

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**DETERMINACIÓN DE *Vibrio sp.*, *Enterococcus spp.* Y SUSCEPTIBILIDAD
ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTERIAS EN LA LÍNEA DE LÍQUIDOS DE LA
PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES SAN JERÓNIMO –
CUSCO**

PRESENTADO POR:

Br. Silvia Mercedes Clemente Taco

Br. Karla Cutipa Sullca

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO.**

ASESOR:

Dra. Hedy Yiyi Espinoza Carrasco

CUSCO – PERÚ

2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: DETERMINACIÓN DE Vibrio sp., Enterococcus spp. Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTERIAS EN LA LÍNEA DE LÍQUIDOS DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES SAN JERÓNIMO - CUSCO.

presentado por: Silvia Mercedes Clemente Taca con DNI Nro.: 73631855

presentado por: Karla Cutipa Sulca con DNI Nro.: 73038604

para optar el título profesional/grado académico de Biólogo.

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 6 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 19 de Diciembre de 2023

Firma

Post firma Hedy Espinoza Coronado

Nro. de DNI 23826797

ORCID del Asesor 0000-0002-4016-8815

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio:
<https://unsaac.turnitin.com/viewer/submissions/oid:27259:154139194?locale=es-MX>

NOMBRE DEL TRABAJO

DETERMINACIÓN DE Vibrio sp., Enterococcus spp. Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTERIAS E

AUTOR

Silvia Clemente y Karla Cutipa

RECUENTO DE PALABRAS

15898 Words

RECUENTO DE CARACTERES

91229 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

95 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

3.7MB

FECHA DE ENTREGA

Jun 13, 2022 5:46 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jun 13, 2022 5:50 PM GMT-5**● 6% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 5% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 3% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 12 palabras)

DEDICATORIA

Con todo esfuerzo y amor agradezco a Dios quien es el forjador de mis caminos, quien me acompaña y me levanta de mis tropiezos día a día quien nunca me deja sola.

A mis padres Marcos Cutipa Carcamo y Juana Sullca Malpartida seres valientes y luchadores que me demostraron que uno cuando se esfuerza logra sus sueños y metas, me enseñaron a llevar la vida de valores,

Con mucho amor a todas las personas que estuvieron alentándome y dándome buenos consejos y a mi seres queridos amigos y hermanos.

Karla Cutipa Sullca.

DEDICATORIA

A Dios primeramente por la salud y sabiduría que me da a lo largo de mi camino como estudiante y poder cumplir mis objetivos profesionales.

A mis padres: Juan de Dios Clemente Guzmán, Hilda Taco Laucata por ser mis más grandes consejeros, por guiarme y no soltarme jamás en cada paso.

A mi hermano Oscar, por inculcar en mí la responsabilidad, sus consejos de superación, sus excelentes ayudas y aportes en este proyecto.

Silvia Mercedes Clemente Taco.

AGRADECIMIENTO.

A Dios por guiarnos y estar con nosotras en cada etapa de nuestras vidas, dándonos toda la fuerza necesaria para seguir adelante en nuestra formación personal y académica.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por darnos la oportunidad de realizar nuestra carrera profesional y ampliar nuestros conocimientos, igualmente a los docentes de la Escuela Profesional de Biología por los conocimientos brindados durante nuestra formación profesional.

A nuestra asesora de tesis, Dra. Hedy Yiyi Espinoza Carrasco, por compartir con nosotras sus conocimientos y hacer posible este presente trabajo, por facilitarnos el acceso a las instalaciones del laboratorio y equipos necesarios para iniciar con la investigación, así mismo agradecer por la confianza y paciencia brindadas.

A la EPS. SEDACUSCO. S.A. por autorizarnos el acceso a las instalaciones de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo para realizar el presente trabajo de investigación.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	I
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	III
JUSTIFICACIÓN.....	V
OBJETIVOS.....	VII
HIPÓTESIS.....	VIII
CAPITULO I	
1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 ANTECEDENTES.....	1
INTERNACIONALES.....	1
NACIONALES.....	3
LOCALES.....	6
1.2 AGUAS RESIDUALES.....	8
1.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES.....	10
1.3.1 PARÁMETROS QUÍMICOS.....	10
1.3.2 PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS.....	11
1.4 PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES SAN JERÓNIMO.....	13
1.5 GÉNERO <i>Vibrio</i>	16
1.5.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Vibrio</i>	16
1.5.2 CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO <i>Vibrio</i>	16
1.5.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE <i>Vibrio cholerae</i>	16
1.5.4 PATOGENIA.....	17
1.6 GÉNERO <i>Enterococcus</i>	19
1.6.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Enterococcus</i>	19
1.6.2 CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO <i>Enterococcus</i>	20

1.6.2.1 <i>Enterococcus faecalis</i>	20
1.6.2.2 <i>Enterococcus faecium</i>	20
1.6.3 PATOGENIA.....	21
1.7 FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.....	21
1.7.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.....	22
1.7.1.1 <i>Escherichia coli</i>	23
1.7.1.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Escherichia coli</i>	23
1.7.1.1.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Escherichia coli</i>	23
1.7.1.1.3 PATOGENIA.....	24
1.7.1.2 <i>Salmonella</i> sp.	25
1.7.1.2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Salmonella</i> sp.	25
1.7.1.2.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Salmonella</i> sp.	26
1.7.1.2.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	26
1.7.1.2.4 PATOGENIA.....	27
1.7.1.3 <i>Shigella</i> sp.	28
1.7.1.3.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Shigella</i> sp.	28
1.7.1.3.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Shigella</i> sp.	29
1.7.1.3.3 PATOGENIA.....	29
1.7.1.4 <i>Yersinia</i> sp.	30
1.7.1.4.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Yersinia</i> sp.	30
1.7.1.4.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Yersinia</i> sp.	31
1.7.1.4.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	31
1.7.1.4.4 PATOGENIA.....	31
1.7.1.5 <i>Klebsiella</i> sp.	32
1.7.1.3.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Klebsiella</i> sp.	32

1.7.1.3.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Klebsiella</i> sp.	32
1.7.1.3.3 PATOGENIA.....	33
1.7.1.6 <i>Enterobacter</i> sp.	33
1.7.1.6.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Enterobacter</i> sp.	33
1.7.1.6.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Enterobacter</i> sp.	34
1.8 SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	34
1.8.1 ANTIBIÓTICOS.....	35
A. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS.....	35
A.1 β-LACTÁMICOS.....	37
A.2 AMFENICOLES.....	38
A.3 SULFONAMIDAS Y TRIMETOPRIMA.....	38
A.4 FLUROQUINOLONAS.....	39
A.5 AMINOGLUCOSIDOS.....	39
A.6 INHIBIDORES DE β-LACTAMASAS.....	39
 CAPITULO II	
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
2.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	40
2.2 MATERIALES.....	42
2.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO.....	42
2.2.2 MATERIAL DE CAMPO.....	42
2.2.3 MATERIALES DE LABORATORIO.....	43
2.2.4 PUNTOS DE MUESTREO.....	45
2.3 MÉTODOS PARA EL AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE <i>Vibrio</i> , ENTEROCOCOS Y ENTEROBACTERIAS.....	48
2.3.1 TOMA DE MUESTRA.....	48

2.3.2 MÉTODOS PARA EL AISLAMIENTO Y DETERMINACION DE <i>Vibrio</i> sp.	49
2.3.2.1 MÉTODO DE LA TORULA DE MOORE.....	49
2.3.3 TÉCNICA DE SIEMBRA EN AGAR BILIS ESCULINA PARA EL AISLAMIENTO DE ENTEROCOCOS.....	50
2.3.3.1 IDENTIFICACIÓN DE <i>Enterococcus</i> sp. MEDIANTE API 20 STREP.....	50
2.3.4 DILUCIONES Y SIEMBRA PARA EL AISLAMIENTO DE ENTEROBACTERIAS	52
2.3.5 PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA ENTEROBACTERIAS.....	54
2.3.5.1 TSI (agar triple azúcar hierro)	54
2.3.5.2 LIA (lisina hierro agar)	54
2.3.5.3 MIO (motilidad- indol- ornitina).....	55
2.3.5.4 CITRATO DE SIMONS.....	56
2.3.6 DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE LAS ENTEROBACTERIAS A LOS ANTIBIÓTICOS.....	56
CAPITULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
3.1 DETERMINACION DE <i>Vibrio</i> sp.	58
3.2 AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE <i>Enterococcus</i> spp.	59
3.3 AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS.....	63
3.3.1 SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTERIAS.....	67
CONCLUSIONES.....	76
RECOMENDACIONES.....	78
BIBLIOGRAFIA.....	79
ANEXOS.....	89

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1. Ciclo de manejo de las aguas residuales municipales.....	10
FIGURA N°2. Sistema de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo.....	14
FIGURA N° 3. Distribución geográfica de países con casos actuales de cólera.....	17
FIGURA N°4. Mecanismo de acción del cólera.....	18
FIGURA N°5. Estructura de la pared celular de bacterias gram negativas.....	22
FIGURA N°6 Mecanismo de adhesión de <i>Escherichia coli</i>	25
FIGURA N°7 Diseminación de <i>Salmonella</i>	28
FIGURA N° 8. Ciclo infeccioso de <i>Shigella</i>	30
FIGURA N°9. Mapa de ubicación de la provincia del Cusco, localización de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.....	40
FIGURA N°10. Área de ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.....	41
Figura N°11. Ubicación de los 16 puntos de muestreo en la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.....	48
FIGURA N° 12. Resultados de <i>Enterococcus</i> spp. aislados de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo.....	62
FIGURA N°13. Resultados de las enterobacterias aisladas en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo - Cusco.....	65
FIGURA N°14. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i>	67
FIGURA N°15. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	69
FIGURA N°16. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Shigella</i> sp.	71
FIGURA N°17. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Enterobacter</i> sp.	72
FIGURA N°18. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Salmonella typhi</i>	73
FIGURA N°19. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Yersinia</i> sp.	75

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1. Límites máximos permisibles establecidos por MINAM, 2017.....	12
TABLA N°2. Puntos de muestreo de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.....	46
TABLA N° 3. Resultados del cultivo de <i>Vibrio</i> sp. en los 16 puntos de muestreo de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.....	58
TABLA N° 4. Resultados del aislamiento de <i>Enterococcus</i> spp. en los 16 puntos de muestreo de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.....	60
TABLA N° 5. Resultados de las 25 galerías del kit Api 20 strep.....	61
TABLA N°6. Resultado de identificación de <i>Enterococcus</i> spp. en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo - Cusco.....	62
TABLA N°7. Resultados del aislamiento de enterobacterias en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.....	64
TABLA N°8. Susceptibilidad antimicrobiana: <i>Escherichia coli</i>	67
TABLA N°9. Susceptibilidad antimicrobiana: <i>Klebsiella pneumoniae</i>	69
TABLA N°10. Susceptibilidad antimicrobiana: <i>Shigella</i> sp.	70
TABLA N°11. Susceptibilidad antimicrobiana: <i>Enterobacter</i> sp.	71
TABLA N°12. Susceptibilidad antimicrobiana: <i>Salmonella typhi</i>	73
TABLA N°13. Susceptibilidad antimicrobiana: <i>Yersinia</i> sp.	74

RESUMEN

La planta de tratamiento de aguas residuales es un complejo tecnológico, cuya función principal es depurar las aguas provenientes de los canales de recepción de desagües de la ciudad del Cusco mediante distintas etapas para ser finalmente vertidas en el río Huatanay. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *Vibrio* sp., *Enterococcus* spp. y la susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco. Se muestrearon 16 puntos, con 4 repeticiones haciendo un total de 64 muestras de la línea de líquidos de la planta de tratamiento. La metodología utilizada para *Vibrio* sp. fue el método de la tórula de Moore, para *Enterococcus* spp. se identificó mediante el kit API 20Strep; para aislar enterobacterias se utilizó la técnica de diseminación en superficie y se aplicó la técnica de Kirby Bauer para la susceptibilidad antimicrobiana, mediante discos de sensibilidad como ampicilina, cefotaxima, cloranfenicol, trimetoprim sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacino, imipenem y amoxicilina-ácido clavulánico. Los resultados obtenidos fueron: en la totalidad de muestras analizadas no se encontró *Vibrio* sp.; se logró aislar e identificar *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus faecium* y *Enterococcus avium*; en enterobacterias se identificó *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* sp., *Enterobacter* sp., *Salmonella typhi* y *Yersinia* sp.; se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* sp., *Yersinia* sp. y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a ciprofloxacino e imipenem; *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a la ampicilina; *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* sp., *Yersinia* sp. y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a la gentamicina; *Salmonella typhi* y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% al cloranfenicol; *Shigella* sp. y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a la cefotaxima; *Shigella* sp. y *Yersinia* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% al trimetoprim sulfametoxazol; *Escherichia coli* fue susceptible en 92.86% a cefotaxima y cloranfenicol, en 89.29% a trimetoprim sulfametoxazol y en 85.71% a ampicilina y gentamicina; *Salmonella typhi* fue susceptible en 75% a la cefotaxima y 50% a trimetoprim sulfametoxazol; *Klebsiella pneumoniae* fue susceptible en 85.72% a cloranfenicol, en 78.57% a la cefotaxima y 71.43% a trimetoprim sulfametoxazol; *Shigella* sp. fue susceptible en 83.33% a la ampicilina y finalmente *Yersinia* sp. fue susceptible en 50% a la cefotaxima.

