



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

“Evaluación de bioaerosoles asociados en el sitio de disposición final de residuos sólidos en la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL)”.

Trabajo de Titulación, modalidad Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, previa la obtención del Título de Ingenieros Bioquímicos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Autores: Edwin Fabian Muso Jami
César Ismael Acosta Hurtado

Tutor: Ph.D. José Homero Vargas López

Ambato – Ecuador

Abril 2017

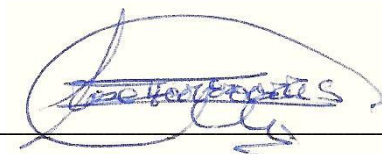
APROBACIÓN POR EL TUTOR

PhD. José Homero Vargas López

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 15 de febrero de 2017

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'José Homero Vargas López', is written over a horizontal line. The signature is enclosed within a light yellow rectangular highlight.

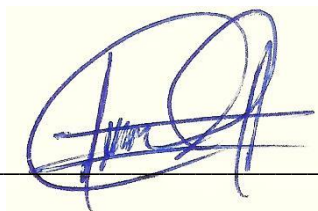
Ph.D. José Homero Vargas López

C.I. 180197804-8

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Edwin Fabian Muso Jami, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



Edwin Fabian Muso Jami

C.I. 050328607-2

AUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, César Ismael Acosta Hurtado, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



César Ismael Acosta Hurtado

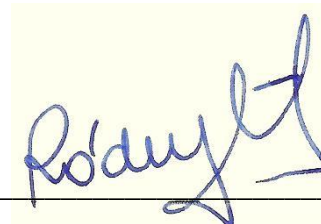
C.I. 180512413-6

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

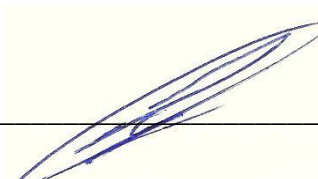


Presidente del Tribunal



Ing. Mg. Manolo Alexander Córdova Suárez

C.I. 180284250-8



Mg. Fernando Cayetano Alvarez Calvache

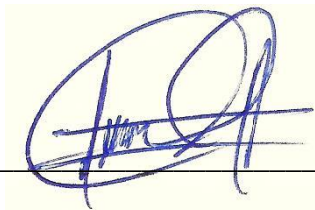
C.I. 180104502-0

Ambato, 10 de marzo de 2017

DERECHOS DE AUTOR

Autorizamos a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

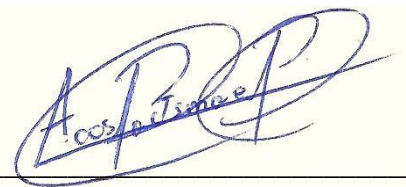
Cedemos los Derechos en línea patrimoniales de nuestro Proyecto, con fines de difusión pública, además aprobamos la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando nuestros derechos de autor.



Edwin Fabian Muso Jami

C.I. 050328607-2

AUTOR



César Ismael Acosta Hurtado

C.I. 180512413-6

AUTOR

DEDICATORIA

Edwin:

A mis padres Luis Muso y Laura Jami quienes a pesar de las adversidades siempre me apoyaron y me brindaron su amor incondicional, son mi ejemplo de vida, de lucha y superación.

A mis hermanos Richard y Bryan por siempre apoyarme, y depositar su confianza en mí, son mi felicidad.

A mi sobrina Doménica, el pequeño destello de luz que ilumina mi familia. Son mi motivación e inspiración, este pequeño logro más se los debo a ustedes gracias por estar siempre junto a mí los amo.

Ismael:

A mis padres César Acosta y Edilma Hurtado por saberme inculcar valores, por la paciencia, la motivación y el apoyo incondicional para lograr alcanzar mis metas y objetivos y por ser el pilar durante mi desarrollo académico.

A mis hermanos Fátima y Stalin por estar en los momentos que más los he necesitado, por su ayuda permanente y por ser la razón que me incita a continuar superándome día a día.

AGRADECIMIENTO

A la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga “EPAGAL”, por abrirnos las puertas y habernos brindado la oportunidad de realizar nuestro trabajo de titulación en tan prestigiosa institución.

A la Ing. Diana Cañar, Gerente de EPAGAL, por depositar su confianza y brindarnos las facilidades en el desarrollo de nuestro trabajo de titulación.

A la Universidad Técnica de Ambato, a los docentes de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos por los conocimientos impartidos que constituyen parte fundamental en nuestra formación.

Al Ph.D. Homero Vargas que nos brindó dedicación incondicional durante la realización del presente trabajo de titulación.

Un agradecimiento especial a quienes colaboraron como calificadores de este trabajo final: Ing. Mg. Manolo Córdova; Mg. Fernando Álvarez por presentar la mejor de las predisposiciones para que el presente trabajo avance a las instancias finales

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

Portada	i
Aprobación por el tutor	ii
Declaración de autenticidad	iii
Aprobación de los miembros del tribunal de grado	v
Derechos de autor	vi
Dedicatoria	vii
Agradecimiento	viii
Índice general de contenidos	ix
Índice de tablas	xiii
Índice de figuras	xiv
Resumen	xv
Abstract	xvi
Introducción.....	1
CAPÍTULO I.....	3
EL PROBLEMA.....	3
1.1. Tema	3
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo General	4
1.3.2. Objetivos Específicos	4
CAPÍTULO II.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.1.1. Aerobiología	6
2.1.2. Residuos sólidos.....	8
2.1.2.1. Domiciliarios	8

2.1.2.2. Comercial	8
2.1.2.3. De demolición	8
2.1.2.4. De barrido de calles	8
2.1.2.5. De limpieza de parques y jardines	8
2.1.2.6. De hospitales, sanatorios y laboratorios de análisis e investigación o patógenos.....	9
2.1.2.7. Institucional.....	9
2.1.2.8. Industrial	9
2.1.2.9. Especiales.....	9
2.1.2.10. Peligrosos.....	9
2.1.2.11. Incompatibles	10
2.1.3. Enterobacterias	10
2.1.3.1. Escherichieae.....	10
2.1.3.1.1. <i>Escherichia</i>	11
2.1.3.1.2. <i>Shigella</i>	11
2.1.3.2. Edwardsielleae.....	11
2.1.3.2.1. <i>Edwardsiella tarda</i>	12
2.1.3.3.1. <i>Salmonella</i>	12
2.1.3.4. Klebsiellae.....	13
2.1.3.4.1. <i>Klebsiella</i>	13
2.1.3.4.1.1. <i>K. pneumoniae</i>	13
2.1.3.4.2. <i>Enterobacter</i>	14
2.1.3.4.3. <i>Hafnia</i>	15
2.1.3.4.4. <i>Serratia</i>	15
2.1.3.5. Proteeae.....	16
2.1.3.5.1. <i>Proteus</i>	17
2.1.3.5.2. <i>Morganella</i>	17
2.1.3.5.3. <i>Providencia</i>	17
2.1.3.6. <i>Yersinia</i>	18
2.1.3.7. <i>Citrobacter</i>	19
2.1.4. Pruebas IMVIC	19
2.1.4.1. Prueba del indol.....	19
2.1.4.2. Prueba del rojo de metilo	21

2.1.4.3. Voges-Proskauer.....	21
2.1.4.4. Citrato	23
2.1.5. Método turbidimétrico.....	25
2.2. Hipótesis.....	26
2.3. Señalamiento de las variables de la hipótesis.....	26
CAPÍTULO III	28
MATERIAL Y MÉTODOS	28
3.1. Materiales	28
3.2. Métodos.....	29
3.2.1. Trabajo de campo.....	29
3.2.1.1. Toma de muestra	30
3.3. Trabajo de laboratorio	31
3.3.1. Presencia de bacterias.....	31
3.3.2. Presencia de fungí	32
3.3.3. Cantidad de microorganismos (turbiedad).....	32
3.3.4. Pruebas bioquímicas.....	32
3.3.4.1. Del Indol	33
3.3.4.2. Rojo de metilo	33
3.3.4.3. Voges-Proskauer.....	33
3.3.4.4. Citrato de Simmons	33
CAPÍTULO IV	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1. Análisis y discusión de los resultados.....	35
4.1.1. Crecimiento microbiano	35
4.1.2. Cantidad de microorganismos (turbiedad).....	36
4.1.3. Pruebas IMVIC	44
4.1.4. Análisis estadístico	44
4.2. Verificación de hipótesis.....	46

CAPÍTULO V	47
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
5.1. Conclusiones.....	47
5.2. Recomendaciones	47
Referencias bibliográficas	48
Anexos	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Características claves de identificación para las enterobacterias más frecuentes	24
Tabla 2 Estándares McFarland	25
Tabla 3 Materiales utilizados	28
Tabla 4 Reactivos utilizados.....	29
Tabla 5 Diseño factorial de múltiples niveles	34
Tabla 6 Modelo lineal general: UFC/ml vs. Días; Hora	34
Tabla 7 Concentración de bioaerosoles asociados a desechos comunes	37
Tabla 8 Condiciones climáticas en la toma de muestras de los desechos comunes ...	38
Tabla 9 Concentración de bioaerosoles asociados a desechos hospitalarios	40
Tabla 10 Condiciones climáticas en la toma de muestras de los desechos hospitalarios.....	41
Tabla 11 Análisis de varianza para UFC/ml, desechos comunes	45
Tabla 12 Análisis de varianza para UFC/ml, desechos hospitalarios	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales metabolitos indólicos producidos a partir del triptófano in vitro	20
Figura 2. Desaminación del triptófano.....	20
Figura 3. Vías de ácidos mixtos y butilenglicol de fermentación de la glucosa.	22
Figura 4. Reacción de Voges-Proskauer.	23
Figura 5. Croquis del sitio de disposición final de la empresa pública de aseo y gestión ambiental del cantón Latacunga (EPAGAL).....	30
Figura 6. izquierda, matraz con medio de cultivo BHI tras 48 horas de incubación, derecha, matraz con medio de cultivo BHI inocuo.....	35
Figura 7. Curva de calibración McFarland.....	36
Figura 8. Medias de concentraciones de los días, zona de desechos comunes.	39
Figura 9. Medias de concentraciones de las horas, zona de desechos comunes.	39
Figura 10. Medias de concentraciones de los días, zona de desechos hospitalarios. .	42
Figura 11. Medias de concentraciones de las horas, zona de desechos hospitalarios.	42

RESUMEN

Se evaluaron los bioaerosoles presentes en la zona de desechos comunes y en la zona de desechos hospitalarios del sitio de disposición final de residuos sólidos en la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL). El muestreo se realizó en cinco puntos distintos registrando temperatura ambiente y humedad relativa, durante 24 días de lunes a sábado a las 10:00 y 14:00 horas en cada una de las zonas, inoculando 1000 cc de aire en caldo de cultivo Infusión Cerebro Corazón. Se estimó las concentraciones microbianas mediante una curva McFarland, teniendo resultados en el rango de $1,00135 \cdot 10^{10}$ UFC/ml a 16 °C y 63% de HR y $1,06 \cdot 10^7$ UFC/ml a 13 °C y 100% de HR para desechos comunes, mientras para desechos hospitalarios $6,9041 \cdot 10^9$ UFC/ml a 16 °C y 63% de HR y $1,06 \cdot 10^7$ UFC/ml a 13 °C y 94% de HR. Mediante la aplicación de pruebas bioquímicas IMVIC se logró aislar un total de 91 bacterias, determinándose seis especies de enterobacterias *Shigella sonnei*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri* y *Escherichia coli* y tres géneros *Salmonella*, *Enterobacter* y *Providencia*. No se logró identificar 15 cepas bacterianas debido a que no presentaron resultados comparables bibliográficamente. La presencia de las enterobacterias y las altas concentraciones microbianas en estas áreas son la causa principal de enfermedades gastrointestinales tanto de trabajadores como de las poblaciones aledañas.

Palabras clave: aerobiología, IMVIC (pruebas bioquímicas), bioaerosoles, residuos sólidos, EPAGAL.

ABSTRACT

The bioaerosols present in the common waste area and in the hospital waste area of the final disposal site of solid wastes were evaluated in the Empresa Publica de Aseo y Gestion Ambiental of Latacunga canton (EPAGAL). Sampling was performed at five different points, recording environment temperature and relative humidity, for 24 days from Monday to Saturday at 10:00 a.m. and 2:00 p.m. in each of the zones, inoculating 1000 cc of air in breeding grounds Brain Heart Infusion. Microbial concentrations were estimated using a McFarland curve, with results in the range of $1,00135 \cdot 10^{10}$ CFU/ml at 16 °C and 63% RH and $1,06 \cdot 10^7$ CFU/ml at 13 °C and 100% RH for common waste, while for hospital waste $6,9041 \cdot 10^9$ CFU / ml at 16 °C and 63% RH and $1,06 \cdot 10^7$ CFU/ml at 13 °C and 94% RH. By means of the IMVIC biochemical tests, a total of 91 bacteria were isolated, with six species of enterobacteria *Shigella sonnei*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri* and *Escherichia coli* and three genera *Salmonella*, *Enterobacter* and *Providencia*. It was not possible to identify 15 bacterial strains because they did not present bibliographically comparable results. The presence of enterobacteria and high microbial concentrations in these areas are the main cause of gastrointestinal diseases in both workers and surrounding populations.

Keywords: aerobiology, IMVIC (biochemical tests), bioaerosols, solid waste, EPAGAL.

INTRODUCCIÓN

El incremento paulatino de la población humana implica una mayor generación de residuos sólidos lo cual conlleva a disponer de sitios de disposición final donde se confine la basura producida por actividades cotidianas de carácter doméstico, industrial y/o hospitalario. Los sitios de disposición final son lugares con un alto grado de riesgo biológico por las elevadas concentraciones de microorganismos que se producen lo cual da origen a bioaerosoles, partículas de origen biológico (vegetal, animal o microbiológico) que se encuentran suspendidas en el aire, los bioaerosoles son agentes causales de diferentes tipos de enfermedades, intoxicaciones y alergias que son contraídas mediante ingestión, inhalación y contacto con la piel (**Sánchez, Roig, Cayuela, & Stentiford, 2006**).

Según el tipo de desecho, los sitios de disposición final se dividen en dos secciones: desechos comunes y desechos hospitalarios, en la primera se confina todo desecho sólido de origen orgánico e inorgánico que puede degradarse y que no presentan un alto riesgo para la salud, en la sección de desechos hospitalarios se almacena todo aquel material peligroso que puede ser infeccioso, tóxico o radiactivo, procedente de actividades sanitarias (**OMS, 2015**).

La generación de bioaerosoles son producto de la gran acumulación de desechos que se acopian en los sitios de disposición final, la humedad y la temperatura son condiciones atmosféricas que influyen directamente en su producción, una humedad superior al 70% acompañada de temperaturas entre 10 y 40 °C (temperatura ambiente) favorecen el incremento de partículas aerotransportables (bioaerosoles) (**Cardozo & Araque, 2015**).

Debido a los antecedentes anteriormente citados, los recicladores que trabajan en los sitios de disposición final son vulnerables a contraer enfermedades y ser vectores portadores de las mismas, entre las enfermedades que frecuentemente presentan los recicladores son de carácter respiratorio, infecciones gastrointestinales, infecciones en la piel, y las de mucosas (ojos y boca) (**Ballesteros, Cuadros, Botero, & López, 2008**).

