COMBATIR LA RAM, PRODUCIR ENERGÍA RENOVABLE Y FERTILIZANTE DE ALTA CALIDAD. PROYECTO PILOTO INVENTAGRI. ECUADOR ES Calid *Rev Científica Ecuatoriana.* 2020;7(1):81–2.
79. Baquerizo M, Acuña M, Solis-Castro M. Contamination of river: case Guayas river and its affluent. *Manglar.* 2019;16(1):63–70.
80. Verraes C, Van Boxstael S, Van Meervenne E, Van Coillie E, Butaye P, Catry B, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: A review. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10(7):2643–69.

15. ANEXOS**Anexo N° 1: Hoja De Vida Docente Tutor****1.- DATOS PERSONALES:**

Nombre: Molina Cuasapaz Edie Gabriel
Apellido Paterno Apellido Materno Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Quito, 12 de julio 1990

Edad: 30 años **Género:** masculino

Nacionalidad: Ecuatoriano **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):**

Dirección Domiciliaria: Pichincha Quito Solanda
Provincia Cantón Parroquia
 Av. Mariscal Sucre S25-225 y Alfredo Escudero
Dirección

Teléfono(s): 022964757 0985728986
Convencionales Celular o Móvil

Correo electrónico: edie.molina7278@utc.edu.ec **Cédula de Identidad:** 1722547278

Tipo de sangre: ORH + **Estado Civil:** soltero

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS: NO POSEE

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

Nivel de Instrucción	Nombre de la institución educativa	Título obtenido	Número de registro Senescyt	Lugar (país y ciudad)
Tercer nivel	Universidad Central del Ecuador	Médico Veterinario Zootecnista	1005-2016-1684132	Ecuador
Cuarto nivel	Universidad politécnica de Valencia Universidad Autónoma de Barcelona	Máster en Mejora Genética Animal y Biotecnología de la Reproducción	7241137679	España

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Edie Gabriel Molina Cuasapaz

Anexo N° 2: Hoja de vida Estudiante 1

1.- DATOS PERSONALES:

Nombre: Bungacho Michilena Melanie Lizeth
Apellido Paterno Apellido Materno Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Quito, 16 de febrero de 1996

Edad: 23 años **Género:** Femenino

Nacionalidad: Ecuatoriana **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):**

Dirección Domiciliaria: Pichincha Mejía Cutuglagua
Provincia Cantón Parroquia

Cantón Mejía, Barrio Tambo N1 Lote 115.

Dirección

Teléfono(s): 02 3066506 0993484992
Convencionales Celular o Móvil

Correo electrónico: melanie.bungacho2484@utc.ec **Cédula de Identidad o Pasaporte:** 172511248-4

Tipo de sangre: ORH+ **Estado Civil:** Soltera

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS: NO POSEE

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Melanie Lizeth Bungacho Michilena.

Anexo N°3: Hoja de vida estudiante 2

1.- DATOS PERSONALES:

Nombre: Quezada Suárez Priscila Arianna
Apellido Paterno Apellido Materno Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Quito, 03 de octubre de 1997

Edad: 23 años **Género:** Femenino

Nacionalidad: Ecuatoriana **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):** _____

Dirección Domiciliaria: Pichincha Quito Turubamba
Provincia Cantón Parroquia

Cantón Quito, Barrio La Bretaña, Conjunto Girasoles del Sur N°2.

Dirección

Teléfono(s): 02 2699497 0984387504
Convencionales Celular o Móvil

Correo electrónico: priscila.quezada6768@utc.edu **Cédula de Identidad o Pasaporte:** 172220676-8

Tipo de sangre: ORH- **Estado Civil:** Soltera

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS: NO POSEE

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Priscila Arianna Quezada Suárez.

Anexo N°4: Tablas de conteo de colonias

Tabla 7. Datos del conteo de unidades formadoras de colonias TBX por cada mililitro.

TBX					
Muestra	Dilución	R1	R2	R3	UFC/mL
Punto 1	1	56	48	53	0,52
Punto 2	10 ⁻⁴	23	15	17	1833,3
Punto 3	10 ⁻⁴	16	28	14	1933,3
Punto 4	10 ⁻⁶	1	0	0	3333,3

Tabla 8. Datos del conteo de unidades formadoras de colonias TBX+Ceftriaxona (CRO) por cada mililitro.