Palabras clave: *Vibrio* sp., *Enterococcus* spp., enterobacterias, aguas residuales, antibióticos, ampicilina, cefotaxima, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, gentamicina, ciprofloxacino, imipenem, amoxicilina-ácido clavulánico

INTRODUCCIÓN.

La planta de tratamiento San Jerónimo es un complejo tecnológico cuyo objetivo es el de reducir agentes extraños al agua para usos agrícolas, aprovechando las cualidades fertilizantes de las aguas residuales como son la presencia de nitrógeno, fósforo y potasio, aprovechándolas sin que se produzcan problemas de contaminación de suelos, pero sobre todo, lo más importante evitar la transmisión de sustancias tóxicas sintetizadas por algunas bacterias patógenas que pueden causar infecciones alimentarias por la presencia de enterobacterias, *Vibrio* y enterococos, las cuales son causantes de enfermedades gastrointestinales; los límites tolerables del agua hacen que haya una necesidad de aprovechar el agua residual a través de modelos de tratamiento (SEDACUSCO, 2015).

Vibrio sp. es el causante de enfermedades diarreicas, habita en cuerpos de agua mediante el cual se ocasiona la diseminación de este patógeno, es una bacteria gram negativa perteneciente a la familia Vibrionaceae, anaerobio facultativo y móvil debido a la presencia de un flagelo polar (Rodríguez, 2011).

Enterococcus faecalis es una bacteria gram positiva causante de gastroenteritis, su presencia en el agua se debe a la contaminación por heces humanas, se presentan en formas esféricas en pares o formando cadenas, inmóviles y no forman endosporas (Larrea et. al., 2012).

Las enterobacterias son responsables de infecciones gastrointestinales agudas, cuya procedencia viene de alimentos y aguas contaminados por materia fecal, donde se encuentran estos microorganismos patógenos como *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia* (Novoa, et. al., 2016)

Los discos de sensibilidad posibilitan la visualización de las áreas de inhibición. Siguiendo los principios de una metodología estandarizada y llevando a cabo mediciones precisas del diámetro de las zonas con concentraciones inhibitorias, se obtendrán resultados más confiables al informar sobre la resistencia o sensibilidad antimicrobiana (CLSI, 2012).

El objetivo de este trabajo de investigación es evaluar la presencia de microorganismos específicos, como *Vibrio* sp. y *Enterococcus* spp., en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco. Además, se busca analizar la susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias presentes en dicha línea. A través de este estudio, se pretende obtener información detallada sobre la calidad microbiológica de los efluentes tratados en la planta, con el fin de contribuir al conocimiento científico sobre la salud ambiental y la seguridad microbiológica del agua residual tratada en esta ubicación específica.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La planta de tratamiento fue creada con fines de producir efluentes reutilizables en el ambiente y residuos sólidos que contengan un elevado valor nutricional en beneficio para la agricultura, cuyos resultados se están generando en la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo. La problemática se originó a raíz del manejo inadecuado de las aguas residuales, lo que provocó la propagación de enfermedades bacterianas de origen entérico y el consiguiente riesgo de transmisión. En 1990, el Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente llevó a cabo una serie de investigaciones para evaluar la calidad de los productos obtenidos en el cultivo de hortalizas irrigadas con aguas residuales. Los resultados revelaron que el uso de aguas residuales tratadas reduce un 17% la carga bacteriana. Sin embargo, las hortalizas contaminadas presentan un riesgo significativo de provocar enfermedades gastrointestinales debido a su alto contenido de bacterias, originarias tanto del tracto digestivo animal como humano. Entre estas bacterias se encuentran las enterobacterias y los enterococos, así como patógenos altamente peligrosos que habitan en el agua, como *Vibrio* sp., lo que puede dar lugar a problemas de salud graves, especialmente en la población infantil. (MINAGRI Y ANA, 2016). Por lo cual tienen que pasar por un proceso de depuración en la planta de tratamiento de aguas residuales para evitar así la contaminación de las corrientes de agua, reducir la carga bacteriana de estas aguas que posteriormente son utilizados en la agricultura.

Las enterobacterias generan toxinas inflamatorias, lo que facilita su propagación en las células del tracto digestivo, urinario y respiratorio; sumado a que hoy en día la resistencia bacteriana es un problema de salud mundial, debido al uso desmedido de antibióticos por parte de la sociedad; por tal motivo es de vital importancia conocer las bacterias que aún presentan

susceptibilidad, con el fin de conocer el comportamiento de éstas frente a los antibióticos para así realizar un mejor tratamiento para el paciente.

Por lo que realizamos la siguiente interrogante:

¿Existe presencia de *Vibrio* sp. y *Enterococcus* spp., y cuál es la susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales en San Jerónimo – Cusco?

JUSTIFICACIÓN.

En el presente trabajo se determinará la presencia bacteriana patógena, como *Vibrio* sp., *Enterococcus* spp., y la susceptibilidad a antibióticos de enterobacterias aisladas de la línea de líquidos en la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo; se conoce que el agua tratada que sale debe presentar menor carga bacteriana. La presencia de *Vibrio cholerae* en aguas y en alimentos es un peligro para la salud de la población, porque producen diarreas acuosas acompañados de dolor abdominal, mareos, vómitos y fiebre. *Enterococcus* spp. son potencialmente patógenos en ancianos y pacientes inmunocomprometidos, por lo que se comportan como patógenos oportunistas.

Las enterobacterias son indicadoras de contaminación fecal, son agentes causantes de enfermedades gastrointestinales, por lo que es importante realizar un análisis bacteriano y de susceptibilidad frente a diferentes antibióticos como ampicilina, cefotaxima, trimetoprim sulfametoxazol, cloranfenicol, gentamicina, ciprofloxacino, imipenem y amoxicilina-ácido clavulánico, con el fin de conocer si aún existe antibióticos que sean eficaces contra enterobacterias.

Es fundamental llevar a cabo ensayos en cada etapa del proceso de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo, desde su ingreso hasta su salida. Esto garantiza que las aguas vertidas al río Huatanay cumplan con las normativas sanitarias establecidas por el estado peruano (MINAM, 2017). Dada la presencia de diversos microorganismos patógenos en las aguas residuales, es imperativo asegurar que los cuerpos de agua resultantes no entren en contacto directo con estas sustancias contaminadas; este cuidado especial es necesario, ya que la población utiliza el agua de los ríos para irrigar sus cultivos, como es el caso de plantas

de tallo corto, como la lechuga, que luego se comercializan en mercados y finalmente llegan a los hogares para su consumo; el riesgo de enfermedades gastrointestinales aumenta significativamente debido a esta práctica, por lo tanto, resulta de suma importancia eliminar la presencia de patógenos en las plantas de tratamiento de aguas residuales; este enfoque proactivo no solo previene la contaminación de los cuerpos de agua, sino que también contribuye a reducir considerablemente la afluencia de pacientes a centros médicos debido a problemas de infecciones gastrointestinales.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Vibrio* sp., *Enterococcus* spp. y la susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Determinar la presencia de *Vibrio* sp. en la línea de líquidos.
2. Aislar e identificar *Enterococcus* spp. en la línea de líquidos mediante el sistema Api 20 Strep.
3. Aislar e identificar enterobacterias presentes en la línea de líquidos.
4. Determinar la susceptibilidad antimicrobiana a la ampicilina, cefotaxima, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, gentamicina, ciprofloxacino, imipenem y amoxicilina-ácido clavulánico de las enterobacterias presentes en la línea de líquidos.

HIPÓTESIS.

De la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco, se logrará aislar colonias de *Vibrio* sp. y *Enterococcus* spp. así como enterobacterias que presenten susceptibilidad antimicrobiana.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES.

INTERNACIONALES.

Chávez y De la Cruz (2023). Realizaron estudios en 3 puntos de toma de aguas para plantas potabilizadoras, debido a la contaminación por efluentes de aguas residuales de dichos cuerpos de agua, los puntos de muestreo fueron Chitré, Maracas y La Villa en Azuero – Panamá. Logrando aislar *E. coli*, *Serratia* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Providencia* sp., *Proteus* sp., *Salmonella* sp., siendo *E. coli* sensible a imipenem, trimetoprim y ofloxacino, *Salmonella* sp. fue sensible a imipenem, ofloxacino y trimetoprim, y *Klebsiella* sp. fue sensible a imipenem y ofloxacino.

Téllez et. al., (2023). Realizaron estudios en muestras de aguas residuales de efluentes de aguas residuales hospitalarias en Medellín, Antioquia-Colombia, donde lograron aislar cepas de *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Rodríguez et. al., (2015). Determinaron la presencia de *Vibrio cholerae* en muestras de agua de distintos orígenes de los municipios de Querétaro en México, de 314 muestras de agua, encontraron *Vibrio cholerae* en 88 muestras, 59 en muestras de agua negra, 25 en agua blanca, 3 en agua tratada y finalmente 01 muestra sin identificación de origen; concluyendo así que algunos cuerpos de agua superficial son un reservorio potencial de *Vibrio cholerae*.

Pucciarelli et. al., (2014). Realizaron un análisis de las aguas del arroyo Vicario en la ciudad de Posadas – Argentina; haciendo uso de la técnica de fermentación en tubos múltiples y

siembra en agar sólido; obteniendo como resultados 54 cepas aisladas del cual 86% perteneció a *Enterococcus faecalis* y 9% a *Enterococcus faecium*.

Lukas (2011). Realizó estudios de muestras de agua y alimentos en Mwea-Kenia, donde aisló cepas de *Salmonella typhi*, realizó pruebas de antibiograma, dando resultados de sensibilidad en un 96% a cloranfenicol y ceftriaxona, sensibilidad a ampicilina en 93.33% y a ciprofloxacina en 82,67%.

Rodríguez (2011). Realizó el análisis de aguas de lastre de 18 buques los cuales desembocan en las aguas del puerto Tumaco en Nariño – Colombia, para la determinación de *Vibrio* sp. Utilizó filtros con poros de 0.45 μm y 47 mm de diámetro; después de la filtración éstos filtros fueron colocados en agua peptonada para después realizar siembra en agar TCBS, obteniendo los resultados de presencia de *Vibrio* sp. y llegó a la conclusión de que el 67% de las embarcaciones no cumplen con la normatividad que exige la ausencia de *Vibrio* sp. Por 100 ml de muestra, debido a que se encontró presencia de *Vibrio* sp. en aguas de 12 embarcaciones de las 18 analizadas.

Méndez et. al., (2010). Realizaron muestreos de aguas de pozo de la universidad de Yucatán en México, aguas residuales porcinas y de rastro las obtuvieron de la misma universidad ya mencionada, también realizaron muestreos de la planta de tratamiento de aguas pensiones II para agua residual domestica; procedieron a realizar ensayos de coliformes totales, coliformes fecales y enterococos, obteniendo resultados de enterococos en agua de pozo 1.8×10^4 UFC/100ml, para agua residual de rastro 3.0×10^6 UFC/100ml, para agua residual porcina 1.1×10^7 UFC/100ml y finalmente para agua residual domestica 1.9×10^6 UFC/100ml.

Martínez y Villalobos (2008). Realizaron el análisis bioquímico con galerías API ID 32 (BioMerieux) de 30 muestras de aguas residuales y 30 muestras de alimentos para la identificación de *Escherichia coli* donde determinaron la susceptibilidad por la técnica de difusión en placa. Hicieron uso de 12 antibióticos entre ellos ampicilina, cefotaxima, cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol, etc; dando como resultado, las cepas de *E. coli* aisladas de aguas residuales presentaron sensibilidad en más del 50% de las cepas a 11 de los antibióticos, entre ellos cloranfenicol, cefotaxima, trimetoprim-sulfametoxazol.

Chiroles et. al., (2007). Hicieron muestreos en 3 estaciones del río Almendares en Cuba, lugar donde se vierte aguas residuales de origen doméstico e industrial sin un previo tratamiento, aislaron un total de 202 cepas; 155 pertenecientes a coliformes fecales y 47 enterococos. Dentro del primer grupo hubo una mayor presencia de *Escherichia coli* con 69.7%, *Klebsiella pneumoniae* con 9.7%, *Enterobacter aerogenes* con 9%, *Klebsiella oxytoca* con 7.1%, *Enterobacter agglomerans* con 3.9% y *Citrobacter amalonaticus* con 0.6%; para en grupo de los enterococos la especie más frecuente que identificaron fue *Enterococcus faecium* con 68.08%, *Enterococcus faecalis* con 25.53% y *Enterococcus durans* con 6.39%.

NACIONALES.

Aguilar y Cubas (2021). Realizaron muestreos en la quebrada de Colpa Mayo, río Chotano, la quebrada San Mateo y quebrada San Juan en Chota departamento de Cajamarca, obteniendo recuentos elevados de *Escherichia coli* con una concentración de 350×10^5 NMP/100ml a 1600×10^5 NMP/100ml; enterococos fecales con recuentos de 460 NMP/100ml a 2100 NMP/100ml; finalmente *Vibrio cholerae* estuvo ausente en todas las muestras recolectadas.