Las infecciones gastrointestinales están entre las enfermedades de carácter infeccioso más comunes, a nivel mundial son la causa más importante de morbilidad y mortalidad en los lactantes y niños, los agentes causales de las infecciones gastrointestinales pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, las bacterias que pertenecen a esta familia son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos que fermentan la glucosa en anaerobiosis; citocromo oxidasa negativos y reducen los nitratos a nitritos (**López, Cárdenas, & Osuna, 2012; Olivas, 2001**).

Debido a la diversidad de bacterias que comprenden la familia *Enterobacteriaceae* es necesario su identificación, siendo las pruebas bioquímicas IMVIC uno de los métodos utilizados para la identificación de bacterias. Este método se compone de cuatro pruebas: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato. Los resultados de estas pruebas se expresan mediante signos positivos (+) y negativos (-) dependiendo del resultado observado (**INEN, 2015**).

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. Tema

“Evaluación de bioaerosoles asociados en el sitio de disposición final de residuos sólidos en la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL)”.

1.2. Justificación

En el objetivo N° 7 del Plan Nacional del Buen Vivir, que se ocupa de garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental, territorial y global, en la parte que corresponde a contaminación ambiental estipula “Prevenir, controlar y mitigar la contaminación ambiental, como aporte para el mejoramiento de la calidad de vida, continúa siendo sumamente importante para garantizar el derecho humano a vivir en un ambiente sano, pilar fundamental en la sociedad del Buen Vivir” (SENPLADES, 2013).

Tomando en consideración las recomendaciones del Plan Nacional del Buen Vivir, el Ministerio del Ambiente mediante Acuerdo N° 061 del 4 de Mayo del 2015 Reforma el Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria, en el Art. 57 que se ocupa de Responsabilidades de los Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales en el literal g manifiesta: “Eliminar los botaderos a cielo abierto existentes en el cantón en el plazo establecido por la autoridad ambiental, mediante cierres técnicos avalados por la Autoridad Ambiental competente”. El plazo máximo del cierre técnico es el año 2017 en el cual los gobiernos autónomos descentralizados deberán contar con un sitio de disposición final adecuado (relleno sanitario) como medida para la disminución de contaminación ambiental promoviendo el derecho a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado (MAE, 2015).

La gestión de residuos sólidos que se realiza en los sitios de disposición final conlleva a un riesgo biológico por la exposición no controlada a factores

microbiológicos. En razón de que, las partículas aerotransportables de origen biológico (bioaerosoles) son agentes causales de diversos tipos de enfermedades en los seres vivos como infecciones e intoxicaciones.

La falta de trabajos relacionados a la microbiota en ambientes donde se encuentran establecidos rellenos sanitarios, en los últimos años ha incrementado el interés por estos estudios, con la finalidad de determinar la presencia de organismos patógenos y oportunistas en el aire; mismos que pueden provocar efectos negativos en la salud humana y ecosistemas aledaños a los sitios de disposición final de residuos sólidos **(Flores, Pardavé, & Valenzuela, 2007)**.

La Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL) al poseer un botadero a cielo abierto para la disposición final de residuos sólidos y no un relleno sanitario como estipula el Ministerio del Ambiente (MAE), implica un mayor impacto ambiental en la zona y áreas aledañas al sitio de depósito de los residuos sólidos (Sector barrio Inchapo).

En base a estos antecedentes, es de vital importancia el presente estudio, mismo que permitirá obtener datos sobre la calidad del aire dentro del botadero de basura a cielo abierto de Latacunga, y tomar medidas adecuadas para el control, prevención y mitigación de enfermedades que puedan producir los bioaerosoles precautelando la salud de los obreros, minadores y poblaciones aledañas, además contribuirá como estudio previo a un plan de manejo ambiental para el cierre técnico del botadero de basura a cielo abierto e implementación de un relleno sanitario en el Cantón Latacunga.

1.3.Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Evaluar los bioaerosoles asociados al sitio de disposición final de residuos sólidos en la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL).

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la cantidad de UFC/cc de aire en el botadero de basura mediante una curva de McFarland.

- Aislar microorganismos en medios de cultivo MacConkey, Sabouraud, Tripteina Soya Agar y Extracto de Malta.
- Identificar mediante pruebas bioquímicas de Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer, Citrato (IMViC) los microorganismos presentes en el sitio de disposición final de la empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

A nivel mundial entre las investigaciones más sobresalientes sobre los microorganismos del aire relacionados con residuos sólidos se encuentran las realizadas en: México por **Flores et al. (2007)**, en Nigeria por **Ambrose, Braid y Essien (2015)**, en Polonia por **Kaźmierczuk y Bojanowicz (2014)** y en Ecuador por **Anchache y Castillo (2016)**, las cuales muestran resultados similares respecto a la presencia de enterobacterias en los rellenos sanitarios.

En Ecuador se han realizado escasos estudios acerca de las consecuencias de la contaminación del aire sobre la salud de las personas, dichos temas no constan en programas de desarrollo urbano y no existen investigaciones de carácter epidemiológica sobre la contaminación del aire (**MAE, 2010**).

Estudios han revelado que los trabajadores que manipulan residuos sólidos son más propensos a presentar enfermedades gastrointestinales, irritación en piel, ojos y garganta, dificultades respiratorias y síndrome tóxico por polvo orgánico (ODTS). Estos síntomas están relacionados a la exposición a bioaerosoles que contienen esporas de hongos, bacterias, endotoxinas y metabolitos gaseosos producidos por microorganismos (**Nielsen, Nielsen, & Breum, 1995**).

2.1.1. Aerobiología

La expresión aerobiología fue planteada por el fitopatólogo estadounidense Fred Campbell Meier en 1930 y se refiere al estudio de partículas de procedencia biológica que se hallan en la atmósfera, tal como: esporas de hongos, fragmentos de líquenes y bacterias (**Fernández & Fernández, 2014**). Según **Trigo (2010)** la aerobiología se ocupa del estudio de las partículas biológicas que se hallan distribuidas en la atmósfera, al igual que los elementos que afectan en su liberación, transporte, deposición y resuspensión.

Los estudios aerobiológicos en los últimos años se han fortalecido mediante la incorporación de datos de fenología, biogeografía o epidemiología, basado en ellos se conoce de manera real la dispersión de microorganismos y su incidencia en la salud pública y el medio ambiente **(Nieto, 2008)**.

Los bioaerosoles son contaminantes atmosféricos; debido a su estructura orgánica compleja y variada, son organismos vivos o fragmentos de materia viviente suspendidos en el aire, con un alto impacto en la salud por sus propiedades biológicas **(A. Parra, 2006)**. Las distintas fuentes de bioaerosoles incluyen grandes cantidades de estiércol, animales y forrajes; ganadería que alberga una variedad de patógenos zoonóticos, muchos patógenos se excretan con las heces; los vertederos de residuos no regulados, plantas de tratamiento de aguas residuales, etc. **(Ambrose et al., 2015)**.

Una amplia diversidad de organismos durante su ciclo de vida cambia su localización geográfica y esto ocurre a través de la atmósfera. Es por esto que las partículas biológicas se encuentran siempre en dicho ambiente, aunque su número y viabilidad varíen dependiendo de las horas del día, las condiciones del tiempo, las estaciones del año y su ubicación geográfica. El tamaño de la biota presente en el aire varía desde micrómetros como el caso de virus, bacterias, esporas y polen, hasta milímetros como las semillas y los insectos sin alas. La presencia de bacterias en la atmósfera ha sido posible evidenciar mediante el desarrollo de colonias en medios de cultivo (denominándose cultivables); no obstante esto corresponde a una porción mínima de la población que se encuentra en la atmósfera, por lo que podría considerarse que la mayor parte estaría muerta o estar en forma viable no cultivable **(Rosas, Salinas, Martínez, Eslava, & Cravioto, 2004)**.

El proceso de descomposición de residuos sólidos consta de distintas etapas mismas que contribuyen a la emisión de bioaerosoles perjudiciales a la salud, ya que causan enfermedades alérgicas, respiratorias e infecciosas. Los bioaerosoles están formados por partículas suspendidas en el aire con tamaños que fluctúan entre 0,1 μm y 100 μm de diámetro y que contienen bacterias, virus, hongos y los productos de su metabolismo (e.g endotoxinas), así como polen e incluso insectos muy pequeños y sus desechos **(Vélez, Camargo, & Balaguera, 2010)**.

2.1.2. Residuos sólidos

Los residuos sólidos conocidos habitualmente como basura, están constituidos por residuos orgánicos (desechos de comercialización, transporte, elaboración de alimentos, excedentes de comida y restos de material vegetal), papel, cartón, madera y de manera usual materiales inorgánicos como vidrio, plástico, metales. Los residuos sólidos se originan principalmente de labores domésticas, sitios y servicios públicos, demoliciones, construcciones, industrias, establecimientos comerciales y de servicios. (Medina & Jiménez, 2001).

Según el libro VI anexo 6 del **Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente (TULSMA)** los desechos sólidos se clasifican en:

- **Domiciliarios**

Por su naturaleza, composición, cantidad y volumen se generan de labores desarrolladas en viviendas.

- **Comercial**

Se generan en establecimientos comerciales o mercantiles como almacenes, bodegas, hoteles, restaurantes, cafeterías, plazas de mercadeo y otros.

- **De demolición**

Se originan en procesos de construcción de edificios, pavimentos, materiales encontrados luego de la construcción o derrumbe de obras ingenieriles; se componen de ladrillos, tierra, materiales pétreos, hormigón, metales, madera, vidrio, arena, etc.

- **De barrido de calles**

Se encuentra en los procesos de aseo de calles y pueden ser: basuras domiciliarias, institucional, industrial, comercial, hojas, ramas, polvo, papeles, residuos de frutas, excremento humano y de animales, vidrios, cajas pequeñas, animales muertos, cartones y plásticos, arrojados clandestinamente a la vía pública.

- **De limpieza de parques y jardines**

Proviene de arreglo y saneamiento de parques públicos, jardines, podas de césped y árboles, situados en áreas públicas o privadas.

- **De hospitales, sanatorios y laboratorios de análisis e investigación o patógenos**

Estos desechos se desarrollan de curaciones, intervenciones quirúrgicas, laboratorios de análisis e investigación; son considerados patógenos por lo que durante su recolección y almacenamiento en el relleno sanitario se les da un tratamiento especial, tomando en consideración las normas ambientales y de salud emitidas por el Ministerio de Ambiente.

- **Institucional**

Corresponde a los desechos de establecimientos educativos, de gobierno, militares, carcelarios, religiosos, aeropuertos, terminales terrestres, fluviales, marítimos, oficinas, entre otros.

- **Industrial**

Son desechos que se obtienen en distintas labores industriales como manufactura textil, alimenticia, pesquera, metálica y otras afines (**P. Mejía & Patarón, 2014**).

- **Especiales**

Generalmente se obtienen a gran escala, por su peso o volumen su manipulación es diferente. Algunos desechos especiales son:

- Animales muertos, con peso mayor a 40 kilos.
- Estiércol producido en mataderos.
- Restos de chatarras, metales, vidrios, muebles y mobiliario doméstico.
- Restos de poda de jardines y árboles cuya recolección no es factible de manera ordinaria.
- Materiales de demolición y tierras de arrojado clandestino cuya recolección no es factible de manera ordinaria.

- **Peligrosos**

Este tipo de desecho mediante reacciones químicas y biológicas ocasiona perjuicios al ambiente (**P. Mejía & Patarón, 2014**), debido a sus propiedades corrosivas, tóxicas, venenosas, reactivas, explosivas, inflamables, biológicas, infecciosas, irritantes, de patogenicidad, carcinogénicas son un peligro potencial para los seres vivos y el equilibrio biológico.

- **Incompatibles**

Son desechos que al reaccionar entre ellos producen daños a la salud humana, al medio ambiente o ambos.

2.1.3. Enterobacterias

Son un grupo heterogéneo de microorganismos en forma bacilar, gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos que poseen la capacidad de fermentar la glucosa (**Prants, 2005**). Tienen un tamaño entre 1 a 6 μm , no producen esporas, algunos poseen motilidad debido a la presencia de flagelos peritricos, la gran mayoría forma cápsula, ciertas especies reducen los nitratos a nitritos (**Romero, 2007**).

Los miembros de esta familia se encuentran provistos de fimbrias que les permiten adherirse a superficies o mucosas, realizan intercambio de información genética a través de pilis sexuales especializados. Las enterobacterias elaboran bacteriocina, una proteína capaz de causar lisis, con lo cual se mantiene el equilibrio ecológico de distintas bacterias en el intestino (**Tortora, Funke, & Case, 2007**).

Estos microorganismos son parte de la flora intestinal estable o transitoria en humanos y animales, además tienen como hábitat el agua, suelo o como parásitos en vegetales. Pese a que se les considera como bacterias propias del intestino, ciertos géneros poseen gran importancia a nivel hospitalario (**Blanc, 2007**). Cuando son considerados patógenos oportunistas causan afecciones a nivel del tracto digestivo, respiratorio, urinario y circulatorio; en cambio sí se presentan como serios patógenos ocasionan daños sistémicos y entéricos, debido a su estructura antigénica compleja además de generar toxinas y otros factores de virulencia (**Pachón, 2009**).

- **Escherichieae**

Esta familia se encuentra formada por los géneros *Escherichia* y *Shigella*. Estos grupos de microorganismos no podrían estar relacionados debido a que presentan diferencias en sus características de crecimiento y su apariencia en medios de aislamiento, a pesar de esto, estos dos géneros están relacionados fuertemente desde el punto de vista genético, basándose en estudios de hibridación de ADN (**Koneman et al., 2006**).

- ***Escherichia***

Escherichia coli se considera como un microorganismo huésped de la flora intestinal de los animales de sangre caliente, en los que se incluye al hombre; sin embargo, existen ciertas cepas que poseen factores de virulencia y originan enteritis, entre las que podemos mencionar a: enteropatógena clásica, enteroinvasora, enterotoxigenica y enterohemorrágica; abarcando distintos serotipos cada una (**Ausina & Moreno, 2006**).

E coli es distinguida como un patógeno humano relevante, este microorganismo está vinculado a varias enfermedades, dentro de las cuales se encuentran: infecciones del tracto urinario (UTIs), enfermedades diarreicas e infecciones del sistema nervioso central (**Mahon, Lehman, & Manuselis, 2015**).

- ***Shigella***

Este género consta de cuatro especies debidamente definidas que son: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* y un considerable número de serotipos. La vía fecal-oral es crucial para su transferencia, mediante el consumo de agua o alimentos contaminados (**H. Mejia, 2007**).

Estos microorganismos poseen ciertas características como: no presentar movilidad, no producen gas a partir de glucosa, no poseer la capacidad de hidrolizar urea, ni producir H₂S y no descarboxilan lisina; excepto por ciertas especies de *S. flexneri*, (**Mahon et al., 2015**).

Se considera a *Shigella dysenteriae* (Grupo A), que posee 15 serotipos, como la especie que posee mayor patogenicidad, de los cuales el serotipo 1 es el responsable de generar la toxina Shiga relacionada con el síndrome urémico-hemolítico. La enfermedad de disentería bacilar o shigelosis, es provocada por bacterias del género *Shigella*, los hospederos comunes de esta bacteria son el hombre y algunos primates; el cuadro infeccioso se presenta con una dosis demasiado baja, basta ingerir entre 10 y 200 bacterias. Comúnmente la enfermedad se presenta en una tasa del 99% en países en vías de desarrollo (**Baca et al., 2014**).

- ***Edwardsiella***

Esta tribu se encuentra constituida por un solo género *Edwardsiella*, mismo que consta de tres especies *E. tarda*, *E. hoshinae* y *E. ictaluri*; no obstante, únicamente *E.*

tarda posee importancia médica. Se encuentra principalmente en los reptiles (más que nada en víboras, sapos y tortugas) y peces de agua dulce (**Koneman et al., 2006**).