TBX+CRO					
Muestra	Dilución	R1	R2	R3	UFC/mL
Punto 1	1	0	0	0	0
Punto 2	10 ⁻²	32	38	29	33,0
Punto 3	10 ⁻²	33	24	48	35,0
Punto 4	10 ⁻³	7	6	11	80,0

Anexo N° 5: Metodología

Figura 5.

Río Isinche puntos de muestreo.



Nota: se puede evidenciar la densidad de galpones de aves del sector, así como la cantidad de terrenos de uso agrícola. Fuente: Google Earth Pro-2021

Figura 6.

Recolección de muestras Punto 1



Figura N° 7

Recolección de muestras Punto 2



Figura N° 8*Recolección de muestras Punto 3***Figura N° 9***Recolección de muestras Punto 4*

Figura N° 10

Procedimiento de Recolección de muestras

**Figura N°11**

Preparación de medio de cultivo sin y con antibiótico



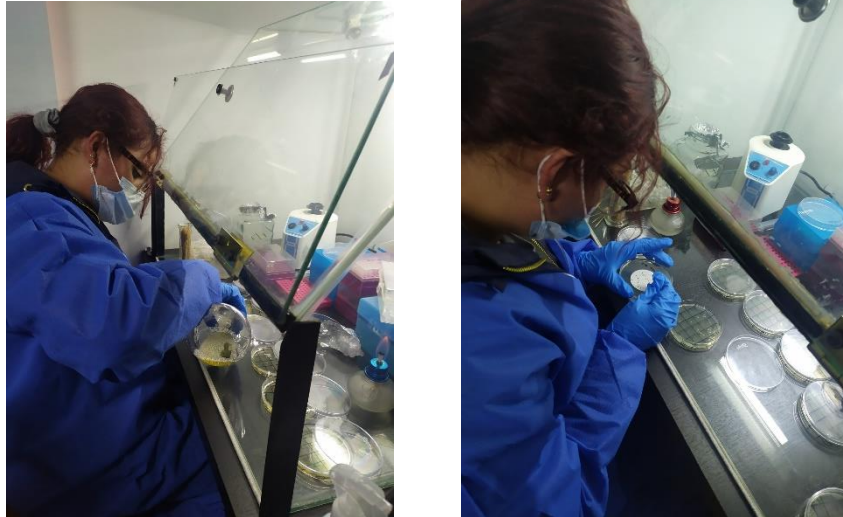
Figura N°12*Procedimiento de filtración***Figura N°13***Repique de colonias*

Figura N° 14

Etiquetado de eppendorf para colonias.