Costa (2021). Realizó análisis de 6 efluentes cercanos al río Chillón, mediante análisis microbiológico obtuvo presencia de coliformes totales, coliformes termotolerantes, realizó pruebas bioquímicas a 55 colonias sospechosas de ser *Escherichia coli*, teniendo como resultado positivo 28 colonias, seguidamente realizó una prueba de susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* con 7 antibióticos: amikacina, ampicilina, amoxicilina-Ac. Clavulánico, ceftazidima, norfloxacino, cefuroxima y ciprofloxacino; evidenciando que el 5% del total de las cepas fue resistente a al menos 1 de los 7 antibióticos, el 34% de cepas fue resistente a ciprofloxacino, el 25% a ceftazidima y el 17% a amikacina, finalmente todas las cepas fueron sensibles a la ampicilina.

Smith et. al., (2021). Muestrearon aguas de pozos que son succionadas por tuberías del subterránea de la AAHH Villa Cruz en Iquitos de los cuales obtuvieron coliformes totales, coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* los cuales no superan los límites máximos permisibles en el pozo 1 mientras que en el pozo 2 supera los límites.

Soriano et. al., (2021). Realizaron estudios en los efluentes de hospitales de nivel II y III en Lima, logrando aislar enterobacterias como *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* y *Yersinia enterocolitica*; donde algunas cepas de *Escherichia coli* aislados de los efluentes de hospitales de nivel III, presento resistencia al ácido clavulánico y otras cepas aisladas de efluentes de hospitales de nivel II presentaron sensibilidad a gentamicina, imipenem y trimetoprim sulfametoxazol; *Enterobacter cloacae* fue aislado en muestras de efluentes de hospitales nivel III donde presentó resistencia a ácido clavulánico, mientras que presentó sensibilidad a imipenem, gentamicina, ciprofloxacino y trimetoprim sulfametoxazol; *Yersinia enterocolitica* también se aisló en efluentes hospitalarios de nivel III, donde presentó resistencia intermedia a ácido clavulánico y sensibilidad a ciprofloxacino, gentamicina, iminepem y trimetoprim sulfametoxazol.

Lezama (2018). Realizó muestreos en la cuenca baja del río Moche, cerro blanco, puente moche y la bocana; logrando aislar cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp. y *Serratia* sp.

Amado (2017). Realizó muestreos del agua para riego y bebida de animales en el distrito de Majes en Caylloma – Arequipa. Observando la presencia de *Escherichia coli* en todos los puntos de muestreo, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter agglomerans* presentes en 6 puntos de muestreo, *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* estuvieron presentes en 2 puntos de muestreo.

Cabrera (2017). Realizó el muestreo de aguas superficiales destinadas para recreación en la cuenca de Cumbaza en Tarapoto, determinando 2 puntos de muestreo, el sector Bocatoma y Cancún, con el fin de aislar coliformes fecales, *Salmonella*, *Escherichia coli* y enterococos fecales; obteniendo como resultado la ausencia en los puntos de muestreo de *Salmonella*, coliformes fecales en Bocatoma con 1.8 NMP/100 ml y en Cancún 49000 NMP/100 ml, *Escherichia coli* en Bocatoma con 1.8 NMP/100 ml y en Cancún 33000 NMP/100 ml y finalmente enterococos fecales en Bocatoma con 1.8 NMP/100 ml y en Cancún 49 NMP/100 ml.

Coral (2014). Realizó muestreos de las aguas de la quebrada Cojup en Huaraz - Ancash, exactamente en 7 tramos del río Paria, desde la laguna Palcacocha hasta su ingreso en la captación Paria, muestreo que realizaron en 2 épocas del año (secas y lluvias) y adicional un muestreo adicional entre ambas épocas; obteniendo resultados de ausencia para *Enterococcus faecalis* desde el inicio del río, yendo en aumento a medida que se aleja del lugar de origen, punto más elevado de recuento de enterococos fue el punto 7 con 1100 NMP/100 ml para la época de estiaje; igualmente para la época de lluvia presentó mayor recuento de enterococos el punto número 7 con 1100 NMP/100ml; para el periodo intermedio si hubo presencia de *Enterococcus faecalis* desde su origen, siendo el pico más alto el punto 6 y 7 con 11000 NMP/100ml.

Mayorga (2014). Realizó muestreos del agua del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chilpina en Arequipa y de canales de regadío para realizar ensayos de coliformes totales, termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. y enterococos, mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples y agar solido; obteniendo como resultado en el efluente de la planta de tratamiento, para *Escherichia coli* 24×10^3 NMP/100 ml, ausencia para *Salmonella* y presencia de enterococos 70×10^5 NMP/100 ml a 56 m. de distancia del efluente de la planta de tratamiento.

Arias y Alarcón (2001). Realizaron muestreos en los ríos Itaya, Amazonas, Nanay; lagos Morona y Moronillo y también aguas residuales de cada cuerpo de agua mencionado, obteniendo un total de 108 muestras analizadas, las cuales obtuvieron recuentos altos de *Vibrio cholerae* para aguas residuales para el mes de marzo en el punto Lago morona de 28325 NMP/100 ml; para el mes de abril recuento alto en Rio Itaya con 1000 NMP/100 ml y finalmente para el mes de mayo recuento alto en rio Itaya y lago Morona con 10100 NMP/100ml.

LOCALES.

Sota et. al., (2023). Realizaron estudios en 6 puntos del humedal de Huasao-Cusco, durante 2 épocas del año (lluvias y sequias), obteniendo resultados para la época de sequía presencia de *Escherichia coli* en todos los puntos de muestreo menos en el primero, presencia de coliformes totales en todos los puntos de muestreo, *Enterococcus faecalis* en los puntos 2,4,5 y 6, ausencia de *Vibrio* spp. en todos los puntos de muestreo; para la época de lluvias los resultados fueron: presencia de *Escherichia coli* en los puntos 2, 3, 5 y 6, presencia de coliformes totales en todos los puntos de muestreo, *Enterococcus faecalis* en los puntos 2 y 6, ausencia de *Vibrio* spp. en todos los puntos.

Clemente (2018). Determinó la presencia de enterobacterias en muestras de aguas del afluente y efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo - Cusco, obteniendo como resultados la presencia de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella* sp. y *Salmonella* sp. en el afluente, mientras que en el efluente de la planta solo se observó la presencia de una colonia de *Escherichia coli*.

1.2 AGUAS RESIDUALES

Las aguas residuales poseen una composición distinta a sus características originales debido a que fueron modificadas por acción humana y para que estas sean reutilizadas o vertidas en algún otro cuerpo de agua es necesario que posean un tratamiento previo, por lo que las aguas residuales en si son un peligro para la salud si son manipuladas sin cuidado alguno o previo tratamiento de éstas (OEFA, 2014).

La contaminación que portan las aguas residuales son tan diversas como las acciones que el ser humano puede realizar sobre el agua; podemos hallar en estas aguas materiales solidos como plásticos, toallas desechables, papeles; productos químicos de uso doméstico como detergentes, cosméticos y jabones; también se puede encontrar metales pesados y muy contaminantes que provienen de industrias como son el bromo, zinc, cadmio, plomo, mercurio; por ultimo también se encuentran restos orgánicos de materia fecal y orines (Arriols, citado por Gonzales y Quispe, 2020).

Clasificación de las aguas residuales según su origen:

Aguas residuales domésticas: Son aguas cuyo origen son viviendas y centros de comercio, los cuales contienen grandes cantidades de desechos, por lo que deben tener una apropiada disposición (OEFA, 2014).

Aguas residuales industriales: Son aquellas aguas que provienen del desarrollo del proceso productivo, incluyendo pero no limitándose a los procesos mineros, agrícolas, energéticos y agroindustriales (OEFA, 2014).

Aguas residuales municipales: Estas son aguas residuales domésticas que pueden combinarse con escorrentía de aguas pluviales o aguas residuales industriales pre tratadas que son admitidas en sistemas de alcantarillado combinado (OEFA, 2014).

Como se observa en la figura N° 1, el agua es captada de cuerpos de agua como lagos, ríos, pozos con el propósito de ser utilizada como agua de consumo humano, seguidamente esta agua es utilizada en actividades domésticas, comerciales, industriales, las mismas que dan lugar a las aguas residuales de distintos tipos, las aguas residuales son vertidas a una red de alcantarillado de las empresas de saneamiento, las aguas que no son vertidas en las redes de alcantarillado son descargadas sin un previo tratamiento en cuerpos de agua o son utilizadas en riegos de cultivo; una parte de las aguas de la red de alcantarillado es trasladada a las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) para que tengan un tratamiento haciendo uso de técnicas como lagunas aireadas, filtros percoladores, etc., seguidamente estas aguas que obtuvieron algún tipo de tratamiento son utilizados en áreas verdes, riego de cultivos o hasta son devueltas a cuerpos de agua natural; pero la otra parte de las aguas de la red de alcantarillado que no son llevadas a alguna PTAR son devueltas a los cuerpos de agua para ser utilizadas por el hombre en actividades como riego de cultivos, lo cual representa un peligro mayor por ser un riesgo para la salud de la población (OEFA, 2014).

FIGURA N° 1. Ciclo de manejo de las aguas residuales municipales.



1.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES.

Las aguas residuales también poseen características químicas señaladas por parámetros (Romero, citado por Cedeño, 2020). Los cuales se detallan de la siguiente manera.

1.3.1 PARÁMETROS QUÍMICOS

- **Sólidos en suspensión:** Existen variedades de tipos de sólidos, cuya presencia afecta a la calidad del lodo que se llega a obtener durante el tratamiento que reciben las aguas residuales (Romero, citado por Cedeño, 2020).

- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO): Refiere a la cantidad de oxígeno utilizado por microorganismos que se necesita para degradar la materia orgánica existente en el agua residual (Romero, citado por Cedeño, 2020).
- Demanda Química de Oxígeno (DQO): Refiere a la cantidad de oxígeno que necesita para oxidar la materia orgánica existente en el agua residual, para convertirlo en CO₂ y agua (Romero, citado por Cedeño, 2020).
- Nitrógeno: Es de suma importancia saber de su presencia debido a que sirve para la toma de decisiones para poder realizar tratamientos biológicos en el agua residual (Romero, citado por Cedeño, 2020).
- Fósforo: Deben ser bajas las concentraciones de éste en las aguas residuales que serán vertidas a cuerpos de agua luego de su tratamiento y necesaria su presencia en los procesos de generación de lodos (Romero, citado por Cedeño, 2020).

1.3.2 PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS.

Los contaminantes microbiológicos son organismos microscópicos que su presencia en el agua fuera del límite máximo permisible es altamente peligroso debido a que son causantes de enfermedades infecciosas como es la disentería, fiebre tifoidea, cólera, etc.; un parámetro microbiológico muy utilizado para el análisis de aguas es por el método del número más probable (NMP) cuyo fundamento se basa en la búsqueda de coliformes totales y termotolerantes. Los coliformes termotolerantes son bacterias propias del tracto intestinal del hombre y de vertebrados de sangre caliente, cuya característica principal es de fermentar la lactosa con producción de gas a una temperatura de 44.5°C, entre ellos están *Escherichia*; dentro del grupo de coliformes totales están las bacterias gram negativas, fermentadores de lactosa a temperaturas de 37°C, con

producción de gas, oxidasa negativa no formadoras de esporas, entre ellos están *Escherichia*, *Serratia*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (MINAM, 2017).

La contaminación de los cuerpos de agua por microorganismos, puede traer grandes problemas al hombre por ingerir alimentos contaminados por un mal uso del agua, para lo cual se establecen límites máximos permisibles por el ministerio del ambiente los cuales se detallan en la tabla N°1 (MINAM, 2017).

TABLA N°1. Límites máximos permisibles establecidos por MINAM, 2017.

Parámetros	Unidad de medida	D1: Riego de vegetales		D2: Bebida de animales
		Agua para riego no restringido (c)	Agua para riego restringido	Bebida de animales
MICROBIOLÓGICOS Y PARASITOLÓGICO				
Coliformes Termotolerantes	NMP/100 ml	1 000	2 000	1 000
<i>Escherichia coli</i>	NMP/100 ml	1 000	**	**
Huevos de Helmintos	Huevo/L	1	1	**
Parámetros	Unidad de medida	B1	B2	
		Contacto primario	Contacto secundario	
MICROBIOLÓGICOS Y PARASITOLÓGICO				
Enterococos intestinales	NMP/100 ml	200	**	
<i>Salmonella spp</i>	Presencia/100 ml	0	0	
<i>Vibrio cholerae</i>	Presencia/100 ml	Ausencia	Ausencia	

(MINAM, 2017).

D1: Riesgo de vegetales, D2: Bebida de animales, C: Concentración en mg/l NMP: Numero más probable, B1: Contacto primario, B2: Contacto secundario **: Parámetro no aplica para esa subcategoría.