- ***Edwardsiella tarda***

Es un bacilo que no posee cápsula, móvil con baja capacidad fermentativa, debido a su tardía o débil fermentación de azúcares se le atribuye el nombre *tarda*. Tiene la capacidad de producir indol y H₂S (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

Además este microorganismo es un patógeno oportunista que causa infecciones en heridas (comúnmente accidentes acuáticos) y vías urinarias, meningitis, endocarditis, bacteriemias y probablemente diarreas (**García & Zamudio, 1998**).

- **Salmonelleae**

Contiene un único género *Salmonella* y su nombre lo adopta por el estadounidense Daniel Elmer Salmon. La salmonelosis es una enfermedad entérica bacteriana que se presenta en humanos y animales. En los humanos la enfermedad ocurre esencialmente por alimentos, leche o agua contaminados con deyecciones; las salmonelas se presentan como patógenos primarios en los animales inferiores (aves de corral, vacas, cerdos, mascotas, aves, ovejas) (**Koneman et al., 2006**).

- ***Salmonella***

Se asocia usualmente a enfermedades diarreicas, que es la causa de mayor morbilidad y mortalidad, especialmente en niños y adultos mayores. Los microorganismos que pertenecen a este género son bacilos, gram negativos, anaerobios facultativos, poseen tamaños entre 0,3 a 1 µm por 1,0 a 6,0 µm. (**M. Parra, Durango, & Máttar, 2002**).

Este género ataca los intestinos de un cuantioso número de vertebrados causando infección en seres humanos, origina fiebre entérica, gastroenteritis y septicemia. *Salmonella typhi*, es el integrante de mayor relevancia ya que es el agente causante de la fiebre tifoidea. *Salmonella* se encuentra constituido por más de 2000 serotipos o especies, todas de carácter patógeno. Para un mejor entendimiento se los puede clasificar en dos grupos:

- Grupo de fiebre entérica, formado por bacilos tifoideos y paratifoideos que son únicamente parásitos humanos;
- Grupo de intoxicación alimentaria, que poseen un origen animal pero sin embargo logran infectar a los seres humanos, ocasionando enfermedades como: gastroenteritis, septicemia o infecciones localizadas (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

- **Klebsiellae**

Esta tribu envuelve cuatro géneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* y *Serratia*, mismos que contienen diversas especies patógenas.

- ***Klebsiella***

Se le otorga este nombre en distinción a Edwin Klebs, un microbiólogo alemán de fines del siglo XIX (**Koneman et al., 2006**).

Este género se desarrolla en toda la naturaleza e igualmente como se lo encuentra en la mucosa de ciertos mamíferos, se lo halla en el suelo, agua o plantas. En las personas logra colonizar la nasofaringe (1-6%) y en mayor medida el aparato gastrointestinal (5-38%) (**Ausina & Moreno, 2006**).

Son de forma bacilar inmóviles, encapsulados (cápsula prominente) que se desarrollan bien en medios ordinarios dando origen a colonias mucoides en forma de cúpula con distintos grados de viscosidad (**García & Zamudio, 1998**).

Se ha demostrado que diversas cepas de *Klebsiella* tienen la capacidad de fijar el nitrógeno de la atmosfera, lo que se considera como una ventaja nutricional para aquellas poblaciones que poseen una cantidad deficiente de nitrógeno proteico (**Tortora et al., 2007**).

- ***K.pneumoniae***

Fermenta los azúcares (glucosa, lactosa, sacarosa, manitol) obteniendo ácido y abundante gas. Es la principal causa de infecciones intrahospitalarias, incluso en algunos centros a superando a *E. coli*; causa neumonía, infecciones urinarias, otras infecciones piogénicas como abscesos, meningitis, septicemia y algunas veces diarrea. La neumonía presenta una alta tasa de letalidad, se da en adultos de edad media o mayores que presenten dificultades como alcoholismo, enfermedad

broncopulmonar crónica o diabetes mellitus. Esta enfermedad afecta a uno o más lóbulos del pulmón debido a que produce un exudado mucoso inflamatorio masivo de distribución lobular (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

- *Enterobacter*

El género *Enterobacter* se encuentra distribuido en toda la naturaleza, se sitúa en el aparato gastrointestinal de animales y humanos, aunque también se lo encuentra en el agua plantas, insectos o asociado a productos alimentarios (**Ausina & Moreno, 2006**). Ocasionalmente se lo halla en orina, pus y otros materiales patológicos, siendo capaces de generar infecciones nosocomiales (intrahospitalarias). Las especies de este género son bacilos fermentadores de lactosa, presentan movilidad y cápsula; en la antigüedad se los conocía como *Aerobacter*. Este género presenta dos especies que poseen relevancia clínica: *E. cloacae* y *E. aerogenes* (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

Constituyen una fracción de la flora entérica y se piensa que no origina diarreas, a pesar de que se aisló una cepa de *E. cloacae* en las heces de un bebe que presentaba un síndrome urémico-hemolítico, esta cepa elabora una toxina semejante a Shiga. Se involucran además en infecciones oportunistas que dañan a las vías urinarias y respiratorias; en ciertas circunstancias promueven septicemia y meningitis (**Koneman et al., 2006**).

E. aerogenes ha sido aislado a partir de muestras de sangre, tracto gastrointestinal, respiratorio o urinario en pacientes clínicos. Esta especie está relacionada con infecciones nosocomiales, en el 2003 se la considero como un patógeno importante; especialmente, en las unidades de cuidados intensivos. *E. cloacae* está presente en ambientes acuáticos y terrestres, esta especie es común de la microflora del tracto intestinal de humanos y animales y presenta patogenicidad en plantas e insectos. Esta especie es bien conocida por ser un patógeno asociado a infecciones intrahospitalarias como: bacteriemia, endocarditis, artritis séptica, infecciones de la piel y tejidos blandos, infecciones del tracto respiratorio inferior, tracto urinario e infecciones intraabdominales (**Regli & Pages, 2015**).

- *Hafnia*

La única especie reconocida es *H. alvei*, que se lo halla en heces humanas y animales, aguas residuales, suelo y agua. Es un microorganismo de forma bacilar, anaerobio facultativo, móvil, no fermentador de lactosa (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

H. alvei no forma ácidos cuando utiliza los siguientes hidratos de carbono: lactosa, sacarosa, melibiosa, rafinosa, adonitol, sorbitol, ducitol e inositol. Esta bacteria emite un olor intenso a heces humanas. En casos aislados ha sido posible el aislamiento de este microorganismo a partir de heridas, absesos, esputo, orina y sangre. En la Universidad de Illinois se obtuvo *H. alvei* en cultivo puro desde una herida de tórax, luego de una cirugía (**Koneman et al., 2006**).

Puede desarrollarse en el tracto gastrointestinal y orofaríngeo humano, por mucho tiempo ha sido distinguido como un microorganismo que posee una patogenicidad reducida. Se lo ha incluido como la causa de infecciones en el área pediátrica y en pacientes inmunodeprimidos. Gran parte de los casos son atribuidos a gastroenteritis; aunque, provoca también bacteriemias, infecciones cutáneas, neumonías, meningitis, endocarditis, infecciones urinarias y peritonitis primarias y secundarias (**Redondo et al., 2005**).

- *Serratia*

Serratia es una bacteria patogénica generalmente presente en infecciones nosocomiales, debido a que alrededor del 90% de las bacteriemias que son de carácter primario (sin foco de origen) son contraídas en el hospital. Se desarrolla con menor efectividad en el intestino, posee una mayor afinidad por las vías respiratorias; sin embargo, esta bacteria opta por la colonización ambiental (**Ausina & Moreno, 2006**). Es pleomorfica, tiene forma cocobacilar y bacilar normal, puede desarrollarse en el esputo posterior a la recolección y por el pigmento que se forma puede insinuar hemoptisis (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

Este género, posee la particularidad de producir tres enzimas hidrolíticas: lipasa, gelatinasa y ADNasa, además es resistente a la colistina y cefalotina (**Koneman et al., 2006**).

La especie *S. marcescens* produce un pigmento llamado prodigiosina que se forma óptimamente en cultivos incubados a temperatura ambiente, es de color rosa, rojo o magenta (**Mahon et al., 2015**).

S. marcescens es un saprofito que se encuentra en el agua, el suelo y los alimentos; además, es la única especie que posee interés médico. Existen infecciones causadas por *S. marcescens* que se contraen cada vez con mayor frecuencia por contagio hospitalario. El microorganismo de forma bacilar ha sido vinculado con meningitis, endocarditis, septicemia, peritonitis, infección respiratoria, entre otros padecimientos (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

Proteeae

Esta tribu se encuentra constituida por tres géneros: *Proteus*, *Morganella* y *Providencia*; son residentes intestinales normales, además de ser patógenos oportunistas. Casi todos estos microorganismos poseen la capacidad de generar la enzima ureasa, encargada de hidrolizar la urea en amoníaco y dióxido de carbono (se descartan ciertas cepas de *Providencia*). Todos los miembros de *Proteeae* tienen la cualidad de producir la enzima fenilalanina desaminasa encargada de transformar la fenilalanina en ácido fenilpirúvico, cualidad que las distingue de otras enterobacterias. A excepción de ciertas cepas, estas bacterias presentan las siguientes características:

- Gram negativos, no capsulados, pleomórficos, presentan motilidad,
- Resistentes a KCN;
- Degradan tirosina;
- No fermentan lactosa, dulcitol o malonato;
- No generan las enzimas: arginina o lisina descarboxilasa o beta galactosidasa (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

Constituyen parte de la flora intestinal en hombres y animales, también se los encuentra alrededor de toda la naturaleza, como en el suelo, agua, alimentos contaminados. Se los vincula primordialmente con infecciones urinarias, debido a que estos microorganismos al hidrolizar la urea generan una alcalinización en la orina, con lo que se promueve litiasis; de manera que se obstruyen las vías urinarias (**Bottiglieri & Carvajal, 2016**).

- ***Proteus***

La especie mayormente estudiada dentro de este género es *Proteus mirabilis*. La describió Gustav Hauser en 1885 y la nombró así por el personaje “Proteo” de la obra “La Odisea” de Homero, el cual podía asumir distintas formas a fin de evitar ser capturado (Manos & Belas, 2006).

Proteus se distribuye como saprófito a lo largo de la naturaleza, hallándose en la materia animal en descomposición, en suelos endurecidos, en las heces humanas y animales y frecuentemente en las áreas húmedas de la piel, a las especies de este género se les atribuye infecciones urinarias y sépticas, habitualmente nosocomiales. Al ser cultivados emanan un olor putrefacto particular, calificado como pescado o seminal (Paniker & Ananthanarayan, 2005).

P. mirabilis y *P. vulgaris* son patógenos humanos muy reconocidos, estas especies se han aislado de orina, heridas, infecciones de oídos y bacteriemias. En los túbulos proximales del riñón causan glomerulonefritis aguda, especialmente en pacientes que poseen defectos del tracto urinario o cateterismo (Mahon et al., 2015).

- ***Morganella***

Fue aislada por Morgan en 1906, este género consta solamente de una especie *M. morganii*, misma que se divide en dos subespecies *M. morganii subsp. morganii* y *M. morganii subsp. sibonii*; la división se hizo basándose en la capacidad de fermentación de trehalosa y estudios de hibridación de ADN. *M. morganii* se presenta de manera casi nula en las heces de humanos y animales sanos como perros, ganado vacuno y pollos. Asimismo se ha obtenido a partir de víboras, lobos marinos y focas (Bottiglieri & Carvajal, 2016).

M. morganii produce infecciones en vías urinarias, heridas y también se le atribuyen diarreas. Existen infecciones graves causadas por *M. morganii* que han sido reportadas, como meningitis en un paciente con SIDA y ocurrencia de meningitis y absceso encefálico en un infante de ocho días (Koneman et al., 2006).

- ***Providencia***

Este género se encuentra constituido por cinco especies: *P. alcalifaciens*, *P. stuarti*, *P. rettgeri*, *P. rustigianii* y *P. heimbachae* (O'hara, Brenner, & Miller, 2000).

Estos microorganismos se encuentran en la naturaleza, en fuentes contaminadas como aguas servidas. También ha sido posible obtenerlos a partir del tracto gastrointestinal de humanos, como el caso de *P. stuartii* que causa infecciones intrahospitalarias; en los intestinos de varios animales, cepas de *P. heimbachae* y *P. rustigianii* aisladas de pingüinos (**Bottiglieri & Carvajal, 2016**).

Todas las especies del género son anaerobios facultativos y poseen movilidad gracias a sus flagelos peritricos (**Manos & Belas, 2006**). Todos los miembros de este género desaminan la fenilalanina, pero únicamente *P. rettgeri* hidroliza urea (**Koneman et al., 2006**).

Cepas de *P. stuartii* y *P. rettgeri* se vinculan a infección del tracto urinario en pacientes que presentan catéteres vesicales (**Ausina & Moreno, 2006**), las infecciones causadas por estas especies son difíciles de tratar debido a que presentan resistencia a antimicrobianos, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. *P. alcalifaciens* se ha encontrado generalmente en heces de niños con diarrea; aunque, no se ha comprobado su rol dentro de estas. El aislamiento de *P. rustigianii* ha sido casi nulo y su acción como agente patógeno sigue sin probarse, mientras que *P. heimbachae* ya ha sido aislado a partir de muestras clínicas (**Mahon et al., 2015**).

- *Yersinia*

Dentro del género *Yersinia* se encuentran 14 especies; no obstante, solamente tres de estas presentan patogenicidad en humanos y animales de sangre caliente: *Y. pestis*, *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis* (**Amalfa & Lopardo, 2016**).

Su hábitat se encuentra en ambientes acuáticos y animales, los cerdos son el entorno primordial para las cepas patógenas que se manifiestan en humanos. La vía de acceso en los humanos para este microorganismo, es digestiva oral ocurriendo el proceso infeccioso en el íleon terminal, que se encuentra muy próximo al apéndice (**Koneman et al., 2006**).

Y. pestis es el agente causal de la peste, una afección comúnmente presentada en roedores que se transmite a los humanos por pulgas (**Mahon et al., 2015**); *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis* producen enteritis o adenitis mesentérica, estas afecciones presentan síntomas semejantes a los de la apendicitis (**Ausina & Moreno, 2006**). Las enfermedades provocadas por *Y. pseudotuberculosis* es la

yersiniosis más extraña; además, han existido casos de eritema nodoso, en ocasiones causando epidemias (A García & Rodríguez, 2010).

- *Citrobacter*

Son bacilos móviles que pueden utilizar citrato, capaces de producir H₂S y fermentar lactosa lentamente. *Citrobacter* es un habitante intestinal normal. Ocasiona infecciones del tracto urinario, vesícula biliar, oído medio y meninges (Paniker & Ananthanarayan, 2005).

Citrobacter está compuesto por al menos 11 especies, todas aisladas de muestras clínicas. Existen tres especies que se han logrado aislar con mayor frecuencia: *C. freundii*, *C. koseri* y *C. braakii* (Mahon et al., 2015).

Varias cepas se han obtenido como patógenos oportunistas secundarios, estos microorganismos son los responsables de cuadros ocasionales de meningitis, presentan una alta tasa de abscesos cerebrales y endocarditis en pacientes que se encuentran en hospitalización, algunas cepas pueden poseer un carácter enteropatógeno por lo cual provocan diarreas. Al ser patógenos oportunistas, en grupos de alto riesgo como lactantes y adultos inmunocomprometidos, causan infecciones peligrosas como sepsis, infecciones respiratorias e infección del tracto urinario (Dos Santos et al., 2015).