**Figura N°15**

Proceso de extracción de ADN

**Figura N°16**

Preparación de muestras para electroforesis

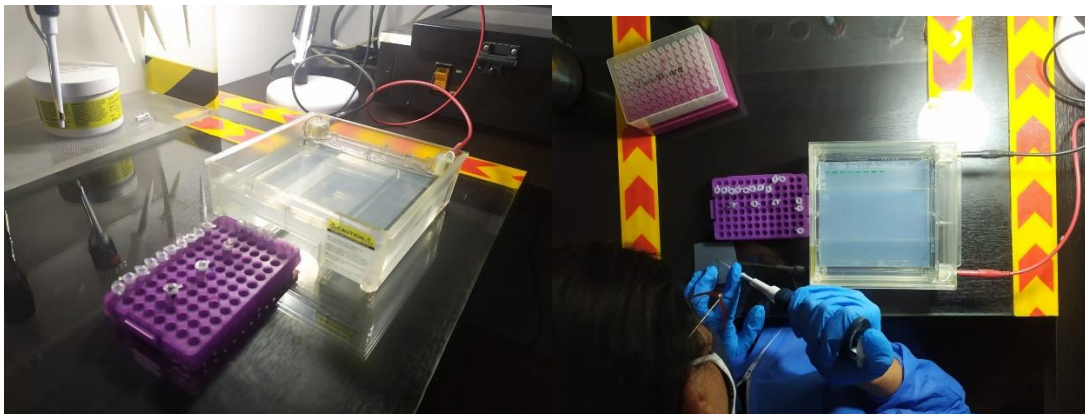
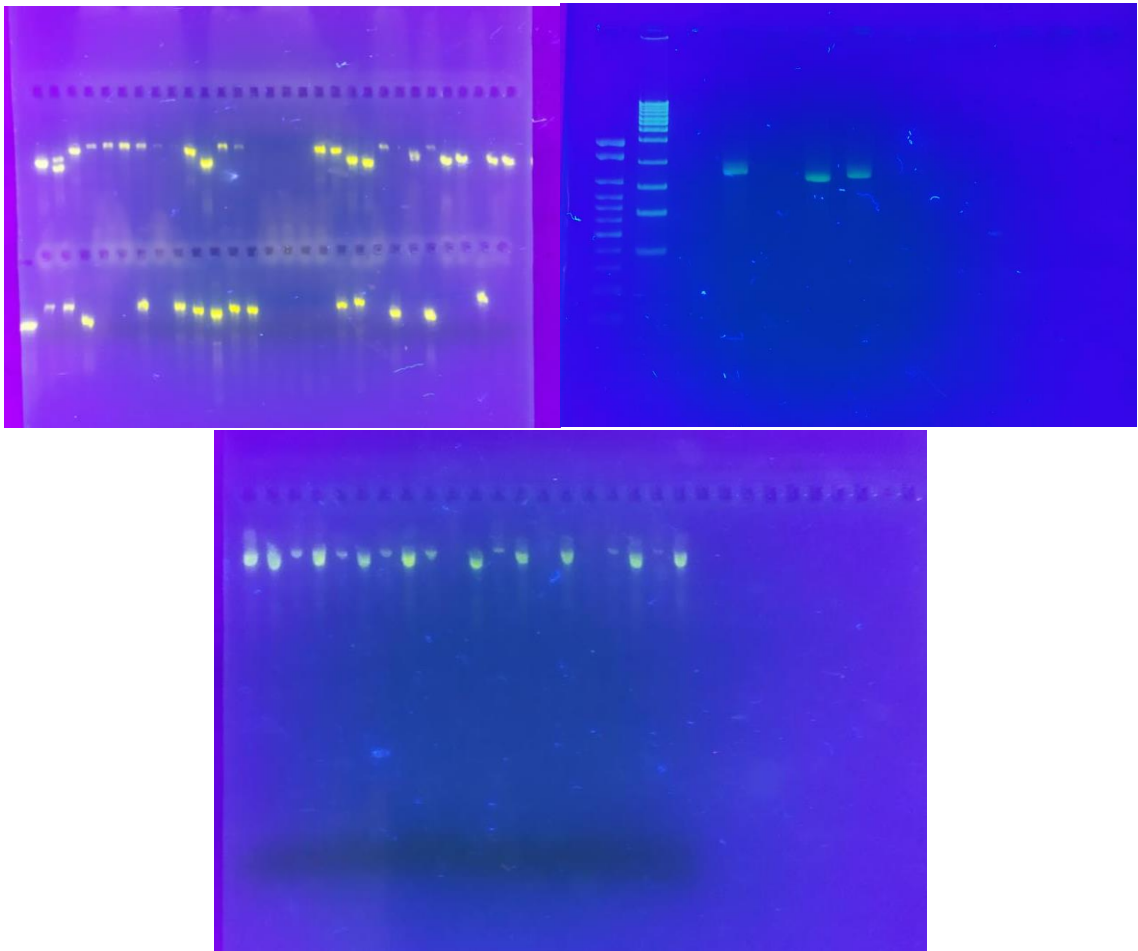


Figura N°17*Resultado PCR en transiluminador*

Anexo N° 6: Aval de Traducción



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por las señoritas Egresadas de la Carrera de **MEDICINA VETERINARIA** de la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES: BUNGACHO MICHILENA MELANIE LIZETH y QUEZADA SUÁREZ PRISCILA ARIANNA**, cuyo título versa **"OCURRENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE Escherichia coli RESISTENTE A CEFALOSPORINA DE TERCERA GENERACIÓN MEDIADO POR LA FAMILIA GÉNICA blaCTX-M EN EL RÍO ISINCHE LATACUNGA"**, lo realizaron bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a las peticionarias hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, marzo del 2021

Atentamente,

LIC. MARÍA FERNANDA AGUAIZA IZA
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
050345849-9

1803027935 Firmado
digitalmente por
1803027935
VICTOR HUGO
ROMERO GARCIA
Fecha: 2021.03.16
12:57:06 -05'00'