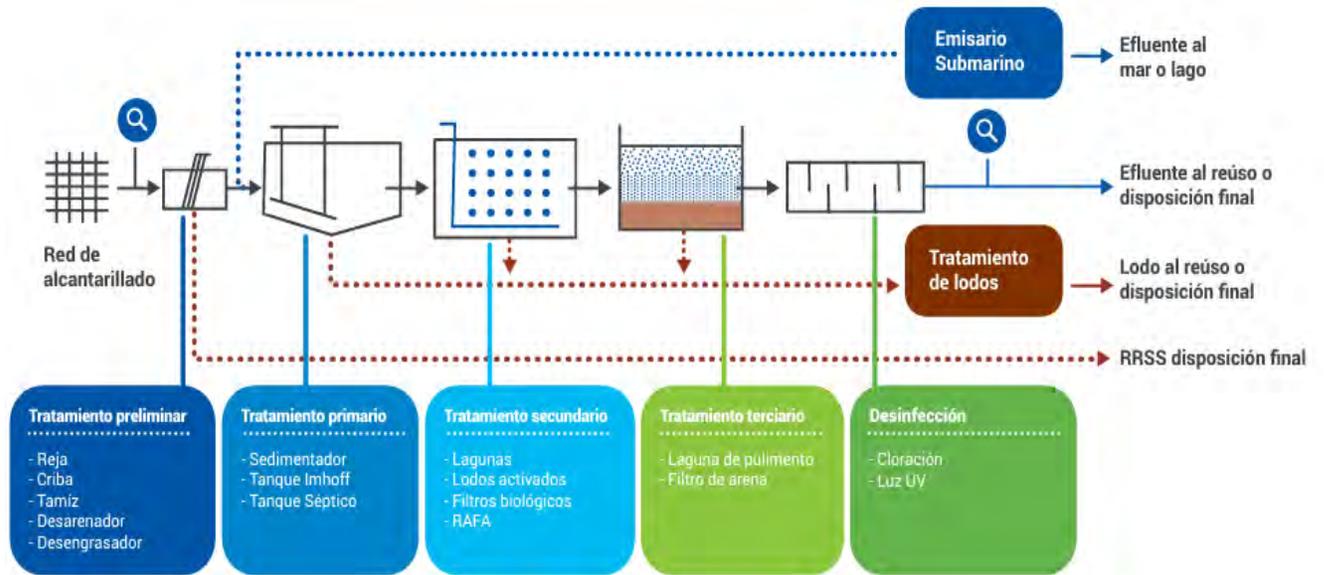
1.4 PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES SAN JERÓNIMO.

El tratamiento de aguas residuales es el proceso de depuración de aguas residuales generadas por hogares, industrias, etc.; cuya finalidad es la de reducir el número de contaminantes a valores aceptables, para su devolución a los cuerpos de agua; existen dos tipos de plantas de tratamiento de agua, las plantas de tratamiento físico o químico y las de tratamiento biológico; la primera hace uso de procesos de reacción química y física y la segunda usa material biológico o bacterias capaces de eliminar los contaminantes del agua (Palomino, 2017).

La planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo es un complejo tecnológico destinado a cubrir la demanda actual y futura del tratamiento de aguas residuales generadas por redes de desagües, cloacas, hogares, oficinas, colegios, universidades, hospitales, empresas, establecimientos comerciales e industrias; este complejo tecnológico fue diseñado para tratar 446 L/seg. con un caudal máximo a tratar de 802 L/seg. con la finalidad de poder descontaminar las aguas del río Huatanay (SEDACUSCO, 2015).

La planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo cuenta con distintos procedimientos desde el ingreso de agua hasta su salida, teniendo cada punto un objetivo para disminuir la carga bacteriana (SEDACUSCO, 2015)

FIGURA N°2. Sistema de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo.



(Sunass, 2022).

Como se observa en la figura N°2 la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales posee diversas etapas las cuales se explican a continuación.

Tratamiento preliminar, esta etapa abarca desde el punto de ingreso de las aguas residuales denominado afluente, en este punto se realizan diversos procesos por lo que cuenta con un sistema de rejas para evitar el ingreso de las aguas con objetos de gran tamaño, posee también desarenadores los cuales evitan el ingreso de arena y desengrasadores que controlan la presencia de aceites y grasas, formando así en su conjunto el tratamiento inicial que reciben las aguas residuales, lo que es muy importante para la realización sin interferencia alguna de los procesos posteriores (Sunass, 2022).

Tratamiento primario, en esta etapa algunas plantas de tratamiento cuentan con un tanque Imhoff el cual permite la sedimentación de sólidos orgánicos e inorgánicos y posee una zona de digestión en el que se acumulan los lodos para su proceso posterior, seguido del tanque Imhoff se encuentran sedimentadores y tanques sépticos los cuales también permiten la sedimentación de sólidos mediante gravedad, encontrándose en cada tanque un promedio de tiempo de 2 horas (Sunass, 2022).

Tratamiento secundario, es un proceso el cual implica la eliminación del DBO soluble en más del 80% mediante procesos biológicos, por lo que en esta etapa se encuentran filtros percoladores primarios, en cada uno se encuentran filtros de PVC en forma de panal donde el agua es vertida por la parte superior de manera rotativa para entrar en contacto con estos filtros en los que están adheridos microorganismos los cuales degradan la materia orgánica existente, también se encuentran adicionalmente filtros percoladores secundarios los cuales poseen las mismas funciones que los filtros percoladores primarios, finalmente se encuentran los sedimentadores secundarios los cuales se encargan de eliminar el resto de materiales sólidos que no fueron eliminados en el tratamiento primario (Sunass, 2022)

Desinfección, comprende la etapa de cloración, la cual consta de una cámara donde queda depositada el agua proveniente del tratamiento secundario para que esté libre de microorganismos patógenos y finalmente ser liberada por un canal denominado efluente luego de haber pasado por muchos procesos con la finalidad de respetar los límites máximos permisibles (Sunass, 2022).

1.5 GÉNERO *Vibrio*.

1.5.1 Clasificación taxonómica del género *Vibrio*.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Orden: Vibrionales

Familia: Vibrionaceae

Género: *Vibrio*

Especie: *Vibrio cholerae*

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 2005).

1.5.2 Características del género *Vibrio*.

Bacilos gram negativos, de 2 a 5 micras de largo, curvadas (forma de coma), flagelados con un único flagelo polar que les permite moverse de forma errática; con sus principales especies en función de sus antígenos O: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*; son bacterias aerobios y anaerobios, que crecen en agar nutritivo incubadas a 35°C y fermentan a la glucosa, catalasa positivos. Dependientes del ion sodio, capaces de crecer en agua peptonada (García, 2017).

1.5.3 Distribución geográfica de *Vibrio cholerae*.

Durante el 2021, se estuvieron dando reportes de 23 países, los cuales reportaron brotes de cólera sobre todo en África y Mediterráneo oriental (Fig. N° 3); para el año 2022 el número de

países que reportaron casos de cólera subió a 30, 14 de los cuales no dieron reportes durante el 2021; hasta el 1 de febrero del 2023 son 18 países quienes siguen reportando casos de cólera, en meses posteriores esta cifra podría ir en aumento (OMS, 2023).

FIGURA N° 3. Distribución geográfica de países con casos actuales de cólera.



Fuente: (OMS, 2023).

AFRO: Región de África.

EMRO: Región del Mediterráneo Oriental.

AMRO: Región de las Américas, PAHO - Oficina Sanitaria Panamericana.

SEARO: Región del Sudeste Asiático.

WPRO: Región del Pacífico Occidental.

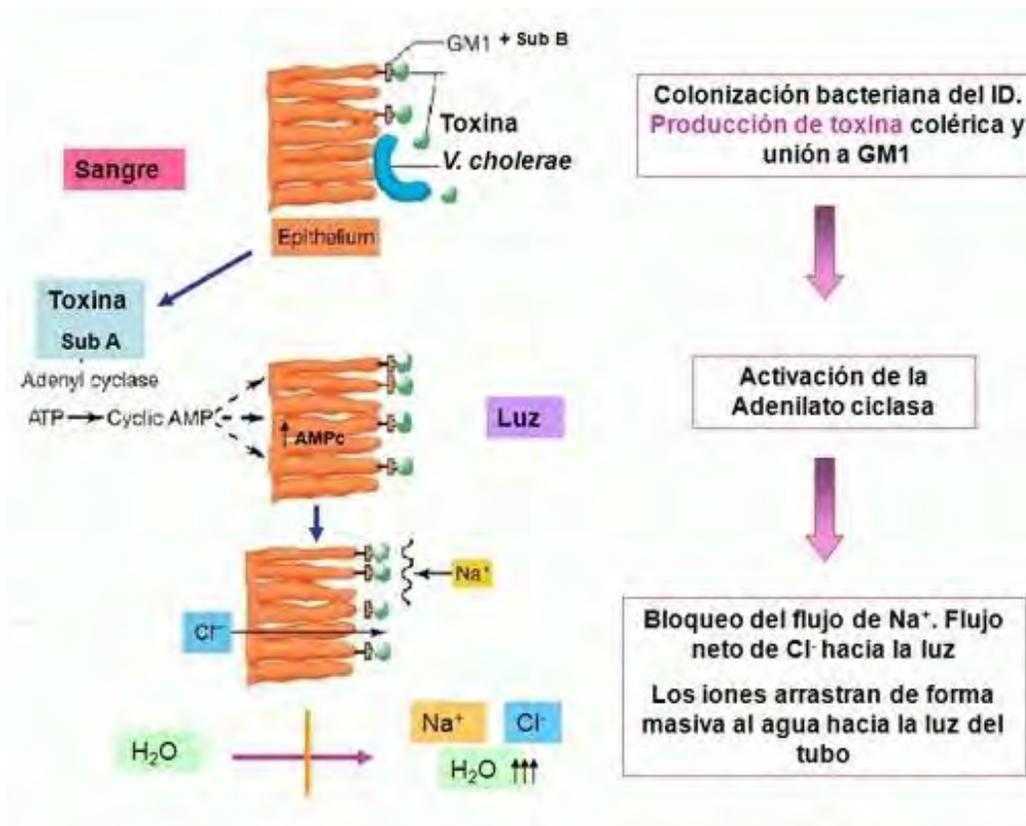
1.5.4 Patogenia.

Desde la perspectiva de la salud humana y su conexión con los seres acuáticos, resulta crucial examinar la existencia de este patógeno. Esto se debe a que las infecciones originadas por este tipo de microorganismo se relacionan con el consumo de productos marinos contaminados o

la exposición de heridas al agua del mar. En estos casos, los síntomas presentados por el paciente incluyen gastroenteritis, infecciones cutáneas, septicemia, y en pacientes con sistemas inmunológicos comprometidos o defensas bajas, la posibilidad de fallecimiento (Bermúdez et. al., 2017).

Para que la bacteria colonice necesita de motilidad, la quimiotaxis, las enzimas proteolíticas, las hemaglutininas, los factores de colonización (pilis) y sobre todo producción de su toxina colérica (CT). Según el mecanismo patogénico, las diarreas pueden clasificarse en citotóxicas, en las que los patógenos estimulan la función secretoria activando las enzimas intracelulares sin dañar la capa epitelial (Sánchez y Pérez, 2014).

FIGURA N°4. Mecanismo de acción del cólera.



Fuente: (León, 2010).

La toxina del cólera está compuesta por la parte A que consta de 2 de sub unidades y la parte B por 5 subunidades de anclaje, como se observa en la figura N°4 la parte A de la toxina colérica se traslada al enterocito del intestino delgado e ingresa y se une al receptor GM1(gangliósido), donde empieza su proceso de patogenicidad generando una ADP- ribosilación a la proteína G activando a la adenilato ciclasa que esta convertirá al ATP en AMPc y a su vez ésta activará al PKA (proteina kinasa dependiente de AMPc) la cual fosforila iones donde ingresan K⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, H₂O y Na⁺ y a su salida de esos iones genera acidosis metabólica, deshidratación, desequilibrio de electrones y diarrea masiva (León, 2010).

1.6 GÉNERO *Enterococcus*

1.6.1 Clasificación taxonómica del género *Enterococcus*.

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Lactobacillales

Familia: Enterococcaceae

Género: *Enterococcus*

Especie: *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecium

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 2005).

1.6.2 Características del género *Enterococcus*.

Enterococcus es un género de bacterias en forma de cocos gram positivos, antiguamente clasificado dentro del grupo D de Lancefield en el género *Streptococcus*, se distinguió como un género independiente en 1970 debido a características distintivas. *Enterococcus* incluye un conjunto de bacterias anaeróbicas con una morfología esférica u ovoide, típicamente dispuestas en pares y cadenas cortas, con dimensiones de $0,6-2,0 \times 0,6-2,5 \mu\text{m}$ y generalmente no móviles. Todas las bacterias de este género pueden sobrevivir en un rango de temperaturas entre 10°C y 45°C , pero su óptimo crecimiento ocurre a 37°C (Adón y Echavarría, 2021).

1.6.2.1 *Enterococcus faecalis*.

Antes conocido como *Streptococcus faecalis*, se encuentran en la microbiota intestinal y biliar; relacionado con infecciones del tracto urinario encontrándose así en la uretra masculina y vagina, también puede aislarse de muestras de suelo, alimentos o agua lo que indica contaminación fecal, pero en alimentos que están fermentados su presencia es normal como en los quesos, embutidos, etc. (Gil, 2018).

1.6.2.2 *Enterococcus faecium*.

Se encuentra en las vías intestinales del hombre y animales, también en la piel, secreciones orofaríngeas y vaginales; son causantes de infecciones severas del tracto urinario, bacteriemia y endocarditis; todas estas infecciones son producidas por la microbiota endógena pudiéndose transmitir también de persona a persona o por la ingesta de agua o alimentos contaminados, son menos frecuentes sus aislamientos clínicos pero presentan una mayor resistencia a los antimicrobianos que *E. faecalis* (Gil, 2018).