2.1.4. Pruebas IMVIC

Las bacterias entéricas gramnegativas pueden ser diferenciadas mediante caracterización bioquímica, esto se realiza a través de la prueba IMVIC. Esta prueba se encuentran compuesta por 4 pruebas: producción de indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y utilización de citrato, sus resultados se presentan como positivos (+) o negativos (-) (Dubey & Maheshwari, 2002).

- Prueba del indol

El aminoácido triptófano por acción de ciertas bacterias logra oxidarse para formar tres metabolitos indólicos principales: indol, escatol (metilindol) y ácido indolacético (IAA-indolacetato). Las distintas enzimas intracelulares que participan en este proceso adoptan el nombre global de triptofanasa, lo que sugiere un sistema completo de enzimas asociadas con la producción del indol. Durante la degradación del aminoácido triptófano se forma un intermediario primordial, el ácido

indolpirúvico con el que se forma indol por desaminación y escatol por descarboxilación del IAA (MacFaddin, 2003).

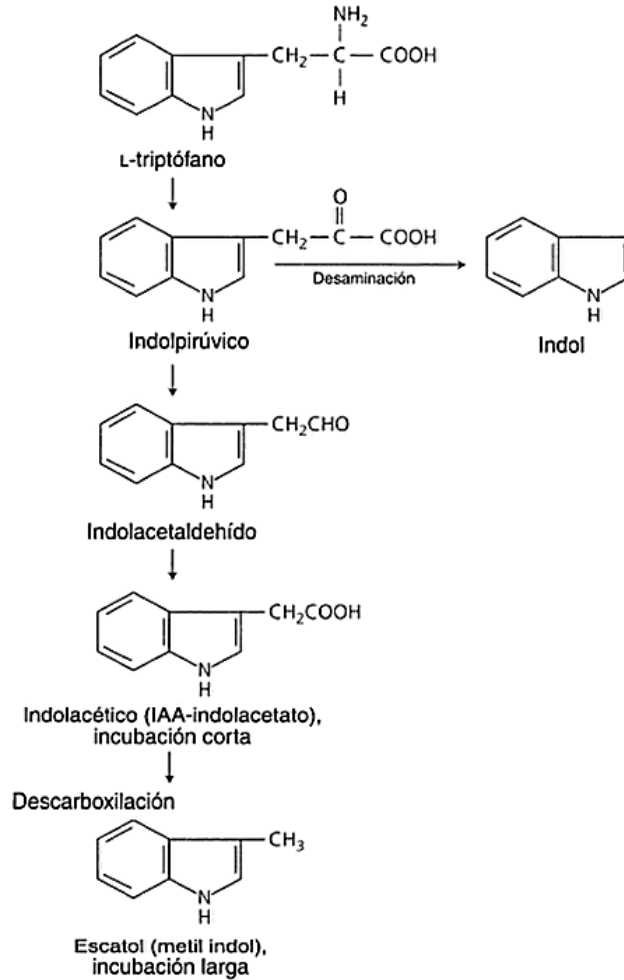


Figura 1. Principales metabolitos indólicos producidos a partir del triptófano in vitro.
Fuente: (MacFaddin, 2003)

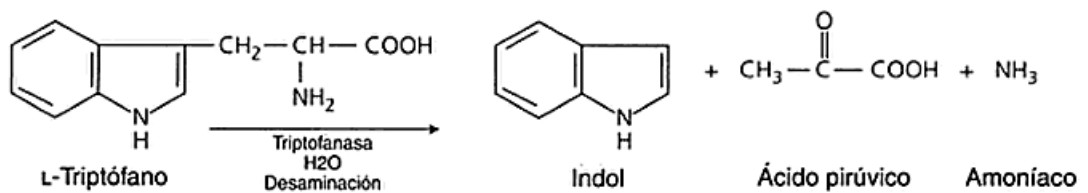


Figura 2. Desaminación del triptófano. La desaminación y la hidrólisis se llevan a cabo con la incorporación de una molécula de agua en presencia de la enzima triptofanasa y el piridoxal fosfato como coenzima.
Fuente: (MacFaddin, 2003)

La degradación del triptófano proporciona como productos indol, energía, ácido pirúvico y amoníaco. El ácido pirúvico se puede metabolizar mediante la glucólisis o en el ciclo de Krebs para obtener CO₂, H₂O y gran cantidad de energía, el amoníaco es posible usar en la síntesis de nuevos aminoácidos valiéndose de la energía desprendida en las reacciones anabólicas (**Bailón, Cruz, & Cervantes, 2003**). La molécula de indol liberado se detecta mediante la incorporación del reactivo de Kovac's que se combina químicamente produciendo un color rojo cereza en la capa superior del caldo de cultivo (**Setty & Sreerishna, 2003**).

- **Prueba del rojo de metilo**

Esta prueba establece si un microorganismo puede originar productos finales ácidos estables a través del proceso de fermentación de la glucosa y con esto exceder la capacidad amortiguadora del buffer en el caldo de cultivo (**Forbes, Sahm, & Weissfeld, 2009**). Esta prueba se fundamenta en la utilización del rojo de metilo como indicador de pH, para definir la cantidad de iones hidrogeno resultantes de la fermentación de glucosa a partir de microorganismos, para que la prueba posea efectividad se precisa incubar el tiempo necesario para que los productos obtenidos mediante el metabolismo de la glucosa logren ser diferenciados (**MacFaddin, 2003**).

El resultado positivo de esta prueba se muestra cuando el caldo de cultivo tiene un pH menor a 4,5 por lo que se torna rojo, esto quiere decir que el microorganismo genera gran cantidad de ácidos orgánicos como productos finales. Caso contrario si el pH del medio se incrementa a un valor de 6 o superior debido a la producción de etanol y acetoína, el caldo tiende a tomar un color amarillo (**Dubey & Maheshwari, 2002**).

Si no deja incubar durante el tiempo necesario (2 a 5 días) se pueden tener resultados positivos falsos, debido a que los microorganismos rojo de metilo negativos no cuentan con el tiempo necesario para metabolizar totalmente los productos ácidos iniciales (**Parija, 2009**).

- **Voges-Proskauer**

Los bacteriólogos alemanes Daniel Wilhelm Otto Voges y Bernhard Proskauer, formularon esta reacción en el Instituto de Enfermedades Infecciosas en el año 1898 (**Vashist, Sharma, & Gupta, 2013**). La reacción de Voges-Proskauer posee su

fundamento en la detección de acetoina, que se obtiene a partir de la degradación de glucosa en bacterias. La familia Enterobacteriaceae se divide en dos grupos, fermentadoras de ácidos mixtos y fermentadores del 2,3-butanodiol (**MacFaddin, 2003**).

Ciertos microorganismos logran fermentar la glucosa y producir acetoina (acetil metil carbinol) que es precursor en la formación de 2,3-butanodiol. La acetoina se distingue mediante una extracción con α -naftol, seguida de una oxidación a diacetilo por intervención del hidróxido de potasio (KOH) y el oxígeno que se encuentra en la atmósfera (**Rodríguez, Gamboa, Hernández, & García, 2005**).

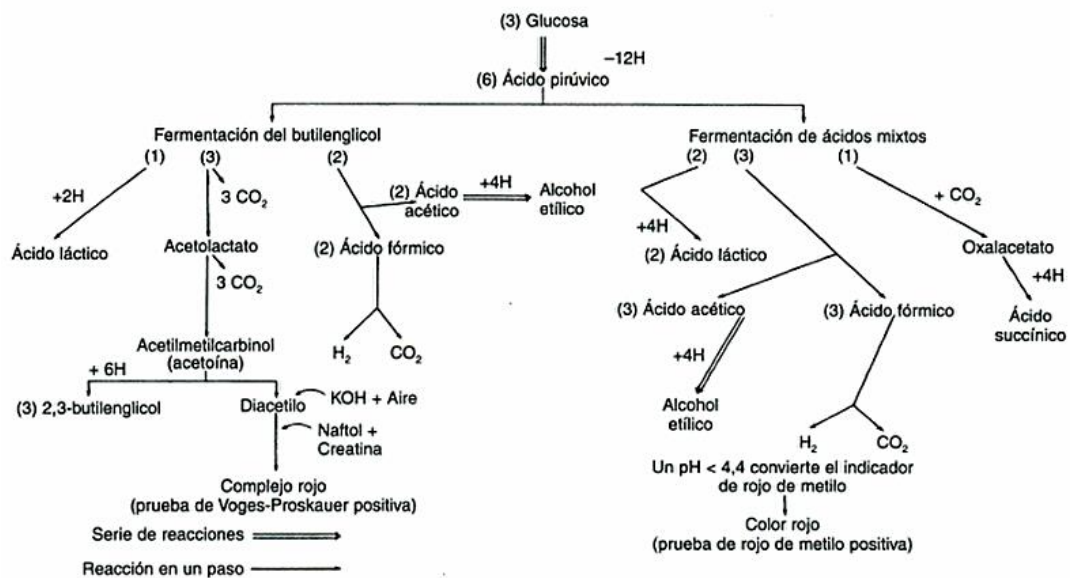
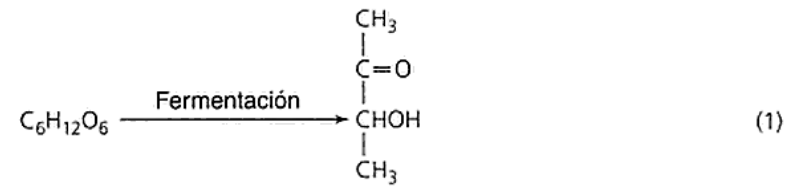
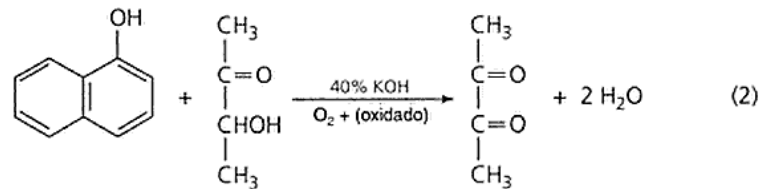


Figura 3. Vías de ácidos mixtos y butilenglicol de fermentación de la glucosa.
Fuente: (Koneman et al., 2006)

La reacción de Voges-Proskauer tiene su fundamento en que el núcleo de guanidina que se encuentra en la peptona del medio reacciona con el diacetilo para proporcionar un color rosa. Algo del 2,3-butanodiol puede oxidarse a acetoina y es por esto que en la fase que se encuentra expuesta al aire la formación de color es más notoria (**Parés & Juárez, 2002**).



Glucosa Acetoína
(acetilmetilcarbinol, AMC)



α -Naftol (catalizador) Acetoína Diacetilo



Diacetilo (sustrato) Núcleos de guanidina presentes en la peptona (arginina: NH:C(NH₂) -NH-(CH₂)₃ -CH(NH₂)COOH)

Figura 4. Reacción de Voges-Proskauer.
Fuente: (MacFaddin, 2003)

- Citrato

Esta prueba se usa para distinguir aquellos microorganismos que poseen la capacidad de emplear citrato como única fuente de carbono y sales inorgánicas de amonio como única fuente de nitrógeno (Forbes et al., 2009).

La utilización de citrato depende de la existencia de la enzima citrato permeasa producida por el microorganismo, esta enzima ayuda al transporte del citrato hacia el interior de la célula. El azul de bromotimol se utiliza como indicador (verde a pH neutro y azul a pH mayor a 7.6); cuando el citrato de sodio se metaboliza, se genera dióxido de carbono que se combina con sodio y agua para formar carbonato sódico que es un producto alcalino responsable del cambio de color del indicador de verde a azul siendo esto una prueba positiva (Garg, Garg, & Mukerji, 2010; Vashist et al., 2013).

Los microorganismos obtienen el nitrógeno a partir de las sales de amonio (fosfato de amonio) generando así amoníaco (NH₃) ocasionado un incremento en la alcalinidad del medio (Garg et al., 2010).

Tabla 1

Características claves de identificación para las enterobacterias más frecuentes

Categoría taxonómica			Prueba bioquímica			
Tribu	Género	Especie	Indol	Rojo de metilo	Voges-Proskauer	Citrato
<i>Escherichieae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	+	+	-	-
	<i>Shigella</i>	<i>A, B, C</i>	-/+	+	-	-
		<i>S. sonnei</i>	-	+	-	-
<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i>	+	+	-	-
<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>		-	+	-	+
<i>Citrobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i>	-	+	-	+
		<i>C. koseri</i>	+	+	-	+
<i>Klebsiellae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	+	+
		<i>K. oxytoca</i>	+	-	+	+
	<i>Enterobacter</i>	<i>E. aerogenes</i>	-	-	+	+
		<i>E. cloacae</i>	-	-	+	+
		<i>Hafnia</i>	<i>H. alvei</i>	-	-/+	+
	<i>Pantoea</i>	<i>P. agglomerans</i>	-/+	-/+	+/-	+/-
	<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i>	-	-/+	+	+
<i>Proteeae</i>	<i>Proteus</i>	<i>P. vulgaris</i>	+	+	-	-/+
		<i>P. mirabilis</i>	-	+	+/-	+/-
	<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>	+	+	-	-
		<i>P. rettgeri</i>	+	+	-	+
	<i>Providencia</i>	<i>P. stuartii</i>	+	+	-	+
	<i>P. alcalifaciens</i>	+	+	-	+	
<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	+/-	+	-	-

Fuente: (Koneman et al., 2006)

2.1.5. Método turbidimétrico

Este método se emplea para medir la turbidez de un medio líquido inoculado apropiadamente con un microorganismo dado. La fundamentación del método se da por la relación que existe entre la turbidez y el cambio en la concentración microbiana. Se puede utilizar el método cuando se necesita enumerar un gran cantidad de microorganismos o cuando se quiere determinar el tamaño de inóculo de una suspensión bacteriana específica. El método es aplicable en las siguientes áreas: ensayos de susceptibilidad antimicrobianos, de conservación y biocida en bacterias y hongos; crecimiento de microorganismos, efectos de sustancias químicas y control en la producción biológica (Goldman & Green, 2015).

El método más utilizado para estimar la concentración microbiana es el de los estándares de turbidez de McFarland, estos se preparan combinando volúmenes específicos de solución de cloruro de bario al 1,175% con solución de ácido sulfúrico al 1%, formándose sulfato de bario que se muestra como un precipitado blanco. Las mediciones para conteo microbiano, frecuentemente se realizan a una longitud de onda de 600 nanómetros (Heritage, Evans, & Killington, 1996).

Tabla 2
Estándares McFarland

Estándar McFarland	Cloruro de Bario al 1,175% (ml)	Ácido sulfúrico al 1% (ml)	Concentración bacteriana (UFC/ml)
1	0,1	9,9	$3 \cdot 10^8$
2	0,2	9,8	$6 \cdot 10^8$
3	0,3	9,7	$9 \cdot 10^8$
4	0,4	9,6	$12 \cdot 10^8$
5	0,5	9,5	$15 \cdot 10^8$
6	0,6	9,4	$18 \cdot 10^8$
7	0,7	9,3	$21 \cdot 10^8$
8	0,8	9,2	$24 \cdot 10^8$
9	0,9	9,1	$27 \cdot 10^8$
10	1,0	9,0	$30 \cdot 10^8$

Fuente: (Perilla et al., 2004)

2.2. Hipótesis

2.2.1. Concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga en la zona de desechos comunes y la zona de desechos hospitalarios.