1.6.3 Patogenia.

La mayoría de las infecciones sigue una serie de eventos que comprenden la colonización y la adherencia a las células del huésped, la invasión de tejidos y la resistencia a los mecanismos de defensa no específicos. Investigaciones han revelado que las cepas de enterococos que exhiben factores de virulencia generan infecciones más graves en comparación con aquellas que carecen de estos factores. El análisis de las infecciones por enterococos en individuos con sistema inmunológico deprimido ha suscitado un mayor interés entre los investigadores, quienes buscan caracterizar los factores que facilitan la efectiva colonización bacteriana en los organismos hospedantes, superando las barreras inmunológicas y desencadenando alteraciones patológicas (Chajeka-Wierzchowska et. al., 2017).

1.7 FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.

Son bacterias Gram negativas que presentan una morfología en forma de cocos o bacilos. Tienen la capacidad de funcionar tanto en ambientes con presencia de oxígeno como en ausencia de este, y suelen hallarse en entornos con temperaturas que oscilan entre 22°C y 37°C, además de ser comunes en medios ricos en materia orgánica, como las aguas residuales. Este ambiente propicio también favorece la presencia de diversas bacterias de esta familia, así como de bacteriófagos de diversas clases (Chisavo y Husserl, 2020).

Estas bacterias son capaces de vivir en ambientes con o sin oxígeno, siendo facultativas anaerobias. No producen esporas, lo que impide su reproducción una vez que han sido destruidas. Su crecimiento se ve afectado por la presencia de sales como el cloruro de sodio. Se hallan en diversos lugares siempre que existan condiciones propicias para su supervivencia, como en aguas residuales. Los géneros más predominantes en esta familia incluyen *Escherichia*, *Enterobacter*,

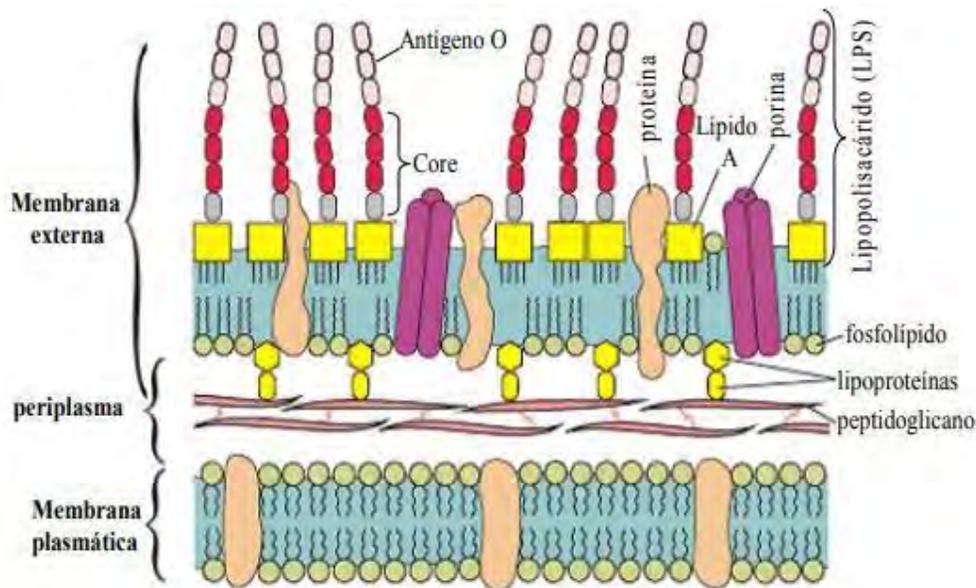
Klebsiella, *Salmonella* y *Shigella*. La especie más prevalente en la microbiota humana es *Escherichia coli*, representando aproximadamente el 80% del total de enterobacterias. (Chisavo y Husserl, 2020).

Algunas especies de esta familia viven en la cavidad entérica de hombres y animales, causando así trastornos intestinales, mientras que otros actúan como parásitos de plantas, otros como plagas hasta llegar a podrir a la planta, otras especies son saprófitas que causan la descomposición de materiales orgánicos muertos (Murray, 2014).

1.7.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.

Como se observa en la figura N°5 las paredes de las bacterias gram negativas presentan dos capas: la membrana citoplasmática (membrana interna) rodeada de una capa delgada de peptidoglucano, y una membrana externa y entre ambas el espacio periplásmico que contiene enzimas importantes para la nutrición bacteriana (Aquili, 2007).

FIGURA N°5. Estructura de la pared celular de bacterias gram negativas.



Fuente: (Aquili, 2007).

1.7.1.1 *Escherichia coli*.

1.7.1.1.1 Clasificación taxonómica de *Escherichia coli*.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *Escherichia coli*.

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 2005)

1.7.1.1.2 Características de *Escherichia coli*.

Gram negativos, móviles por sus flagelos peritricos e inmóviles de tamaño intermedio (0,3 a 1 a 6 μm), no esporulantes, con una cápsula, son citrato negativos, a partir del triptófano producen indol positivos, fermentan la lactosa y la glucosa con producción de gas; en su estructura esta la membrana citoplasmática, la membrana externa y entre ambas ésta el espacio periplasmático constituida de péptido-glucano la que le dará una rigidez, forma y resistencia a una presión osmótica alta a la bacteria (Canet, 2016).

Escherichia coli es una bacteria cuyo habitat principal es el tracto gastrointestinal del ser humano y de otros animales de sangre caliente (Villacres et. al., 2022).

1.7.1.1.3 Patogenia.

Esta bacteria es ampliamente presente en todos los países y reside en el tracto intestinal de organismos de sangre caliente. A su vez, esta bacteria es responsable de la producción de una toxina llamada Shiga, la cual está vinculada a varias enfermedades graves (Horóstegui, 2017).

La infección por *E. coli* se adquiere por consumir aguas o alimentos contaminados por heces, la bacteria invadirá el intestino durante las primeras 40 horas (Orsi citado por López y Miranda, 2018).

Una vez que esta bacteria ha ingresado al cuerpo, el periodo de incubación de *Escherichia coli* abarca de 3 a 7 días, durante los cuales se manifiestan síntomas como fiebre, diarrea y molestias abdominales (Horóstegui, 2017).

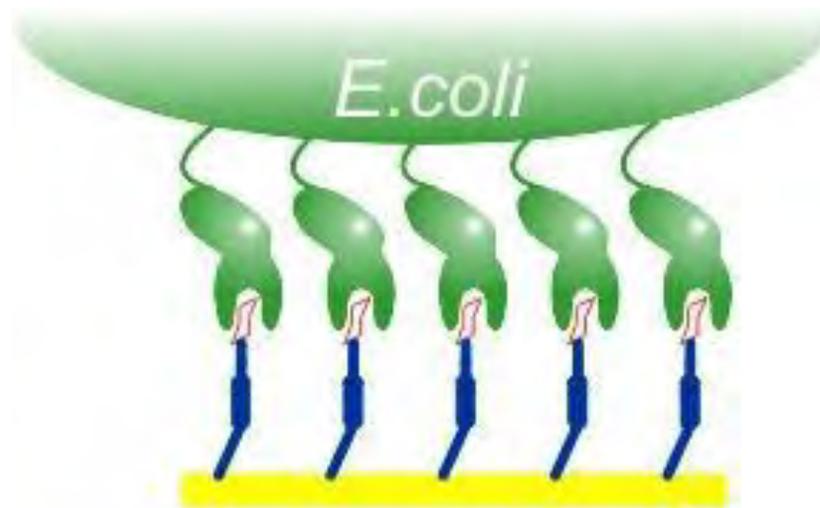
Cuando las bacterias se unen a los enterocitos, activan un proceso de características intracelulares producido por un grupo de proteínas secretadas por el aparato secretor tipo III y que migran hacia los enterocitos. Una consecuencia relacionada con la transducción de señales es que, aunque la patogénesis de la *E. coli* enteropatógena, está asociada con cambios a nivel intracelular que afectan las funciones fisiológicas normales de los enterocitos, se cree que esto es la causa de la diarrea (Zambrano citado por López y Miranda, 2018).

La bacteria se adhiere al epitelio intestinal de la mucosa por medio de fimbrias que están dispuestos alrededor de la bacteria con estructura en forma de varilla que están constituidas por subunidades proteínicas en su extremo distal constituido por carbohidratos, se dará el reconocimiento de los receptores (que son moléculas transmembranales que participan de receptores de factores de crecimiento, hormonas u otros) del hospedero (Vidales et. al.,2014) la bacteria sintetiza una proteína llamada “intimina”(codificada por el gen eae del cromosoma de la

bacteria) se adhiere a un receptor específico de las células del intestino llamado “Tir” (Canet, 2016).

En la figura N°6 se observa el mecanismo de adhesión de *E. coli*, ocasionando lesiones en las micro vellosidades del enterocito, causando posteriormente una diarrea sanguinolenta, luego se produce la liberación de las toxinas que atraviesan los enterocitos a través de la vía transcelular y alcanzan la circulación general (Albrecht, 2014).

FIGURA N°6 Mecanismo de adhesión de *Escherichia coli*.



Fuente: (Albrecht, 2014).

1.7.1.2 *Salmonella* sp.

1.7.1.2.1 Clasificación taxonómica de *Salmonella* sp.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Salmonella*

Especie: *Salmonella* sp.

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 1994).

1.7.1.2.2 Características de *Salmonella* sp.

Son Gram Negativos, con una longitud que oscila entre 1 y 2 μm , que no generan esporas, son microorganismos anaeróbicos facultativos en su mayoría, con capacidad de movilidad gracias a flagelos peritricos, tienen la habilidad de producir ácido y, en la mayoría de las instancias, gas a partir de la glucosa, a excepción de *S. typhi*, *S. pullorum* y *S. gallinarum* (Da Silva et. al., 2022).

La salmonelosis es una enfermedad de transmisión alimentaria de alimentos contaminados, en el agua en vertidos de granjas y en aguas residuales, distribuida en el ambiente y en material con contaminación fecal, su hábitat natural es el intestino de los seres humanos y animales, sobrevive en el ambiente por largos periodos de tiempo, los animales incluidos los insectos son reservorios de *Salmonella* que lo van a eliminar por las heces (Logacho, 2015).

1.7.1.2.3 Epidemiología.

El ministerio de salud informó durante el año 2022 que en el territorio peruano se dió un brote de enfermedad de transmisión alimentaria en el distrito de Copallin, departamento de Amazonas, confirmando la intoxicación de 24 personas entre adultos, jóvenes y niños que presentaron un cuadro de diarrea y vómitos causados por *Salmonella typhi*, además se informó que las autoridades de Sudáfrica alertaron de un brote de salmonelosis en el cabo occidental y el

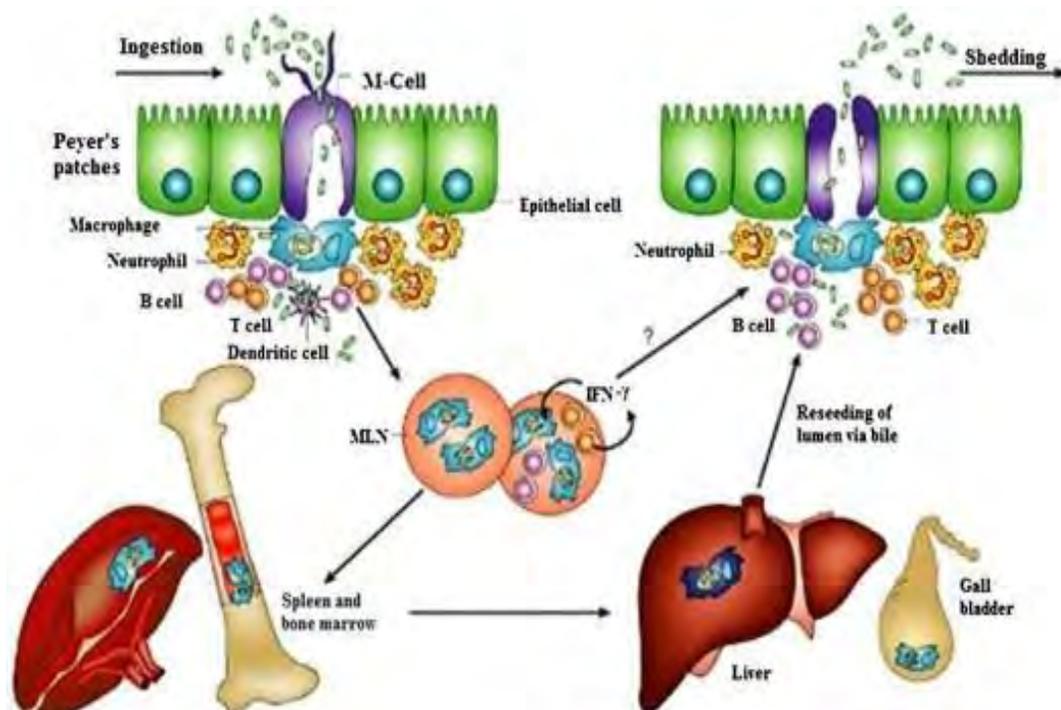
noroeste; y en estados unidos se alertó de la presencia de *Salmonella* sp. en un lote de producto de pulpa de chirimoya (MINSA, 2022).

1.7.1.2.4 Patogenia.

S. typhi presenta su polisacárido capsular el cual es un factor de virulencia, porque sobrevive en medios ácidos del estómago y la resistencia a la fagocitosis; causante de la fiebre tifoidea en humanos, no desencadena una respuesta inflamatoria rápida ni diarreica con abundantes anticuerpos Anti-Vi, en el intestino delgado atraviesa las células M que son células epiteliales que revisten las placas de Peyer, cuando han interactuado con las células M generan reorganización del citoesqueleto de actina provocando variaciones estructurales en la superficie celular denominadas “ruffling” (ondulado) la cual facilita la internalización y colonización. Cuando se internalizan las bacterias se mueven hacia las placas de Peyer donde son fagocitadas por macrófagos, células dendríticas, células fagocíticas y neutrófilos, pudiendo sobrevivir y multiplicarse en su interior de estas células y finalmente estableciendo infección intracelular y diseminación sistémica; como se observa en la figura N° 7 los monocitos se concentran en las placas de Peyer, se generan citoquinas proinflamatorias debido a que *Salmonella* es fagocitada por macrófagos mediante el reconocimiento del lipopolisacárido y la flagelina de *Salmonella typhi*, seguidamente migran a los ganglios linfáticos, a través del conducto torácico, las bacterias pasan a la sangre desde el sistema linfático ocasionando una bacteriemia primaria, luego son captados nuevamente por macrófagos que revisten los sinusoides del bazo, medula ósea, vesícula biliar y el hígado en los cuales las bacterias siguen multiplicándose, regresan a la sangre desde estos órganos ocasionando una bacteriemia secundaria el cual da lugar a manifestaciones clínicas como fiebre, síntomas pseudogripales, posteriormente son eliminadas de la sangre por macrófagos, mediante el hígado pueden llegar a adherirse a los cálculos biliares lo cual dará lugar a una reinfección del

tracto intestinal para finalmente establecerse en las placas de Peyer del íleon distal produciendo así inflamaciones, ulceraciones o necrosis, las bacterias son expulsadas en las heces, pero 3 semanas después se produce hemorragias en la zona ulcerada y algunas veces se produce también perforación lo que da lugar a una septicemia que podría ocasionar en algunos casos la muerte por fiebre tifoidea (Marín y Pintado, 2018).

Figura N°7 Diseminación de *Salmonella*.



Fuente: (Marín y Pintado, 2018).

1.7.1.3 *Shigella* sp.

1.7.1.3.1 Clasificación taxonómica de *Shigella* sp.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Shigella*

Especie: *Shigella* sp.

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 2005).

1.7.1.3.2 Características de *Shigella* sp.

Grupo de bacterias Gram Negativas, bacilos cortos que miden aproximadamente entre 0.7 μm a 3 μm que no esporulan y tampoco presentan capsula, son inmóviles sin flagelos; esta bacteria es la responsable de la shigelosis la cual es una enteritis aguda que afecta el intestino grueso y la porción distal del intestino delgado, con un periodo de incubación de 1 a 5 días, sus síntomas van desde diarreas leves hasta diarreas acuosas con fiebre, evacuaciones con sangre y moco, náuseas, dolores abdominales y vómitos, es transmitida por la vía fecal-oral (Molina y Uribarren, 2015).

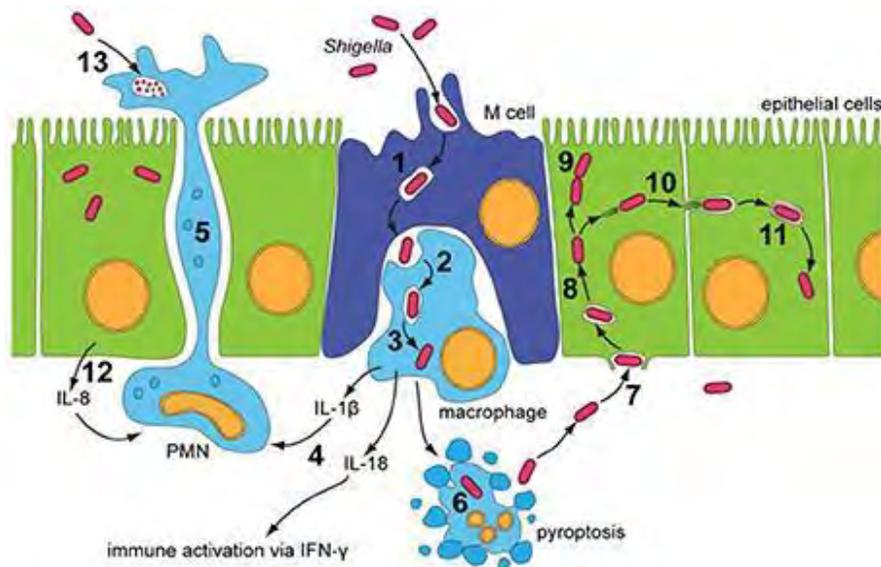
Son anaerobios facultativos, fermentadores y oxidasa negativos, su lipopolisacárido consta de un polisacárido somático O, un núcleo de polisacárido y un lípido A (Murray, 2014).

1.7.1.3.3 Patogenia.

El ingreso de *Shigella* es mediante el ondulamiento de las células M, como se puede observar en la figura N° 8 se produce una desestabilización del epitelio, el bacilo ingresa en las células M, luego son fagocitadas por macrófagos, la desestabilización del epitelio esta generada por citoquinas proinflamatorias (IL1) y quimiotáxicas (IL8) , éstos últimos producidos por las células epiteliales reclutan leucocitos polimorfonucleares los cuales van desde el epitelio

basolateral al apical produciendo así una desestabilización de las células del epitelio, lo que da lugar a una mayor invasión por *Shigella*, se produce una destrucción de los macrófagos luego de que *Shigella* escapa de la vacuola fagocítica, luego se da una producción de citoquinas proinflamatorias debido a la activación de la IL-1 β y IL-18, *Shigella* ingresa al citoplasma de la célula epitelial en el cual se multiplica; una explotación de la maquinaria de ensamblaje de actina epitelial hace que *Shigella* se mueva inter e intracelularmente, finalmente los leucocitos polimorfonucleares son los que eliminan la infección causada por *Shigella* del epitelio del colon (Mattock y Blocker, 2017).

Figura N° 8. Ciclo infeccioso de *Shigella*.



Fuente: (Mattock y Blocker, 2017).

1.7.1.4 *Yersinia* sp.

1.7.1.4.1 Clasificación taxonómica de *Yersinia* sp.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Yersinia*

Especie: *Yersinia* sp.

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 2005).

1.7.1.4.2 Características de *Yersinia* sp.

Las bacterias del género *Yersinia* son Gram Negativas y se encuentran ampliamente dispersas en la naturaleza, siendo ubicuas. Tienen la capacidad de provocar infecciones en animales y humanos mediante la ingestión de alimentos o agua contaminada (Jiménez, 2018).

1.7.1.4.3 Epidemiología.

En Finlandia las autoridades de salud han alertado sobre 2 brotes de *Yersinia enterocolítica*, anunciaron 39 casos de infección en dicho país (Infobic, 2022).

1.7.1.4.4 Patogenia.

Las infecciones humanas ocasionadas por *Yersinia* emplean factores de virulencia para adherirse eficientemente a las células y tejidos del huésped, perturbando la función celular. *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia pestis* y *Yersinia enterocolitica* causan infecciones psicotróficas altamente adaptadas. Ambas, *Yersinia pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica*, provocan infecciones gástricas autolimitadas. *Y. enterocolitica*, una especie casi similar a *Y. pseudotuberculosis* que ha evolucionado recientemente, es el agente causal de la yersiniosis,

induciendo tanto gastroenteritis como infecciones extraintestinales. A pesar de ello, esta infección es poco conocida. Por consiguiente la virulencia de *Y. enterocolitica* no ha sido abordado de manera exhaustiva, y esta revisión tiene como objetivo evaluar la comprensión actual de dicho factor en *Yersinia enterocolitica*, un patógeno emergente transmitido por alimentos (Pal y Lema, 2022).

1.7.1.5 *Klebsiella* sp.

1.7.1.5.1 Clasificación taxonómica de *Klebsiella* sp.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Klebsiella*

Especie: *Klebsiella* sp.

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 2005).

1.7.1.5.2 Características de *Klebsiella* sp.

Desde el punto de vista morfológico, este microorganismo pertenece a la familia Enterobacteriaceae y presenta características Gram Negativas. Además, posee una cápsula, carece de movilidad, y exhibe la capacidad de fermentar la lactosa y la glucosa en un periodo de 24 horas. También, arroja resultados positivos en pruebas como urea, Voges Proskauer (VP), o-nitrofenil- β -

Dgalactósido (ONPG), citrato, descarboxilación de la lisina (LDC), descarboxilación de la ornitina (ODC) y catalasa. Por otro lado, muestra resultados negativos en pruebas de indol, DNAsa y arginina dihidrolasa (ADH) (Lopardo et. al., 2016).

Klebsiella se halla en aguas residuales, efluentes industriales, suelo, vegetación y agua. Es una componente común de la microbiota presente en los individuos y tiene la capacidad de establecerse en diversas zonas del cuerpo, incluyendo las mucosas (Lai y Hsueh, 2019).

1.7.1.5.3 Patogenia.

Puede provocar infecciones graves en pacientes críticamente enfermos, recién nacidos, personas inmunodeprimidas u otros con distintos factores de riesgo en entornos de atención médica. La hipervirulencia de esta bacteria está vinculada a ciertos serotipos capsulares (K1 y K2) y plásmidos de virulencia (pLVPK), estos plásmidos contienen genes relacionados con la hipermucoviscosidad, como *rmpA* y *wabG*; además, las cepas con este fenotipo se han identificado mediante la tipificación de multilocus de secuencias (MLST), siendo los tipos de secuencia (ST) 23 y 163 especialmente destacados (Macotella, 2023).

1.7.1.6 *Enterobacter* sp.

1.7.1.6.1 Clasificación taxonómica de *Enterobacter* sp.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Enterobacter*

Especie: *Enterobacter* sp.

Fuente: (Manual de Bacteriología de Bergey, 2005).

1.7.1.6.2 Características de *Enterobacter* sp.

Son bacilos Gram Negativos, están extensamente presentes en la naturaleza. Se hallan comúnmente en el suelo, el agua y forman parte de la microbiota de animales, insectos y del tracto gastrointestinal humano. Este género abarca 21 especies, entre las que se destaca el complejo *Enterobacter cloacae* (Silva y Martínez 2018).

Enterobacter cloacae consta de 12 agrupamientos, en los cuales se identifican seis especies: *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae* (con tres agrupamientos y dos subespecies), *Enterobacter hormaechei* (con tres subespecies), *Enterobacter kobei*, *Enterobacter ludwigii* y *Enterobacter nimipressuralis* el cual no guarda relación con infecciones en seres humanos y ha sido recientemente reubicada en el género *Lelliottia*. Las infecciones más comunes en humanos son causadas por *E. hormaechei* y *E. cloacae*, siendo agentes frecuentes de Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), especialmente bacteriemias, neumonías vinculadas a ventilación mecánica, así como infecciones urinarias e intraabdominales complicadas (Silva y Martínez 2018).

1.8 SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

Es el comportamiento que poseen los microorganismos frente a distintos antibióticos, por lo que finalmente éstas bacterias patógenas son eliminadas, obteniendo así datos de suma importancia para un respectivo tratamiento (López et. al., 2013).

- Resistencia antimicrobiana.- Es una manifestación natural, desarrollándose mediante una mutación bacteriana en respuesta a los medicamentos y con el paso del tiempo se está dando una celeridad en este desarrollo mediante el incorrecto empleo de estos medicamentos en el ser humano y animales, por lo que hoy en día la resistencia antimicrobiana es un problema de salud mundial, seguridad alimentaria y desarrollo (OMS, 2020).

1.8.1 ANTIBIÓTICOS

Vienen a ser agentes antimicrobianos cuyo origen se da por microorganismos, ya sean bacterias u hongos, poseen una función en contra de otros microorganismos inhibiéndolos o matándolos; existen muchos antibióticos que se conocen de los cuales solo menos del 1% son aplicados en medicina debido a la falta de captación de los hospedadores o también a su toxicidad, los que tuvieron una utilidad medica fueron exitosos en tratamientos como enfermedades infecciosas; los cambios que se hacen de manera artificial a los antibióticos naturales son conocidos como antibióticos semisintéticos (Madigan, et. al., 2014).

A. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS.

Las diferentes maneras de categorizar los antimicrobianos posibilitan su clasificación con base en factores como según a su estructura química, efecto antimicrobiano, mecanismo de acción y espectro de actividad (Velásquez, 2018).

Según Velásquez (2018) clasifica a los antibióticos de la siguiente manera.

- Por su estructura química.- Los antibióticos son clasificados en categorías que comparten características generales similares, tales como beta-lactámicos, tetraciclinas, quinolonas, aminoglucósidos, glucopéptidos, macrólidos, y otras.