Hipótesis Nula

La concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga no es alterada por los días de la semana y las horas del día.

Hipótesis alternativa

La concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga es alterada por los días de la semana y las horas del día.

2.2.2. Patogenicidad bacteriana en los bioaerosoles asociados en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga.

Hipótesis Nula

Los bioaerosoles no poseen bacterias patógenas causantes de enfermedades gastrointestinales.

Hipótesis alternativa

Los bioaerosoles poseen bacterias patógenas causantes de enfermedades gastrointestinales.

2.3. Señalamiento de las variables de la hipótesis

2.3.1. Concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga en la zona de desechos comunes y la zona de desechos hospitalarios.

- Muestreo de aire en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga.
- Cuantificación de microorganismos.

2.3.2. Patogenicidad bacteriana en los bioaerosoles asociados en el sitio disposición final del Cantón Latacunga.

- Aislamiento y purificación de bacterias, provenientes de muestras de aire del sitio de disposición final del Cantón Latacunga.
- Análisis de pruebas bioquímicas IMVIC.

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Tabla 3

Materiales utilizados

RECURSO	UNIDAD	CANTIDAD
Matraces de tapa azul 250ml	unidad	12,0
Jeringuillas estériles 20cc	unidad	48,0
Mascarillas 3M	unidad	2,0
Marcador permanente	unidad	2,0
Agua destilada	galón	10,0
Guantes	caja	2,0
Papel aluminio	Rollo	1,0
Cooler	unidad	2,0
Papel absorbente "teresitas"	Rollo	1,0
Botellas de tapa azul 500 ml	unidad	4,0
Cajas Petri	unidad	250,0
Asa en punta	unidad	1,0
Asa de ojal	unidad	1,0
Asa de digralsky	unidad	1,0
Palillos estériles	unidad	250,0
Puntas para micropipetas de 1ml	caja	1,0
Puntas para micropipetas de 500 μ l	caja	1,0
Micropipeta	unidad	2,0
Tubos de dilucion	unidad	450,0
Porta objetos	unidad	100,0
Mechero de alcohol	unidad	2,0

Tabla 4
Reactivos utilizados

REACTIVOS
Antibiótico Ceftriaxona
Ácido Sulfúrico
Ácido Clorhídrico
Cloruro de Bario
Para Dimetil Amino benzaldehído
Alfa naftol
Rojo de metilo
Alcohol Industrial
Medios de cultivo BHI frasco 500 gramos
Medio de cultivo Mac Conkey Agar
Medio de cultivo Tripteina soya agar
Medio de cultivo Sabouraud Glucosa 4% Agar
Medio de cultivo Extracto malta Agar
Cristal violeta
Lugol
Safranina

3.2. Métodos

3.2.1. Trabajo de campo

El sitio de disposición final posee una extensión de 10 hectáreas que consta de dos secciones desechos comunes y desechos hospitalarios.



Figura 5. Croquis del sitio de disposición final de la empresa pública de aseo y gestión ambiental del cantón Latacunga (EPAGAL). Punto 1: Desechos Comunes; Punto 2: Desechos Hospitalarios.

En las instalaciones del botadero de basura se tomaron 48 muestras de aire 2 muestreos por día durante 30 días, 15 días en la zona de desechos comunes y 15 días en la zona de desechos hospitalarios, cada medición consistió de 50 aspiraciones, mismas que se realizaron en 5 puntos diferentes. Para desechos comunes se tomó una distancia de 100 metros (m) entre punto y punto y desechos hospitalarios a una distancia de 10 m entre punto y punto (Figura1).

3.2.1.1. Toma de muestra

- a) El proceso de muestreo se realizó con toda la asepsia posible, se utilizaron trajes de seguridad biológica azules utilizados por médicos principalmente en intervenciones quirúrgicas, acompañados de botas de caucho con planta adecuada para evitar objetos corto punzantes, guantes, mascarilla y cofia, para así evitar la contaminación o enfermedad de los investigadores durante el muestreo (ver anexo 4).
- b) El objeto de estudio dentro de esta investigación fue el aire y para eso se necesitó de jeringuillas de 20 centímetros cúbicos estériles por cada toma de muestra y zona de estudio, realizando 50 aspiraciones de aire en cada zona determinada en el muestreo. Las aspiraciones fueron depositadas en matraces

de vidrio que contenían caldo de cultivo Infusión Cerebro-Corazón con sus siglas en inglés BHI (Brain Heart Infusion).

- c) Los matraces donde se recolectó la muestra se encontraban sellados con papel aluminio y fueron abiertos únicamente para depositar las aspiraciones realizadas con las jeringuillas, el aire fue soltado dentro del matraz evitando que la jeringuilla tope el caldo de cultivo o se sumerja en el mismo. Cada 10 aspiraciones se agitó el medio para que exista interacción del aire con el medio de cultivo.
- d) Los matraces se transportaron para ser almacenados e incubados a 37 °C durante 48 horas permitiendo el crecimiento de microorganismos fácilmente observables por la presencia de turbidez del caldo de cultivo.

3.3. Trabajo de laboratorio

3.3.1. Presencia de bacterias

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de 48 horas de los matraces erlenmeyer que contenían las aspiraciones en caldo BHI se procedió al aislamiento bacteriano, se realizaron diluciones en caldo peptona al 1%, de la dilución 10^{-2} se tomó con puntas estériles y la ayuda de una micro pipeta la cantidad de 100 μ l que fueron colocados en placas Petri que contendrán medio de cultivo sólido MacConkey Agar y Tripteina Soya Agar (TSA) para cada uno de los días, zonas y horas de muestreo, realizando difusión en placa, posteriormente se llevó las placas a incubación durante 48 horas a 37 °C.

Después del tiempo de incubación se evaluaron ambos medios de cultivo, en el caso MacConkey la presencia de bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, dichas bacterias fueron aisladas en placas tetra-Petri estériles que contenían el mismo medio de cultivo del que procedían usando la técnica de estría simple, dichas placas fueron llevadas a incubación por el tiempo de 48 horas a 37 °C, posterior a este tiempo se compró visualmente la no presencia de contaminación bacteriana, posteriormente se procedió a almacenarlas hasta el momento de realizar las pruebas IMVIC.

En el caso de TSA no se observa un cambio de coloración del medio debido al crecimiento microbiano y al ser un medio menos selectivo el crecimiento de la colonia es mayor. Se realizó la técnica de estría simple de las colonias seleccionadas

en placas tetra-Petri que contenían el mismo medio (TSA) y fueron incubadas a 37 °C por 48 horas y luego almacenadas hasta realizar pruebas IMVIC.

3.3.2. Presencia de fungí

- a) Una vez incubados los matraces se realizaron diluciones en caldo peptona al 1%, de la dilución 10^{-2} se tomó con puntas estériles y la ayuda de una micro pipeta la cantidad de 100 μ l en medio Sabouraud glucosa al 4% (SAB) y Extracto Malta Agar (EMA) que contenían antibiótico sulfato de estreptomina evitando así la contaminación bacteriana utilizando la técnica de difusión en placa. Se inoculó dichas diluciones en cajas Petri con medio sólido, tomando en cuenta el día, zona y hora de muestreo haciendo dicho aislamiento por duplicado, dichas cajas se incubaron por un tiempo de 3 días a 28 °C.
- b) Una vez obtenido el crecimiento micótico en las placas Petri se procedió a aislarlos según el medio de cultivo del que procedían en nuevas placas tetra-Petri; se tomó una muestra representativa de colonias aisladas y se transportó a placas estériles, sin antibiótico para incubarlas por tres días a 28 °C para ser posteriormente evaluadas.

3.3.3. Cantidad de microorganismos (turbiedad)

- a) El recuento de microorganismos viables se efectuó mediante el método de turbiedad para lo cual a una longitud de onda de 600 nm se realizó la curva McFarland por triplicado y se calculó la estimación lineal.
En la elaboración de la curva McFarland se utilizó como estándares diferentes volúmenes de ácido sulfúrico al 1% y cloruro de bario al 1,175% (Tabla 2).
- b) Mediante el espectrofotómetro DR 5000 UV-Vis se midió la turbiedad de los 48 muestreos aerobiológicos realizados en el vertedero del Cantón Latacunga empleando las diluciones 10^{-1} y a una longitud de onda de 600 nm., obteniendo el número de células por mililitro de cada muestreo correspondiente a desechos comunes y desechos hospitalarios.

3.3.4. Pruebas bioquímicas

Los microorganismos aislados se sometieron a pruebas bioquímicas para determinar su capacidad enzimática y poder identificarlas bibliográficamente como patogénicas

o no. Se emplearon las 4 pruebas más utilizadas y representadas como positivas (+) y negativas (-) (Tabla A1).

3.3.4.1. Del Indol

Cada una de las bacterias aisladas fueron inoculadas en un tubo de ensayo que contenía 5 mililitros (ml) de caldo de peptona, cada tubo se incubó durante 48 horas a 37 °C una vez terminada la incubación se añadió a cada tubo 3 gotas del reactivo de Kovac´s identificando la formación del anillo de color rojo oscuro (+) y en su defecto formación de color amarillo (-).

3.3.4.2. Rojo de metilo

Se esterilizó tubos de ensayo con 5 ml de medio de cultivo líquido RM-VP (Rojo de Metilo y Voges-Proskauer), los cuales posteriormente fueron inoculados con las bacterias aisladas, los tubos fueron llevados a incubación durante 48 horas a 37 °C, luego del tiempo de incubación se le agregó 3 gotas de solución de rojo de metilo al 0.2%, un resultado positivo (+) se mostró si el caldo de cultivo se torna rojo, de lo contrario para un resultado negativo (-) el caldo toma un color amarillo.

3.3.4.3. Voges-Proskauer

Se utilizaron tubos de ensayo con medio de cultivo RM-VP posteriormente fueron inoculados con las colonias bacterianas aisladas e incubados a 37 °C durante 48 horas, una vez concluido el tiempo de incubación se agregó 2 gotas de solución de hidróxido de potasio al 40% y 3 gotas de α -naftol al 6% se los agitó y se dejó reposar durante 5 minutos, luego de esto se evaluó la formación de un anillo rojizo la cual se tomó como resultado positivo (+).

3.3.4.4. Citrato de Simmons

Para la prueba de utilización de citrato se emplearon tubos microbiológicos de tapa rosca en los cuales se esterilizó medio de cultivo sólido Simmons Citrate, se dejó enfriar en posición inclinada. Una vez obtenido el agar inclinado se realizaron estrías de todas las bacterias, estos tubos se incubaron durante 48 horas a 37 °C, una vez transcurrido dicho tiempo se evaluó el cambio de coloración del indicador azul de bromotimol del medio de verde a azul siendo esto un resultado positivo (+).

3.4. Diseño experimental

En la presente investigación se analizó la interacción de dos factores que inciden directamente en la cantidad de bioaerosoles presentes en el sitio de disposición final correspondiente a EPAGAL, siendo el factor A: días de muestreo; factor B: horas de muestreo. La toma de muestras se realizó durante cuatro semanas de lunes a sábado distribuido de la siguiente manera: dos semanas para desechos comunes y dos semanas para desechos hospitalarios, teniendo una tabla de ANOVA para cada una de las semanas, en cada uno de los muestreos se tomaron datos de temperatura y humedad relativa (HR) del ambiente. Los elementos del diseño experimental utilizado se representan en la tabla N°5.

Tabla 5

Diseño factorial de múltiples niveles

Niveles factor A	6	Réplicas:	2
Niveles factor B	2	Total de corridas	24
Corridas base:	12	Total de bloques	1
Bloques base:	1		

Tabla 6

Modelo lineal general: UFC/ml vs. Días; Hora

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Días	Fijo	6	Lunes
			Martes
			Miércoles
			Jueves
			Viernes
Hora	Fijo	2	10:00
			14:00

Los resultados de los 48 muestreos realizados se analizaron en el programa estadístico Minitab que permitió analizar las interacciones entre los factores seleccionados y determinar que la interacción de los mismos aportó a una mayor cantidad de bioaerosoles en el sitio de disposición final administrado por EPAGAL.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis y discusión de los resultados

4.1.1. Crecimiento microbiano

Posterior a las aspiraciones del aire asociado al botadero de basura, los microorganismos fueron recuperados en caldo de cultivo BHI, observándose un crecimiento microbiano notorio, el medio de cultivo que originalmente era traslucido con una coloración ámbar en tonalidad transparente brillante, tras las 48 horas de incubación se tornó turbio; además, en ciertos matraces se presenció la acumulación de microorganismos en la superficie del medio (Figura 6).



Figura 6. izquierda, matraz con medio de cultivo BHI tras 48 horas de incubación, derecha, matraz con medio de cultivo BHI inocuo.

A las 48 horas de incubación en cajas Petri con medios TSA, McConkey, Sabouraud Agar y Extracto Malta Agar se observó que los medios de cultivo destinados al crecimiento micótico (Sabouraud Agar y Extracto Malta) no presentaron desarrollo de colonias a diferencia de lo reportado por **Andache y Castillo (2016)** que obtuvieron un hongo de la especie *Trichoderma*. Respecto a los medios de cultivo específicos para bacterias (TSA y McConkey) se apreció un crecimiento muy diverso tanto en tamaño, color, forma y transparencia de las colonias.

4.1.2. Cantidad de microorganismos (turbiedad)

La curva de calibración McFarland (Figura 7) se realizó mediante estimación lineal de las absorbancias a 600 nm y la concentración de microorganismos (UFC/ml) por precipitación del sulfato de bario. Se obtuvo la ecuación de regresión lineal con la cual se estimó la concentración microbiana y un coeficiente de determinación de 99,4% que indica el grado de relación lineal que existe entre la concentración de microorganismos y la absorbancia a 600 nm.

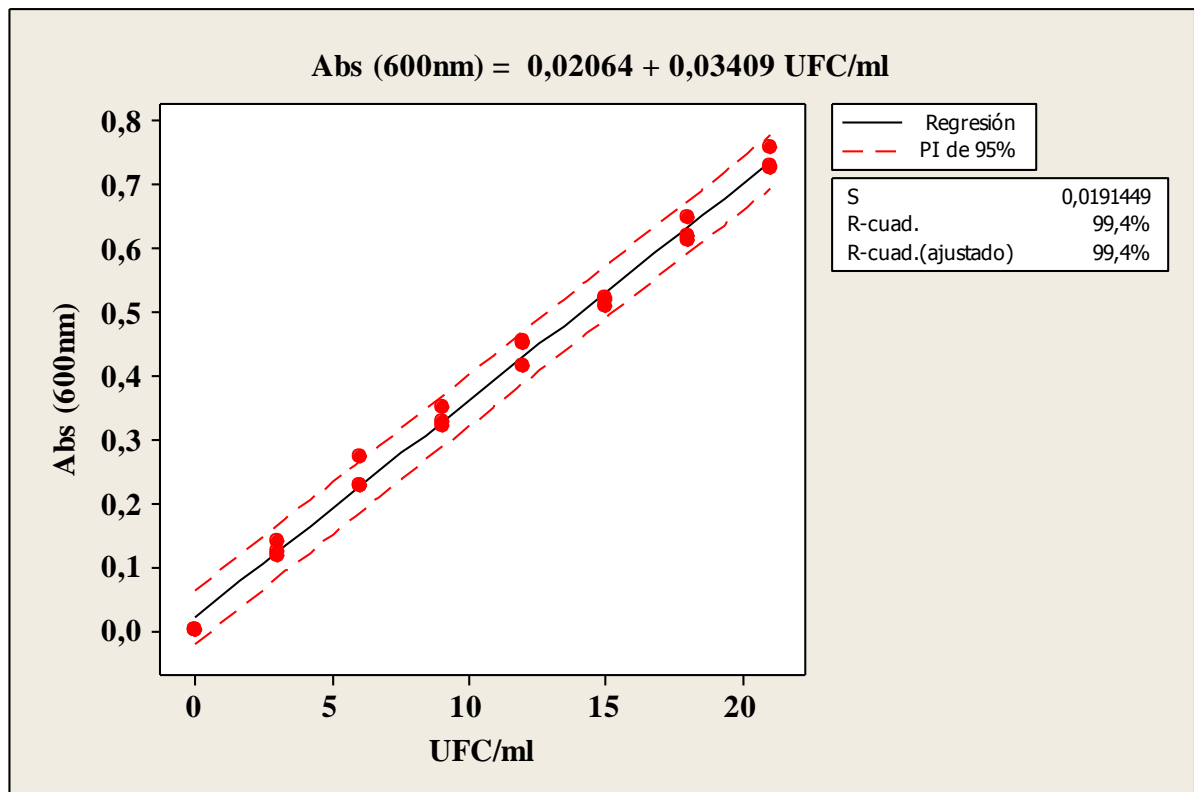


Figura 7. Curva de calibración McFarland

4.1.2.1. Zona de desechos comunes

A continuación se presentan las concentraciones de bioaerosoles correspondientes a cada uno de los 24 muestreos realizados (Tabla 7).

Tabla 7*Concentración de bioaerosoles asociados a desechos comunes*

Días	Hora	Abs 600 nm	FD	(UFC/mL)*10 ⁸
Lunes	10:00	0,075	10	15,946
	14:00	0,021	10	0,106
Martes	10:00	0,119	10	28,853
	14:00	0,034	10	3,919
Miércoles	10:00	0,029	10	2,452
	14:00	0,021	10	0,106
Jueves	10:00	0,055	10	10,079
	14:00	0,021	10	0,106
Viernes	10:00	0,188	10	49,094
	14:00	0,362	10	100,135
Sábado	10:00	0,179	10	46,454
	14:00	0,086	10	19,173
Lunes	10:00	0,060	10	11,546
	14:00	0,047	10	7,732
Martes	10:00	0,201	10	52,907
	14:00	0,052	10	9,199
Miércoles	10:00	0,086	10	19,173
	14:00	0,173	10	44,693
Jueves	10:00	0,127	10	31,200
	14:00	0,044	10	6,852
Viernes	10:00	0,153	10	38,827
	14:00	0,059	10	11,253
Sábado	10:00	0,083	10	18,293
	14:00	0,251	10	67,574

Los resultados muestran que el quinto día (viernes 22 de julio) de muestreo en la zona de desechos comunes a las 14:00 horas existe la mayor concentración de microorganismos $1,00135 \cdot 10^{10}$ UFC/ml, lo cual se atribuye a que este día se lleva a cabo las ferias en las plazas y mercados de la ciudad de Latacunga, incrementando la

cantidad de basura recolectada; mientras que el valor mínimo fue de $1,06 \cdot 10^7$ UFC/ml los días lunes 18, miércoles 20 y jueves 21 de julio a las 14:00 horas.

En la Tabla 8 presentan las condiciones climáticas referentes a: temperatura y humedad relativa, a la hora de la toma de muestras.

Tabla 8

Condiciones climáticas en la toma de muestras de los desechos comunes

Fecha	Día	Hora	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)
18-jul	Lunes	10:00	15	68
		14:00	17	59
19-jul	Martes	10:00	13	88
		14:00	17	64
20-jul	Miércoles	10:00	12	100
		14:00	13	100
21-jul	Jueves	10:00	13	94
		14:00	14	82
22-jul	Viernes	10:00	12	88
		14:00	16	63
23-jul	Sábado	10:00	15	72
		14:00	18	60
01-ago	Lunes	10:00	13	82
		14:00	17	59
02-ago	Martes	10:00	13	100
		14:00	15	68
03-ago	Miércoles	10:00	15	77
		14:00	17	64
04-ago	Jueves	10:00	14	88
		14:00	19	52
05-ago	Viernes	10:00	16	68
		14:00	19	49
06-ago	Sábado	10:00	20	49
		14:00	22	47

Con lo mencionado anteriormente, las condiciones climáticas el día de mayor concentración fueron 16 °C y 63% de HR y para los días de menor concentración 17 °C, 13 °C y 14 °C de temperatura y 59%, 100% y 82% de HR, respectivamente.

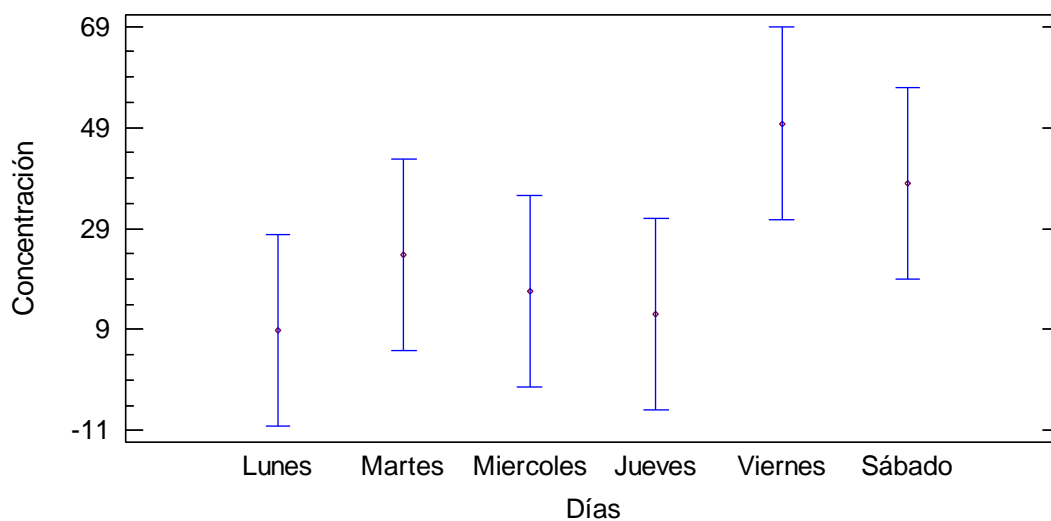


Figura 8. Medias de concentraciones de los días, zona de desechos comunes.

La Figura 8 presenta los promedios de las concentraciones de bioaerosoles correspondientes a cada uno de los días de muestreo en la zona de desechos comunes. El mayor promedio corresponde al día viernes, no existiendo diferencia significativa entre los días.

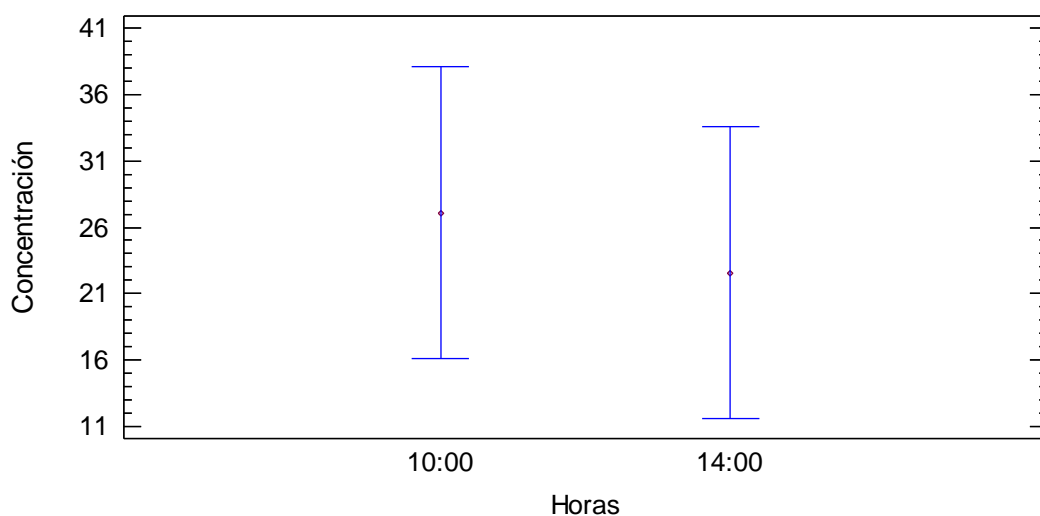


Figura 9. Medias de concentraciones de las horas, zona de desechos comunes.

La Figura 9 presenta los promedios de las concentraciones de bioaerosoles correspondientes a las horas de muestreo en la zona de desechos comunes. El mayor promedio corresponde a las 10:00 horas, no existiendo diferencia significativa entre horas.

4.1.2.2. Zona de desechos hospitalarios

La Tabla 9 muestra las concentraciones de bioaerosoles de cada uno de los 24 muestreos realizados en la zona de desechos hospitalarios.

Tabla 9

Concentración de bioaerosoles asociados a desechos hospitalarios

Días	Hora	Abs 600nm	FD	(UFC/mL)*10 ⁸
Lunes	10:00	0,022	10	0,399
	14:00	0,036	10	4,506
Martes	10:00	0,043	10	6,559
	14:00	0,029	10	2,452
Miércoles	10:00	0,030	10	2,746
	14:00	0,168	10	43,227
Jueves	10:00	0,065	10	13,013
	14:00	0,152	10	38,533
Viernes	10:00	0,037	10	4,799
	14:00	0,256	10	69,041
Sábado	10:00	0,021	10	0,106
	14:00	0,056	10	10,373
Lunes	10:00	0,022	10	0,399
	14:00	0,071	10	14,773
Martes	10:00	0,040	10	5,679
	14:00	0,028	10	2,159
Miércoles	10:00	0,199	10	52,320
	14:00	0,104	10	24,453
Jueves	10:00	0,216	10	57,307
	14:00	0,088	10	19,759
Viernes	10:00	0,153	10	38,827
	14:00	0,041	10	5,972
Sábado	10:00	0,023	10	0,692
	14:00	0,097	10	22,400

La máxima concentración de microorganismos se presentó el quinto día de muestreo (viernes 29 de julio) en la zona de desechos hospitalarios a las 14:00 horas y fue de $6,9041 \times 10^9$ UFC/ml, esta alta concentración puede atribuirse a que los días viernes EPAGAL extiende un recorrido exclusivo para la recolección de desechos sanitarios-hospitalarios a las florícolas y el sector industrial del cantón Latacunga.

Al contrario la concentración más baja fue el sábado 30 de julio a las 10:00 horas con un valor de $1,06 \times 10^7$ UFC/ml.

La Tabla 10 muestra las condiciones climáticas, temperatura y humedad relativa, a las que se llevó a cabo cada uno de los muestreos realizados.

Tabla 10

Condiciones climáticas en la toma de muestras de los desechos hospitalarios

Fecha	Día	Hora	Temperatura °C	Humedad Relativa
25-jul	Lunes	10:00	14	82
		14:00	13	100
26-jul	Martes	10:00	13	100
		14:00	20	40
27-jul	Miércoles	10:00	13	100
		14:00	16	68
28-jul	Jueves	10:00	14	94
		14:00	17	52
29-jul	Viernes	10:00	14	94
		14:00	16	63
30-jul	Sábado	10:00	13	94
		14:00	17	64
08-ago	Lunes	10:00	12	100
		14:00	17	68
09-ago	Martes	10:00	14	88
		14:00	18	56
10-ago	Miércoles	10:00	14	82
		14:00	19	52
11-ago	Jueves	10:00	14	82
		14:00	17	68
19-ago	viernes	10:00	16	72
		14:00	17	64
20-ago	Sábado	10:00	15	63
		14:00	16	55

Las condiciones climáticas para los días mencionados anteriormente fueron de 16 °C y 63% de HR y 13 °C y 94%, respectivamente.

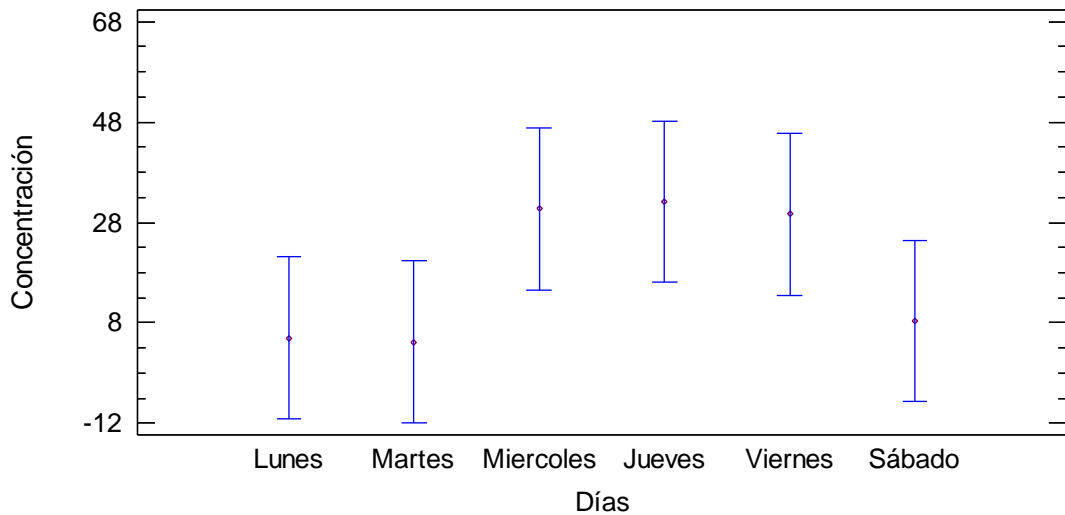


Figura 10. Medias de concentraciones de los días, zona de desechos hospitalarios.

La Figura 10 presenta los promedios de las concentraciones de bioaerosoles de cada uno de los días de muestreo en la zona de desechos hospitalarios. Los promedios mayores corresponden a los días miércoles, jueves y viernes, no existiendo diferencia significativa entre días.

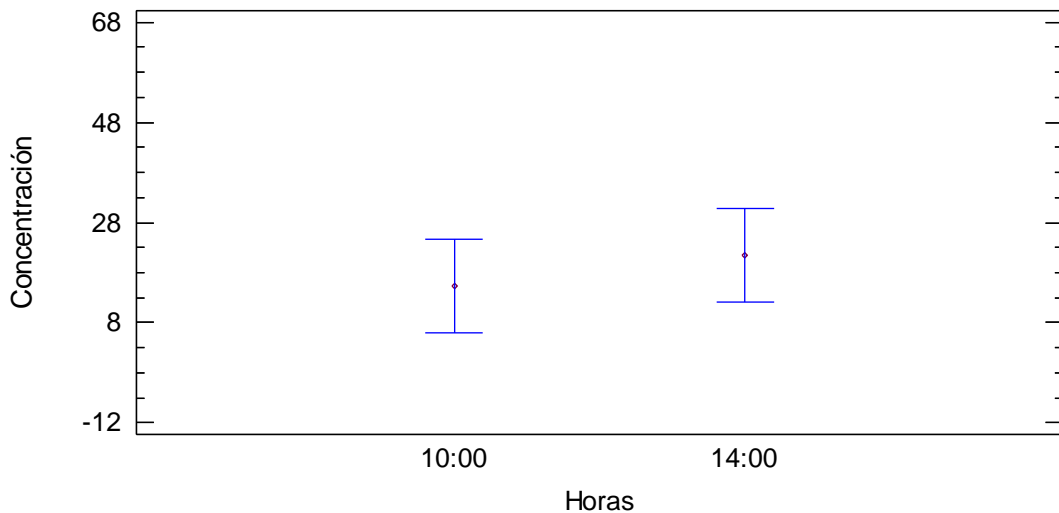


Figura 11. Medias de concentraciones de las horas, zona de desechos hospitalarios.