- Por su efecto antimicrobiano.- Están clasificados en bactericidas y bacteriostáticos, aquellos antimicrobianos que ejercen su acción al inhibir la síntesis de la pared, alterar la membrana citoplásmica o interferir en la síntesis de ADN son considerados bactericidas, mientras que aquellos que inhiben la síntesis proteica son clasificados como bacteriostáticos.
 - Bactericidas.- Inducen la muerte de las bacterias, lo que implica que el proceso es irreversible. Ejemplos de tales agentes son los beta-lactámicos, aminoglucósidos, fosfomicina, nitrofurantoínas, polipéptidos, quinolonas, rifampicina y vancomicina.
 - Bacteriostáticos.- Inhiben el crecimiento y la reproducción de las bacterias, sin llegar a destruirlas, lo que significa que al retirar el agente antimicrobiano, su efecto es reversible. Este fenómeno se observa en las tetraciclinas, sulfamidas, trimetoprima, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas.
- Por su espectro de acción.- Los agentes antimicrobianos se clasifican según el tipo de microorganismo al cual son efectivos, abarcando antibacterianos, antivíricos, antifúngicos y antiparasitarios. En cuanto a la cantidad de especies bacterianas afectadas por un antimicrobiano, su espectro puede ser amplio, intermedio o reducido.
 - De amplio espectro.- Tienen la capacidad de afectar bacterias, hongos o protozoos, interviniendo en el crecimiento de más de uno de estos organismos o de diversas especies bacterianas.
 - De espectro intermedio.- Tienen efectividad contra un conjunto más restringido de especies. Este grupo engloba la mayoría de los agentes antimicrobianos.
 - De espectro reducido.- Solo muestran eficacia ante un conjunto reducido de especies, como es el caso de los glucopéptidos.

- Por su mecanismo de acción.- Antibióticos de diversas estructuras químicas pueden compartir el mismo mecanismo de acción.
 - Inhibición de la síntesis de la pared celular.
 - Alteración de la función de la membrana celular.
 - Inhibición de la síntesis proteica.
 - Inhibición de la función o síntesis de ácidos nucleicos.

A.1) β – LACTÁMICOS.

- **PENICILINAS.**

Ampicilina.- Se caracterizan por la presencia de un anillo tiazolidínico de cinco miembros unido al anillo beta-lactámico, además de contar con una cadena lateral. Este tipo de penicilinas se emplea para tratar infecciones respiratorias y del tracto urinario, así como infecciones causadas por *Listeria monocytogenes* y en individuos portadores de *Salmonella typhi* (Velásquez, 2018).

- **CEFALOSPORINAS.**

Cefotaxima.- Es una cefalosporina de tercera generación, poseedor de un mecanismo de acción bactericida; su acción se da contra *Staphylococcus aureus*, también contra microorganismos Gram Negativos como *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella* sp.; su mecanismo bactericida se da por unirse a las transpeptidasas lo cual impide el entrecruzamiento de cadenas de peptidoglucano, el cual es importante para dar rigidez y fuerza a la pared celular para que se pueda traducir como inhibición de la síntesis de la pared celular; entre sus propiedades también está la de producir lisis, evitar la división celular y el crecimiento bacteriano (Rodríguez, 2013).

- **CARBAPENÉMICOS.**

Imipenem.- Es un antibiótico que posee acción bactericida, actúa bloqueando la síntesis de la pared celular bacteriana, es efectivo contra algunos estafilococos y enterobacterias (Rodríguez, 2013).

A.2) AMFENICOLES.

Cloranfenicol.- El cloranfenicol es un antimicrobiano con un amplio espectro de acción que abarca microorganismos Gram Positivos, Gram Negativos, anaerobios, espiroquetas, rickettsias, clamidias y micoplasmas. Se caracteriza por su alta biodisponibilidad, excelente capacidad de penetración en los tejidos y su bajo costo económico. En la actualidad, el uso del cloranfenicol se ha limitado principalmente al tratamiento de infecciones causadas por microorganismos resistentes a múltiples fármacos, y ocasionalmente se emplea como opción terapéutica alternativa para enfermedades como el carbunco o la peste. No obstante, en numerosos países en desarrollo, aún persiste su utilización en el tratamiento de la fiebre tifoidea (Velásquez, 2018).

A.3) SULFONAMIDAS Y TRIMETOPRIMA.

Trimetoprim sulfametoxazol.- Es una asociación de fármacos que evita la síntesis de ácidos nucleicos, el sulfametoxazol es una sulfonamida que evita la producción del ácido deshidrofólico, el trimetoprim evita la formación del ácido tetrahidrofólico mediante la inhibición de la enzima reductasa de deshidrofolato, esta combinación de ambas sustancias da paso a su efecto bacteriostático y bactericida; su acción se da contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, etc. (Rodríguez, 2013).

A.4) FLUOROQUINOLONAS.

Ciprofloxacina.- Es una fluoroquinolona de acción bactericida, que actúa dentro de la célula inhibiendo el ADN girasa, enzima importante en procesos como la transcripción, duplicación y reparación del ADN bacteriano, es un antibiótico efectivo contra enterobacterias y otros microorganismos (Rodríguez, 2013).

A.5) AMINOGLUCOSIDOS.

Gentamicina.- Es un aminoglucósido que tiene acción bactericida, cuya efectividad se da contra bacilos Gram Negativos, este antibiótico atraviesa la membrana celular, uniéndose posteriormente a la subunidad ribosomal 30S bloqueando así el inicio de la síntesis proteínica y finalmente induciendo a la muerte celular (Rodríguez, 2013).

A.6) INHIBIDORES DE β -LACTAMASAS.

Amoxicilina-Ácido clavulánico.- El ácido clavulánico y las sulfonas del ácido penicilánico carecen de actividad antimicrobiana y se emplean exclusivamente para ampliar el espectro de los beta-lactámicos que podrían ser inactivados por beta-lactamasas. Algunas de las bacterias susceptibles a esta asociación incluyen *S. aureus* sensible a meticilina, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* y *B. fragilis* (Velásquez, 2018).

CAPITULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

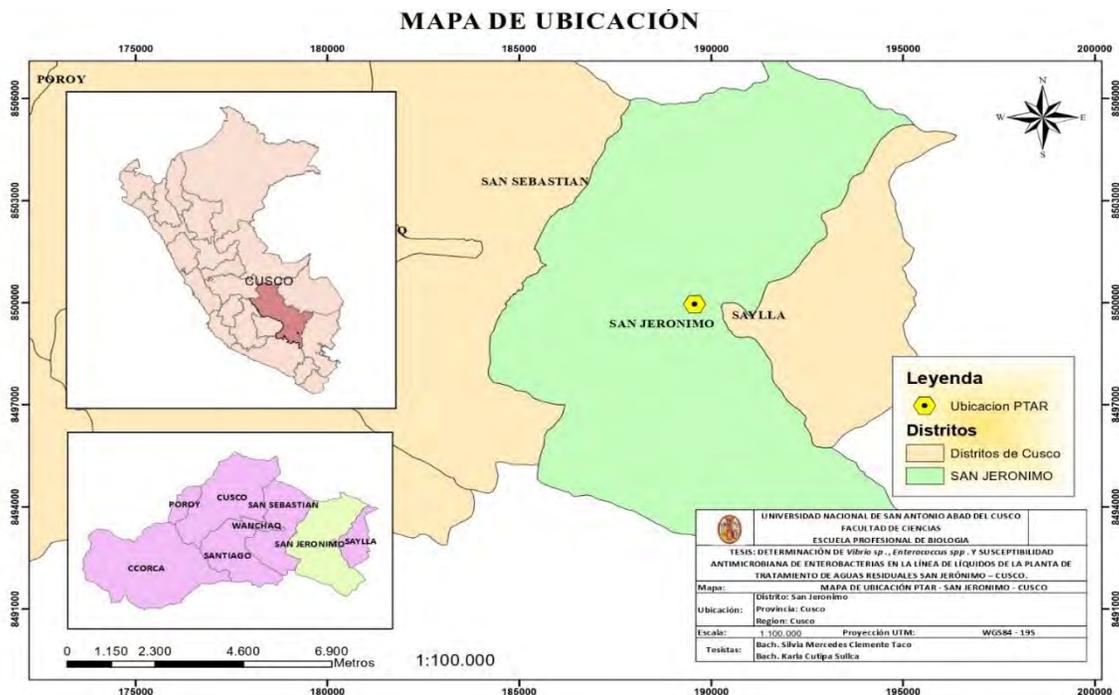
2.1 ÁREA DE ESTUDIO.

UBICACIÓN DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES SAN JERÓNIMO.

La planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo se encuentra a 12.58 km del centro de la ciudad de Cusco, en el departamento de Cusco, provincia del Cusco, distrito de San Jerónimo; presenta las siguientes coordenadas (Fig. N°9).

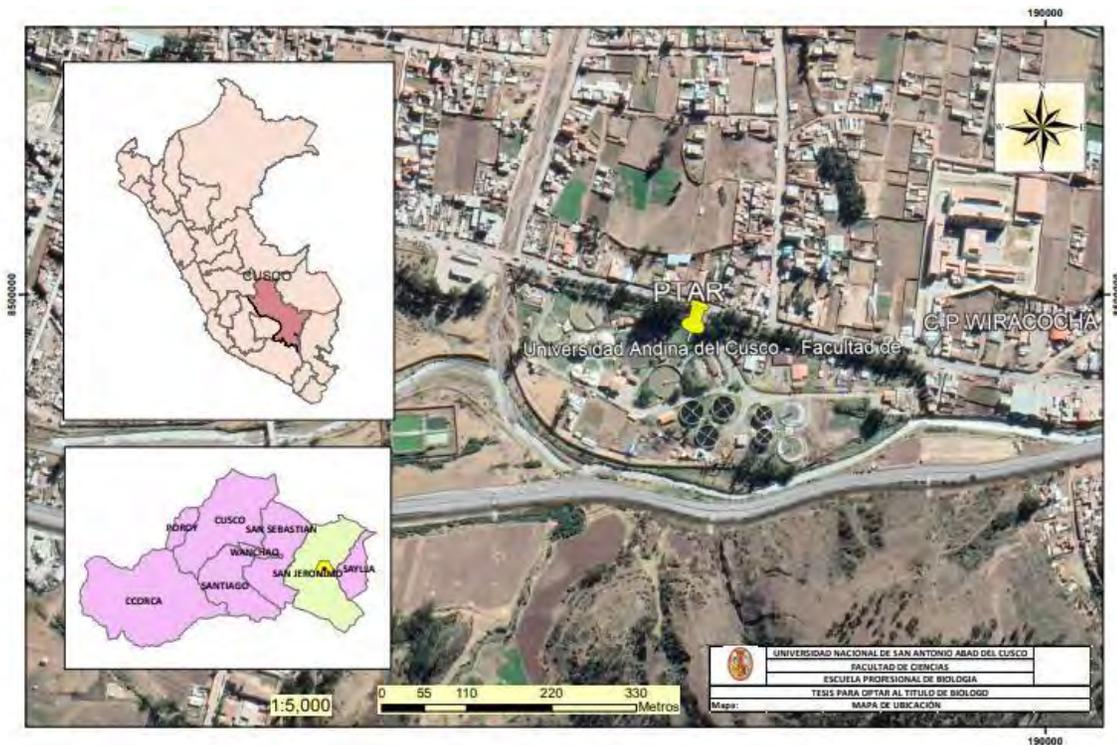
Latitud sur $13^{\circ} 33' 11.66''$; Longitud oeste $71^{\circ} 52' 4.62''$ y una altitud de 3193 - 3205m.

FIGURA N°9. Mapa de ubicación de la provincia del Cusco, localización de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.



Elaboración propia (Escala 1:100 000)

**FIGURA N°10. Área de ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales
San Jerónimo.**



Elaboración propia a partir de Google Earth

ACCESIBILIDAD.

Al área de estudio (Fig. N°10) se accede por la avenida la cultura, dirección prolongación de la cultura Qollana, distrito de San Jerónimo, provincia Cusco, región Cusco, haciendo uso de transporte urbano hasta el distrito de San Jerónimo, el tiempo de viaje hasta la planta de tratamiento partiendo de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco es de 30 a 35 minutos.

El ingreso a la planta de tratamiento de aguas residuales es restringido, para lo cual se presentó una carta dirigida al gerente general de la E.P.S SEDACUSCO S.A Ing. José Luis Becerra Silva, donde se solicitó el ingreso al lugar con motivos de estudios para realizar tomas de muestra

de las aguas residuales de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo, siendo aceptado para la ejecución del presente trabajo de investigación (Anexo N°1).

2.2 MATERIALES

2.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Muestras de aguas residuales.

2.2.2 MATERIAL DE CAMPO.

Frascos estériles.

Bolsas de polipropileno estériles.

Cooler refrigerador.

Gel pack.

Plumón indeleble.

Cámara digital.

Guantes.

Barbijo.

Casco de seguridad.

Gorro.

Mandil.

2.2.3 MATERIALES DE LABORATORIO.

Material de vidrio

Placas Petri 100 x 15mm.

Tubos tapa rosca 22x175 mm.

Tubos de ensayo de 13x100 mm.

Frascos de 500 ml de capacidad.

Probetas volumétricas de 100 a 500 ml.

Espátula Drigalsky.

Matraz de 500ml.

Pipetas de 10ml.

Pipetas de 1ml graduadas 1/10.

Equipos.

Autoclave “Phoenix”.

Incubadora “Esco Isotherm”.

Estufa de laboratorio “Esco Isotherm”.

Balanza analítica “Sartorius”.

Destilador de agua “Optic, ivyment system”.

Vórtex “Turbo mixer” Lw scientific.

Reactivos y medios de cultivo.

Agua peptonada “Merck”.

Agar MacConkey “HiMedia”.

Agar Endo “Merck”.

Agar BPLS (Agar-Verde brillante-Rojo de fenol-lactosa-sacarosa) “Merck”.

Agar TCBS (Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa) “Merck”.

Agar Bilis esculina “Merck”.

Agar Mueller Hinton “Merck”.

Citrato de Simons “Merck”.

Caldo dextrosa azida “Merck”.

LIA (lisina hierro agar) “Merck”.