La Figura 11 presenta los promedios de las concentraciones de bioaerosoles de las horas a las que se realizó los muestreos en la zona de desechos hospitalarios. El mayor promedio corresponde a las 14:00 horas, no existiendo diferencia significativa entre horas.

En base a los resultados obtenidos podemos indicar que, la densidad microbiana en las dos zonas de desechos: comunes y hospitalarios, se ve influenciada por el tipo de desechos, ya que en la zona de desechos comunes al existir una elevada cantidad de residuos orgánicos existe una mayor fuente de nutrientes, por lo que existe una mayor colonización de microorganismos como lo manifiestan **Sánchez et al. (2006)**. Además existe influencia de las condiciones meteorológicas; al tratarse de microorganismos mesófilos el factor más relevante en su desarrollo es la temperatura. **Negrón (2009)** menciona que los microorganismos mesófilos crecen a temperaturas entre 25 y 40 °C, siendo su temperatura óptima los 37 °C, lo cual se pudo confirmar con los resultados de esta investigación dado que mientras la temperatura ambiente se acercaba al rango de temperatura óptimo de crecimiento, se incrementó la concentración de microorganismos en el aire. En relación a la humedad relativa, se determinó que a medida que esta incrementa la concentración microbiana decrece. Coincidimos con **Maier, Pepper, & Gerba (2009)** cuando afirman que gran parte de bacterias gramnegativas vinculadas a aerosoles, conforme la humedad relativa se aproxima al 100% el índice de mortalidad crece, sobreviviendo por más tiempo cuando se encuentran a niveles bajos o medios de humedad relativa y esta supervivencia disminuye progresivamente con niveles superiores al 80%.

Al comparar los resultados de esta investigación con un estudio similar realizado en el relleno sanitario de la ciudad de Ambato por **Andache & Castillo (2016)** los mismos nos muestran que las concentraciones microbianas para este sector se encuentran entre $1,529 \cdot 10^{13}$ y $2,3 \cdot 10^{11}$ UFC/ml para desechos comunes y $1,76 \cdot 10^{13}$ y $2,3 \cdot 10^{11}$ UFC/ml para desechos hospitalarios. Por el contrario para el botadero de la ciudad de Latacunga estuvieron entre $1,00135 \cdot 10^{10}$ y $1,06 \cdot 10^7$ UFC/ml para desechos comunes y $6,9041 \cdot 10^9$ y $1,06 \cdot 10^7$ UFC/ml para desechos hospitalarios. Lo cual demuestra que en el botadero de la ciudad de Latacunga existe menor concentración de microorganismo en el aire que en el relleno sanitario de la ciudad de Ambato; resultados que se deben principalmente a la diferencia en la cantidad de basura que producen estas dos ciudades. Latacunga produce diariamente 80 toneladas mientras que Ambato 300 toneladas aproximadamente ("**El reto, mancomunar el tratamiento de basura,**" 16 de julio de 2016).

4.1.3. Pruebas IMVIC

Durante los muestreos realizados en las dos secciones del botadero del cantón Latacunga: sección de desechos comunes y de desechos hospitalarios, se aislaron un total de 91 bacterias (Anexo 1); dichas bacterias fueron aisladas en base a diferencias morfológicas de las colonias como: forma, elevación, borde, superficie y pigmentación. Del total de bacterias encontradas en el aire, mediante la aplicación de pruebas IMVIC se identificaron 6 especies y 3 géneros de microorganismos con características patógenas pertenecientes a la familia de las Enterobacterias de las cuales el 30,77% pertenecen a *Shigella sonnei*, 18,68% *Proteus mirabilis*, 3,30% *Escherichia coli*, 23,08% correspondiente a *Salmonella* o *Citrobacter freundii*, 4,40% a *Klebsiella pneumoniae* o *Enterobacter*, 3,30% *Citrobacter koseri* o *Providencia* y 16,48% no se pudo definir debido a que no presentaron resultados comparables bibliográficamente. No se pudo definir claramente ciertos grupos de enterobacterias debido a que presentan los mismos resultados en las pruebas IMVIC.

Al comparar las especies encontradas en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga con otros estudios semejantes podemos indicar que se encontró similitud en las especies: *Enterobacter*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* con un estudio realizado en Aguascalientes, México por **Flores et al. (2007)**, *Escherichia coli* en Uyo, Nigeria trabajo realizado por **Ambrose et al. (2015)**, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Enterobacter* y *Klebsiella* con un vertedero de residuos sólidos en Machnac, Polonia por **Kaźmierczuk y Bojanowicz (2014)** y *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Citrobacter koseri* en un estudio realizado en Ambato, Ecuador por **Anchache y Castillo (2016)**.

4.1.4. Análisis estadístico

Estadísticamente se evaluaron las concentraciones de bioaerosoles de cada una de las zonas de muestreo mediante un diseño A*B, con el fin de establecer el efecto que poseen los días de la semana y las horas del día en la concentración de microorganismos dispersos en el aire.

La Tabla 11 muestra el análisis de varianza para las concentraciones de bioaerosoles en la zona de desechos comunes.

Tabla 11*Análisis de varianza para UFC/ml, desechos comunes*

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	P
Días	5	5131,5	1026,3	1,69	0,212
Hora	1	121,4	121,4	0,20	0,663
Días*Hora	5	1840,5	368,1	0,61	0,697
Error	12	7292,2	607,7		
Total	23	14385,6			

Los factores en estudio días, horas y la interacción días*horas poseen valores P de 0,212; 0,663 y 0,697 respectivamente, puesto que ningún valor P es menor a 0,05 ninguno de los factores mencionados o su interacción poseen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de bioaerosoles con un nivel de confianza del 95%.

La Tabla 12 muestra el análisis de varianza para las concentraciones de bioaerosoles en la zona de desechos hospitalarios.

Tabla 12*Análisis de varianza para UFC/ml, desechos hospitalarios*

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	P
Días	5	3789,4	757,9	1,73	0,202
Hora	1	233,1	233,1	0,53	0,480
Días*Hora	5	444,6	88,9	0,20	0,955
Error	12	5255,7	438,0		
Total	23	9722,8			

Los factores en estudio días, horas y la interacción días*horas poseen valores P de 0,202; 0,480 y 0,955 respectivamente, dado que ningún valor P es menor a 0,05 ninguno de los factores o su interacción posee un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de bioaerosoles con un nivel de confianza del 95%.

4.2.Verificación de hipótesis

4.2.1. Concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga en la zona de desechos comunes y la zona de desechos hospitalarios.

Hipótesis Nula

La concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga no es alterada por las días de la semana y las horas del día.

Hipótesis alternativa

La concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga es alterada por las días de la semana y las horas del día.

Con base en el análisis estadístico se acepta la hipótesis nula y se puede decir que la concentración de microorganismos en el sitio de disposición final del Cantón Latacunga no es afectada por las días de la semana y las horas del día.

4.2.2. Patogenicidad bacteriana en los bioaerosoles asaciones en el sitio disposición final del Cantón Latacunga.

Hipótesis Nula

Los bioaerosoles no poseen bacterias patógenas causantes de enfermedades gastrointestinales.

Hipótesis alternativa

Los bioaerosoles poseen bacterias patógenas causantes de enfermedades gastrointestinales.

Luego de realizar pruebas bioquímicas (IMVIC) se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que manifiesta que los bioaerosoles poseen bacterias patógenas causantes de enfermedades gastrointestinales.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se evaluaron los bioaerosoles asociados en el sitio de disposición final de residuos sólidos en la empresa EPAGAL, mediante esto se lograron identificar microorganismos pertenecientes a la familia de las enterobacterias, muchos de ellos patógenos oportunistas que son perjudiciales para la salud.
- Con la utilización de una curva de calibración McFarland con un coeficiente de determinación de 99,4% se estimó la concentración de bioaerosoles en el sitio de disposición final, se encontraron concentraciones entre $1,00135 \cdot 10^{10}$ UFC/ml y $1,06 \cdot 10^7$ UFC/ml, dichas concentraciones no pueden ser valoradas bajo criterios dado que no se ha establecido normativas en nuestro país.
- Se aislaron 91 colonias microbianas puras en base a sus características macroscópicas en medios de cultivo MacConkey y Tripteina Soya Agar, en los medio de cultivo selectivo para hongos Saboraud y Extracto de Malta no existió crecimiento mitótico.
- Se identificaron nueve posibles especies de enterobacterias con la aplicación de pruebas IMVIC, dichas especies fueron *Shigella sonnei*, *Salmonella*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Citrobacter koseri*, *Providencia* y *Escherichia coli* y no fue posible identificar 15 cepas bacterianas.

5.2. Recomendaciones

- Elaborar un manual de bioseguridad para salvaguardar la salud de las personas que trabajan en el sitio de disposición final de la empresa EPAGAL, así como también de las poblaciones aledañas.
- Realizar una nueva investigación en la que se empleen pruebas moleculares para el reconocimiento de los microorganismos no identificados mediante pruebas IMVIC.

Referencias bibliográficas

- Amalfa, F., & Lopardo, H. (2016). Género *Yersinia* y otras enterobacterias. In H. Lopardo, S. Predari & C. Vay (Eds.), *Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología* (pp. 303-332). Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Microbiología.
- Ambrose, I., Braid, W., & Essien, J. (2015). Assessment of Air Quality (Bioaerosols) of the Municipal Waste Dumpsite in Uyo Urban, Akwa Ibom State, Nigeria. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 5(9), 1-6.
- Andache, E., & Castillo, P. (2016). *Elaboración de instructivos de seguridad industrial para puestos de trabajo basados en un estudio aerobiológico del Relleno sanitario de la Empresa Pública Municipal Gestión Integral de Desechos Sólidos Ambato*. (Tesis de Pregrado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.
- Ausina, V., & Moreno, S. (2006). *Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Baca, C., Yupanqui, L., Canales, J., Zamudio, M., Quispe, M., & Tamariz, J. (2014). Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella* aisladas en un instituto de salud pediátrico de Lima, Perú entre enero y julio 2013. *Revista Médica Herediana*, 25, 73-79.
- Bailón, L., Cruz, R., & Cervantes, A. (2003). *Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias*. Ciudad de México, México: UNAM.
- Ballesteros, V., Cuadros, Y., Botero, S., & López, Y. (2008). Factores de riesgo biológicos en recicladores informales de la ciudad de Medellín, 2005. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 26(2), 169-177.
- Blanc, V. (2007). *Caracterización de cepas y de plásmidos de Enterobacteriaceae portadores de β -lactamasas de espectro extendido*. (Tesis de Pregrado). Recuperado el 28 de noviembre de 2016. Disponible en <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3908/vbp1de1.pdf?sequence=1>
- Bottiglieri, M., & Carvajal, L. (2016). *Proteus, Morganella y Providencia*. In H. Lopardo, S. Predari & C. Vay (Eds.), *Manual de microbiología clínica de la*

- Asociación Argentina de Microbiología* (pp. 246-302). Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Microbiología.
- Cardozo, R., & Araque, L. (2015). Caracterización de bioaerosoles en tres edificaciones administrativas de Bogotá, 2012-2013. *Revista Ciencia en Desarrollo*, 6(1), 41-54.
- Dos Santos, G., Solidônio, E., Costa, M., Melo, R., De Souza, I., Silva, G., & Sena, K. (2015). Study of the Enterobacteriaceae Group CESP (Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Providencia, Morganella and Hafnia): A Review. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*, 2, 794-805.
- Dubey, R., & Maheshwari, D. (2002). *Practical Microbiology*. New Delhi, India: S. Chand & Company Ltd.
- El reto, mancomunar el tratamiento de basura. (16 de julio de 2016). *El Telégrafo*. Recuperado el 26 de noviembre de 2016. Disponible en <http://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional-centro/1/el-reto-mancomunar-el-tratamiento-de-basura>
- Fernández, S., & Fernández, J. (2014). Aerobiología: De la Universidad a la Educación Secundaria. *Boletín Biológica*, 8(31), 10-14.
- Flores, F., Pardavé, L., & Valenzuela, I. (2007). Estudio Aerobiológico de la Zona Aledaña al Relleno Sanitario “San Nicolás”, Municipio de Aguascalientes. *Investigación y Ciencia*, 37, 13-18.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2009). *Diagnóstico Microbiológico* (12 ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- García, A., & Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426-3431.
- García, A., & Zamudio, M. (1998). *Manual de Microbiología Médica*. Ciudad de México, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Garg, N., Garg, K., & Mukerji, K. (2010). *Laboratory Manual of Food Microbiology*. New Dehli, India: I. K. International Publishing House Pvt. Ltd.
- Goldman, E., & Green, L. H. (2015). *Practical Handbook of Microbiology* (3 ed.). New York, Estados Unidos: Taylor & Francis Group.
- Heritage, J., Evans, E., & Killington, R. (1996). *Introductory Microbiology*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.

- INEN. (2015). *Control microbiológico de los alimentos. Detección y recuento de Escherichia coli presuntiva por la técnica del número más probable*. Quito-Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización Recuperado el 2 de diciembre de 2016. Disponible en http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_1529-8.pdf.
- Każmierczuk, M., & Bojanowicz, A. (2014). Bioaerosol concentration in the air surrounding municipal solid waste landfill. *Environmental Protection and Natural Resources*, 25(2), 17-25. doi: 10.2478/oszn-2014-0015
- Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., Woods, G. L., Winn, W. C., Allen, S. D., & Janda, W. M. (2006). *Koneman Diagnostico Microbiologico* (6 ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- López, M., Cárdenas, M., & Osuna, A. (2012). *Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales*. Barcelona, España: Omnia Science.
- MacFaddin, J. F. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* (3 ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- MAE. (2010). *Plan Nacional de la Calidad del Aire*. Quito, Ecuador.
- MAE. (2015). *Acuerdo N° 061 Reforma del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria*. Quito, Ecuador: Recuperado el 8 de diciembre de 2016. Disponible en <http://suia.ambiente.gob.ec/documents/10179/185880/ACUERDO+061+REFORMA+LIBRO+VI+TULSMA++R.O.316+04+DE+MAYO+2015.pdf/3c02e9cb-0074-4fb0-afbe-0626370fa108>.
- Mahon, C. R., Lehman, D. C., & Manuselis, G. (2015). *Textbook of Diagnostic Microbiology* (5 ed.). Missouri, Estados Unidos: Elsevier.
- Maier, R., Pepper, I., & Gerba, C. (2009). *Environmental Microbiology*. Burlington, Estados Unidos: Academic Press.
- Manos, J., & Belas, R. (2006). The Genera Proteus, Providencia, and Morganella. *The Prokaryotes*, 6, 245-269. doi: 10.1007/0-387-30746-X_12

- Medina, J., & Jiménez, I. (2001). *Guía para la gestión integral de los residuos sólidos municipales*. Ciudad de México, México: Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental-SEMARNAT.
- Mejía, H. (2007). Opciones de tratamiento en shigelosis. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 46(1), 80-84.
- Mejía, P., & Patarón, I. (2014). *Propuesta de un plan integral para el manejo de los residuos sólidos del cantón Tisaleo*. (Tesis de Pregrado). Recuperado el 3 de diciembre de 2016. Disponible en [http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3748/1/236T0117%20UDC TFC.pdf](http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3748/1/236T0117%20UDC%20TFC.pdf)
- Negróni, M. (2009). *Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Nielsen, E., Nielsen, B., & Breum, N. (1995). Occupational bioaerosol exposure during collection of household waste. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2, 53-59.
- Nieto, D. (2008). *Estudio aerobiológico de la zona costera de la provincia de Granada (Motril): Evolución de las concentraciones de polen y esporas*. (Tesis Doctoral). Recuperado el 5 de diciembre de 2016. Disponible en <http://hera.ugr.es/tesisugr/17683518.pdf>
- O'hara, C., Brenner, F., & Miller, J. (2000). Classification, Identification, and Clinical Significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4), 534-546.
- Olivas, E. (2001). *Manual de laboratorio de microbiología básica*. Ciudad de Juárez, México: Universidad Autónoma de Ciudad de Juárez.
- OMS. (2015). Desechos de las actividades de atención sanitaria. Recuperado el 14 de noviembre de 2016. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs253/es/>
- Pachón, D. (2009). *Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género Salmonella en una población de Crocodylus intermedius y testudinos mantenidos en cautiverio en la Estación de Biología Tropical Roberto Franco E. B. T. R. B de la facultad de ciencias-Universidad Nacional de Colombia en Villavicencio-Meta*. (Tesis de Pregrado).

- Recuperado el 5 de diciembre de 2016. Disponible en <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis198.pdf>
- Paniker, J., & Ananthanarayan, R. (2005). *Textbook of Microbiology* (7 ed.). Hyderabad, India: Orient Blackswan Pvt. Ltd.
- Parés, R., & Juárez, A. (2002). *Bioquímica de los microorganismos*. Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Parija, S. (2009). *Textbook of Microbiology & Immunology*. Haryana, India: Elsevier.
- Parra, A. (2006). *Bioaerosoles: estudio mediante fluorescencia inducida por Láser*. (Tesis de licenciatura). Recuperado el 03 de diciembre de 2016. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=13710>
- Parra, M., Durango, J., & Máttar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por Salmonella. *MVZ Córdoba*, 7(2), 187-200.
- Perilla, M., Ajello, G., Bopp, C., Elliott, J., Facklam, R., Knapp, J., . . . Dowell, S. (2004). *Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo*. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud.
- Prants, G. (2005). *Microbiología clínica*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
- Redondo, J., Maseda, E., Riquelme, A., Alday, E., Uña, E., & Criado, A. (2005). Hafnia alvei: una causa infrecuente de neumonía grave en la Unidad de Reanimación. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*, 52(6), 359-362.
- Regli, A. D., & Pages, J. M. (2015). Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*, 6(392), 1-10. doi: 10.3389/fmicb.2015.00392
- Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernández, F., & García, J. (2005). *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio*. San José , Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Romero, R. (2007). *Microbiología y parasitología humana* Ciudad de México, Mexico: Editorial Médica Panamericana.

- Rosas, I., Salinas, E., Martínez, L., Eslava, C., & Cravioto, A. (2004). Bacterias en la atmósfera. In I. Rosas, A. Cravioto & E. Ezcurra (Eds.), *Microbiología Ambiental* (pp. 13-20). Ciudad de México, México: Instituto Nacional de Ecología.
- Sánchez, M., Roig, A., Cayuela, M., & Stentiford, E. (2006). Emisión de bioaerosoles asociada a la gestión de residuos orgánicos *Ingeniería*, 10(1), 39-47.
- SENPLADES. (2013). *Plan Nacional del Buen Vivir 2013-2017*. Quito, Ecuador: Recuperado el 4 de diciembre de 2016. Disponible en <http://documentos.senplades.gob.ec/Plan%20Nacional%20Buen%20Vivir%202013-2017.pdf>.
- Setty, R., & Sreekrishna, V. (2003). *Biotechnology - II: Including Cell Biology, Genetics, Microbiology*. New Delhi, India: New Age International.
- Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente § Registro Oficial 320 (25 de julio de 2006).
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología* (9 ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Trigo, M. (2010). La aerobiología y el contenido polínico de la atmósfera. *Uciencia*(4), 40-43.
- Vashist, H., Sharma, D., & Gupta, A. (2013). A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Innovare Journal of Life Science*, 1(1), 1-7.
- Vélez, A., Camargo, Y., & Balaguera, S. (2010). Distribución espacio-temporal de aerobacterias en el relleno sanitario Palangana, Santa Marta (Colombia). *Intropica*, 5, 7-18.

ANEXOS

ANEXO 1. RESULTADOS DE PRUEBAS IMVIC

Estría		Prueba Bioquímica				Microorganismo probable
Número	Código	Indol	Rojo de metilo	Vogues-Proskauer	Citrato	
1	0,3c1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
2	1,1c1	+	+	+	+	ND
3	1,2c2	-	-	+	+	<i>K. pneumoniae/Enterobacter</i>
4	2,1c1	+	+	+	+	ND
5	2,2c2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
6	2,5c1	-	-	-	-	ND
7	3,1c1	+	+	-	+	<i>C. koseri/Providencia</i>
8	3,2p1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
9	3,5c1	-	-	+	+	<i>K. pneumoniae/Enterobacter</i>
10	4,1c1	+	-	-	+	ND
11	4,1c1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
12	4,4p2	+	+	-	+	<i>C. koseri/Providencia</i>
13	5,2c1	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
14	5,3c2	+	+	+	+	ND
15	5,4p1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
16	6,1c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
17	6,2c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
18	6,3p1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
19	7,1c1	+	+	+	+	ND
20	7,2p2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
21	7,3p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
22	8,1c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
23	8,2p2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
24	8,3c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
25	9,1p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
26	9,3p2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
27	9,5c1	+	+	-	-	<i>E. coli</i>
28	10,1c1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>

29	10,1p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
30	10,3p2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
31	11,1c1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
32	11,1p2	-	+	+	-	ND
33	11,3p2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
34	12,1c1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
35	12,1p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
36	12,3c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
37	13,3c2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
38	13,4p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
39	13,5c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
40	14,1c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
41	14,3c2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
42	14,5c2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
43	15,1c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
44	15,3c2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
45	15,5p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
46	16,4c1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
47	16,4p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
48	16,5c2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
49	17,1p2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
50	17,3p2	-	+	+	-	ND
51	17,4c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
52	18,4c2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
53	18,4p1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
54	18,5p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
55	19,4c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
56	19,5c1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
57	19,5p1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
58	20,1p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
59	20,4c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
60	20,4p2	+	+	-	+	<i>C. koseri/Providencia</i>
61	21,4p2	+	+	+	+	ND

62	21,5p1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
63	22,1c2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
64	22,4p2	-	-	+	+	<i>K. pneumoniae/Enterobacter</i>
65	22,4p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
66	22,5p1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
67	23,1p1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
68	23,1p2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
69	23,3p1	-	-	-	-	ND
70	24,1p1	-	-	+	+	<i>K. pneumoniae/Enterobacter</i>
71	24,4c2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
72	25,1c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
73	25,4c2	-	-	-	-	ND
74	25,4c2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
75	26,1c2	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
76	26,4p2	-	-	-	+	ND
77	27,1c2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
78	27,2c1	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
79	27,4p2	-	-	-	+	ND
80	28,1c2	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
81	28,4c1	-	-	-	-	ND
82	28,5c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
83	29,2c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
84	29,5c1	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
85	30,2p1	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
86	30,5c1	-	+	-	+	<i>Salmonella/C. freundii</i>
87	31,2p2	+	+	-	-	<i>E. coli</i>
88	31,5p1	-	+	-	-	<i>S. sonnei</i>
89	32,2p2	-	+	+	+	<i>P. mirabilis</i>
90	24,1c2	+	+	-	-	<i>E. coli</i>
91	19,4C2	-	-	-	-	ND

ANEXO 2. REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

Tabla 1

Agar Cerebro corazón

Reactivos	Cantidad
Infusión de cerebro	12,50 (g)
Infusión de Corazón	5,00 (g)
Proteosa peptona	10,00 (g)
Glucosa	2,00 (g)
NaCl	5,00 (g)
Na ₂ HPO ₄	2,50 (g)
Agua Destilada	1000,00 (ml)

Tabla 2

Agar extracto de malta

Reactivos	Cantidad
Extracto de Malta en polvo	20,00 (g)
Peptona	1,00 (g)
Glucosa	20,00 (g)
Agar	20,00 (g)
Agua destilada	1000,00 (ml)

Tabla 3

Agar sabouraud glucosa 4%

Reactivos	Cantidad
Peptona	5,00 (g)
Tripteina	5,00 (g)
Glucosa	40,00 (g)
Cloranfenicol	0,05 (g)
Agar	15,00 (g)
Agua destilada	1000,00 (ml)

Tabla 4
Agar de soya tripticaseina

Reactivos	Cantidad
Tripteina	15,00 (g)
Peptona de soya	5,00 (g)
Cloruro de sodio	5,00 (g)
Agar	15,00 (g)
Agua Destilada	1000,00 (ml)

Tabla 5
MacConkey agar

Reactivos	Cantidad
Peptona de caseína	17,00 (g)
Peptona de carne	3,00 (g)
Lactosa	10,00 (g)
Sales biliares	1,50 (g)
NaCl	5,00 (g)
Agar-agar	13,50 (g)
Rojo neutro	0,03 (g)
Cristal Violeta	0,001 (g)
Agua destilada	1000,00 (ml)

Tabla 6
Medio RM-VP (Rojo de Metilo y Voges-Proskauer)

Reactivos	Cantidad
Polipeptona	7,00 (g)
Glucosa	5,00 (g)
K ₂ HPO ₄	5,00 (g)
Agua destilada	1000,00 (ml)

Tabla 7
Citrato de Simmons agar

Reactivos	Cantidad
NH ₄ H ₂ PO ₄	1,00 (g)
K ₂ HPO ₄	1,00 (g)
Cloruro de sodio	5,00 (g)
Citrato de sodio	2,00 (g)
MgSO ₄	0,20 (g)
Azul de bromotimol	0,08 (g)
Agar-agar	12,00 (g)
Agua destilada	1000,00 (ml)

Reactivo de Kovacs

Se disuelven 5 gramos de p-dimetilaminobenzaldehido en 75 ml de alcohol amílico manteniéndolo en baño maría. Luego añadir lentamente y en una sorbona 25 ml de HCl concentrado, se debe guardar en congelador y en frascos ambar. Receta es para 100 ml de reactivo.

Reactivo de Voges-Proskauer

a) solución de KOH al 40%

Se disuelven 40 gramos de KOH en 100 ml de agua destilada.

b) Solución de α -naftol al 5%

Se disuelven 5 gramos de α -naftol en 100 ml de alcohol etílico.

ANEXO 3. MCFARLAND

Tabla 8
Curva Standar McFarland

UFC*10 ⁸	Abs 600 nm		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0	0,000	0,000	0,000
3	0,118	0,125	0,141
6	0,229	0,229	0,273
9	0,322	0,350	0,330
12	0,415	0,451	0,455
15	0,522	0,520	0,510
18	0,612	0,621	0,650
21	0,726	0,730	0,758

$$\text{Abs 600 nm} = 0,02064 + 0,03409 \text{ UFC}$$

$$\text{UFC} = \frac{\text{Abs 600 nm} - 0,02064}{0,03409}$$

ANEXO 4. TOMA DE MUESTRAS AEROBIOLÓGICAS EN EL SITIO DE DISPOSICIÓN FINAL



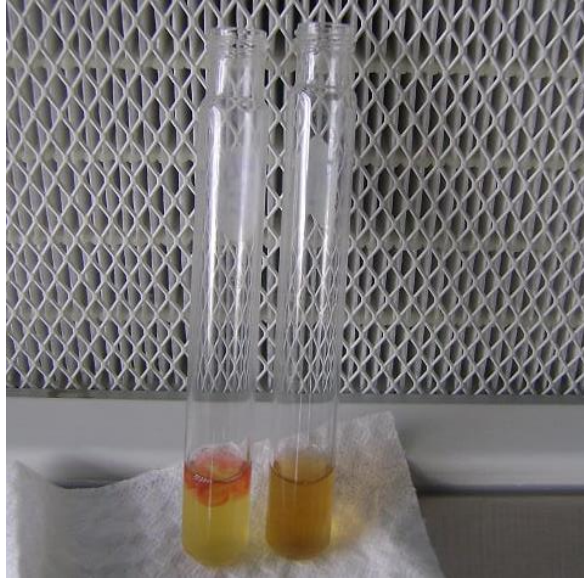
ANEXO 5. PRUEBA DE VOGES-PROSKAUER, A) TUBO DE LA DERECHA RESULTADO POSITIVO (+), TUBO DE LA IZQUIERDA RESULTADO NEGATIVO (-).



ANEXO 6. PRUEBA DE SIMMONS, A) TUBO DE LA IZQUIERDA RESULTADO POSITIVO (+), B) TUBO DE LA DERECHA RESULTADO NEGATIVO (-).



ANEXO 7. PRUEBA DEL INDOL, A) TUBO DE LADO IZQUIERDO RESULTADO POSITIVO (+), B) TUBO DE LA DERECHA RESULTADO NEGATIVO (-).



ANEXO 8. PRUEBA ROJO DE METILO, A) TUBO DE LA IZQUIERDO RESULTADO NEGATIVO (-), B) TUBO DE LA DERECHA RESULTADO POSITIVO (+).



ANEXO 9. MICROORGANISMOS AISLADOS

Tabla 9

Número de microorganismos aislados según especie

Microorganismo	N° de bacterias aisladas
S. sonnei	28
Salmonella/C. freundii	21
P. mirabilis	17
ND	15
K. pneumoniae/Enterobacter	4
C. koseri/Providencia	3
E. coli	3
TOTAL	91

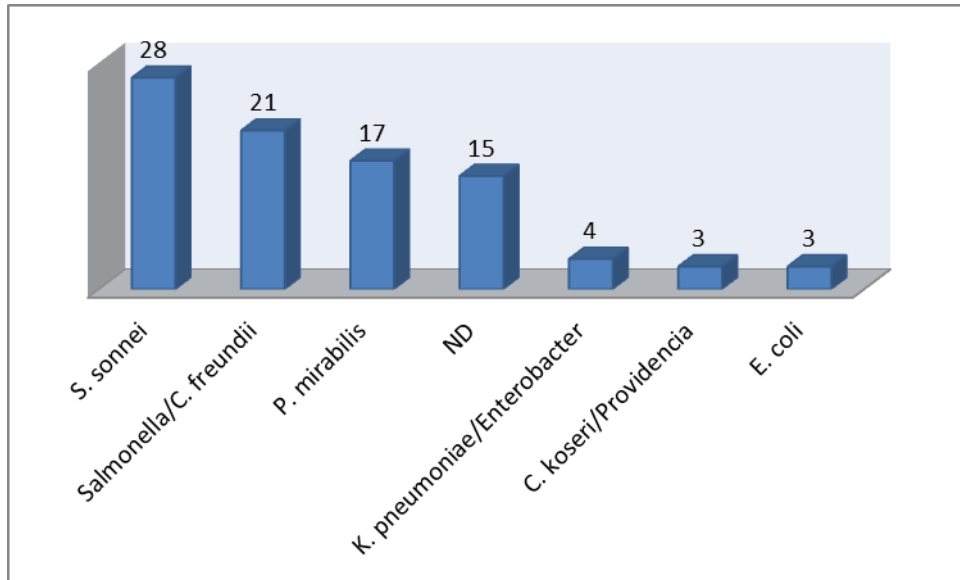


Figura 1. Número de microorganismos aislados según especie