TSI (agar triple azúcar hierro) “Merck”.

MIO (Motilidad – Indol – Ornitina) “Merck”.

Reactivo de Kovacs “Merck”.

Kit Api 20 Strep.

Discos de sensibilidad: ampicilina [10µg], cefotaxima [30µg], trimetoprim-sulfametoxazol [25µg], cloranfenicol [30µg], gentamicina [10µg], ciprofloxacino [5µg], imipenem [10µg] y amoxicilina-ácido clavulánico [30µg] “LYD insumed”.

Otros materiales.

Mechero bunsen.

Puntas de pipeta.

Cocinilla eléctrica.

Balde.

Cuerda.

Vernier digital.

Algodón.

Asa y aguja de siembra.

Gradillas.

Guantes de látex.

Pipeteador mecánico.

Hisopos estériles.

Gasa.

Hilo pabilo.

Papel craft.

2.2.4 PUNTOS DE MUESTREO.

Se realizó un muestreo en la línea de líquidos de la planta de tratamiento, obteniendo un total de 16 puntos desde el ingreso de las aguas hasta su salida (Fig. N° 11), siguiendo cada proceso

del tratamiento que reciben las aguas residuales, como un tratamiento primario, secundario y de desinfección (Ver tabla N°2).

TABLA N°2. Puntos de muestreo de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.

TRATAMIENTO	PUNTOS DE MUESTREO	N° DE MUESTRAS
PRIMARIO	Afluyente	4
	Cámara primaria	4
	Sedimentador primario 1	4
	Sedimentador primario 2	4
SECUNDARIO	Cámara 3	4
	Filtro percolador primario 1	4
	Filtro percolador primario 2	4
	Filtro percolador primario 3	4
	Cámara 7	4
	Filtro percolador secundario 1	4
	Filtro percolador secundario 2	4
	Cámara 5	4
	Sedimentador secundario 1	4
	Sedimentador secundario 2	4
DESINFECCIÓN	Cámara de cloración	4
	Efluente	4
TOTAL	16 puntos	64

Figura N°11. Ubicación de los 16 puntos de muestreo en la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.



Fuente: Seda Cusco (2018).

2.3 MÉTODOS PARA EL AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE *Vibrio*, ENTEROCOCOS Y ENTEROBACTERIAS.

2.3.1 TOMA DE MUESTRA.

Se realizaron 4 muestreos durante el 2019: inicios del mes de julio (1er muestreo), finales de julio (2do muestreo), inicios de agosto (3er muestreo) y finales de agosto (4to muestreo); en cada muestreo se recolectó 16 muestras, haciendo un total de 64 muestras durante los 4 muestreos realizados. En cada muestreo se mantuvo las muestras de 2-5°C hasta su llegada inmediata al laboratorio de control de calidad de aguas y alimentos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco para realizar los respectivos ensayos.

PROCEDIMIENTO:

a) En frascos de tapa rosca estériles se procedió a realizar la colecta de 100 ml de agua residual del canal de entrada a la planta de tratamiento (afluente), de los sedimentadores primarios, cámaras sépticas, filtros percoladores, cámara de cloración y del canal de salida a la planta de tratamiento (efluente).

b) Se rotularon los frascos con la fecha y punto de muestreo en el que se obtuvo las muestras.

c) Se colocaron los frascos en un cooler refrigerador de 2-5 °C y fueron transportados al laboratorio de microbiología de aguas y alimentos; pabellón de control de calidad de la UNSAAC.

2.3.2 MÉTODOS PARA EL AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE *Vibrio sp.*

2.3.2.1 MÉTODO DE LA TORULA DE MOORE.

Se realizó mediante 2 etapas; una primera de enriquecimiento en agua peptonada y una segunda de confirmación en agar TCBS (Tiosulfato- Citrato-Bilis-Sacarosa).

PROCEDIMIENTO:

a) Se cortaron gasas a medidas de 24 cm de ancho y 180 cm de largo el cual se dobló 5 veces para obtener un tamaño de 36 cm, se cortó en un extremo tiras verticales de 4 cm de ancho, en un extremo se formó un nudo con ayuda de hilo pabilo con sobrante del hilo para sujetarlo.

b) Se colocó la tórula en papel craft para esterilizarlo por 15 min a 121°C.

c) En el punto de muestreo se sumergió la tórula por un periodo de 24 a 48 horas.

d) Pasado ese lapso de tiempo se colocó la tórula en bolsas comerciales previamente esterilizadas, para ser trasladadas en el menor tiempo posible al laboratorio para su análisis.

e) Llegado al laboratorio se colocó la tórula en 200ml de agua peptonada y se incubó durante 6 horas a 37°C.

f) Pasado el tiempo se realizó siembra por estrías en superficie en agar TCBS.

g) Se incubó las placas en posición invertida a 37 °C durante 48 horas.

h) Se observó si hubo presencia de colonias típicas de *Vibrio sp.*

Fuente: Rojas (2011).

2.3.3 TÉCNICA DE SIEMBRA EN AGAR BILIS ESCULINA PARA EL AISLAMIENTO DE ENTEROCOCOS.

Se realizó una etapa inicial en caldo Azida para finalmente realizar siembras por agotamiento en superficie en agar bilis esculina.

PROCEDIMIENTO:

- a) Se prepararon tubos con caldo Azida a 10ml cada tubo.
- b) Se inoculó 10ml de muestra de cada punto de muestreo en los tubos de caldo Azida.
- c) Se incubó a 37°C durante 48 horas.
- d) Pasado el tiempo de incubación se procedió a sembrar con un asa de siembra en placas de agar Bilis Esculina.
- e) Se incubó a 37°C durante 72 horas.
- f) Se seleccionaron colonias típicas para su identificación.

Fuente: Sanz (2011)

2.3.3.1 IDENTIFICACION DE *Enterococcus* sp. MEDIANTE API 20 STREP.

Está compuesto por las siguientes pruebas.

- Vp (Vogest proskauer); transforma sustancias acidas a no acidas cuando es positivo es de color rosa- rojizo que quiere decir que presenta acetona.
- Hip (Acido hipúrico); hidroliza al hipúrate dando un color azul oscuro – violeta que es positivo y negativo color azul pálido.

- Esc (Esculina); genera hidrolisis de la β – glucosidasa dando un color negro – gris que es positivo y negativo color amarillo pálido.
- PYRA (Pirrolidonil arilamidasa); ácido piroglutámico que se colorea de color naranja si es positivo e incoloro si es negativo.
- α -Gal (α -Galactosidasa); enzima α galactosidasa que se colorea de color violeta si es positivo y negativo es violeta pálido.
- β -Gur (β -Glucuronidasa); enzima β glucuronidasa si es positivo se colorea de azul y negativo incoloro.
- β -Gal (β -Galactosidasa); que se colorea de color violeta positivo.
- Pal (Fosfatasa alcalina); fosfatasa alcalina si es positivo es de color violeta.
- Lap (leucina aminopeptidasa); leucina aminopeptidasa se colorea de color anaranjada si es positivo.
- ADH (Arginina dihidrolasa); actividad de la enzima arginina dehidrolasa, si es positivo es de color rojo y negativo color amarillo.
- Rib (ribosa), Ara (arabinosa), Man (manitol), Sor (sorbitol), Lac (lactosa), Tre (trealosa), Inu (inulina), Raf (rafinosa), Amd (almidón); generan la acidificación, si es amarillo es positivo y negativo si es naranja- amarillo.
- Glyg (Glicógeno); acidifica al glicógeno, positivo color amarillo franco y negativo rojo o naranja.

Fuente: Martínez et. al., (2011)

PROCEDIMIENTO:

a) Se realizó una suspensión bacteriana de las placas de agar bilis esculina en solución salina fisiológica.

- b) Se comparó la turbidez con una escala McFarland superior a 4.
- c) Se abrió una galería Api, llenando con agua destilada los pocillos de las cámaras de incubación para generar un ambiente húmedo.
- d) En la primera mitad de la galería Api desde el ensayo VP hasta LAP se agregó 100µl, para el ensayo ADH se llenó el tubo.
- e) Se abrió una ampolla de Api GP médium y se añadió 0.5 ml de la suspensión bacteriana y se llenó los tubos de los ensayos RIB al GLYG.
- f) Desde los ensayos ADH al GLYG se llenó los tubos con aceite de parafina provocando un menisco convexo.
- g) Se cerró las cámaras de incubación.
- h) Se incubó a 37°C durante 4 horas para una primera lectura y a las 24 horas para una segunda lectura.
- i) Luego de la incubación al ensayo VP se le añadió una gota del reactivo VP1 Y VP2.
- j) Al ensayo HIP se le añadió 2 gotas del reactivo NIN.
- k) A los ensayos PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL y LAP se les añadió una gota de reactivo ZYM A ZYM B
- l) Luego de 10 minutos se realizó las lecturas del kit haciendo uso de una tabla de lectura.

2.3.4 DILUCIONES Y SIEMBRA PARA EL AISLAMIENTO DE ENTEROBACTERIAS.

Se realiza las diluciones para disminuir la carga microbiana y al sembrar se obtenga una distribución uniforme de los microorganismos en los agares selectivos.

PROCEDIMIENTO:

- a) Los frascos fueron homogeneizados vigorosamente.
- b) Se realizaron las diluciones respectivas preparando 9 ml de agua peptonada al 0.1% en 7 tubos (10^{-1} , 10^{-2} , ..., 10^{-7}).
- c) Se tomó una alícuota de 1 ml de cada muestra con la ayuda de una pipeta estéril y se colocó en el tubo de la serie 10^{-1} , seguidamente se homogeneizó el tubo con el vórtex. Se tomó otra alícuota de 1 ml del tubo de la dilución 10^{-1} y se trasvasó al tubo de la dilución 10^{-2} , se homogeneizó el tubo con la ayuda del vórtex, repitiendo el mismo procedimiento hasta llegar al tubo de la dilución 10^{-7} .
- d) De las 3 últimas diluciones realizadas (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}). Se procedió a inocular 1ml en los medios de cultivo ENDO, BPLS y Mac Conkey seguidamente se diseminó con la espátula Drigalsky.
- e) Se incubó las placas en posición invertida a 37 °C durante 24 a 48 horas.
- f) Se seleccionaron las colonias típicas (Ver Anexo N°8).
- g) Se realizó pruebas bioquímicas para la identificación de enterobacterias.
- h) Se realizó el mismo procedimiento para los frascos de los puntos de muestreo restantes.

Fuente: ICMSF (2000).

2.3.5 PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA ENTEROBACTERIAS.

2.3.5.1 TSI (agar triple azúcar hierro)

a) Se tomó una colonia de la placa del medio Mac Conkey con ayuda de una aguja de siembra y se realizó una punción hasta el fondo del medio y estrías en superficie.

b) Se incubó a 37 °C por 24 horas.

c) Se repitió el mismo proceso (e y f) para las colonias típicas de las placas de ENDO y BPLS.

Fuente: Lopardo et. al., (2016)

Interpretación de resultados.

Pico alcalino/fondo ácido (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solo fermenta la glucosa; pico ácido/fondo ácido (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta la glucosa, lactosa y/o sacarosa; pico alcalino/fondo alcalino (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo no fermenta los azúcares. La presencia de burbujas, o ruptura del medio, indicará que el microorganismo es productor de gas. El ennegrecimiento del medio indicará que el microorganismo es productor de ácido sulfhídrico (Aranguren, 2008).

2.3.5.2 LIA (lisina hierro agar)

a) Se tomó una colonia de la placa del medio Mac Conkey con ayuda de una aguja de siembra y se realizó triple punción hasta el fondo del medio y estrías en superficie.

b) Se incubó a 37 °C por 24 horas.

c) Se repitió el mismo proceso para las colonias típicas de las placas de ENDO y BPLS.

Interpretación de resultados.

Descarboxilación de la lisina: la prueba positiva presentará un pico violeta y un fondo de color violeta y la prueba negativa presentará un pico violeta y un fondo de color amarillo; desaminación de la lisina: se presentará el pico rojizo y el fondo de color amarillo; producción de ácido sulfhídrico con ennegrecimiento del medio especialmente en el límite del pico y el fondo (Aranguren, 2008).

2.3.5.3 MIO (Motilidad – Indol – Ornitina).

a) Se tomó una colonia de la placa del medio Mac Conkey con ayuda de una aguja de siembra y se realizó una punción central hasta el medio del tubo.

b) Se incubó a 37 °C por 24 horas.

c) Se repitió el mismo proceso para las colonias típicas de las placas de ENDO y BPLS.

Interpretación de resultados.

Movilidad: un resultado positivo tendrá turbidez o crecimiento expandido en el área de la picadura con la aguja de siembra y un resultado negativo tendrá crecimiento limitado a la línea de la picadura de siembra; ornitina descarboxilasa: un resultado positivo tendrá un viraje del medio a color púrpura y un resultado negativo el medio virará a color amarillo; prueba del indol: para esta prueba de indol se realizará una vez que se haya determinado la movilidad y la prueba de ornitina. Un resultado positivo dará lugar a un color rojo al agregar el reactivo de Kovacs y un resultado negativo dará lugar a un color amarillo al agregar el reactivo de Kovacs (BritaniaLab, 2015).

2.3.5.4 CITRATO DE SIMMONS.

a) Se tomó una colonia de la placa del medio Mac Conkey con ayuda de una aguja de siembra y se realizó estrías en superficie.

b) Se incubó a 37 °C por 24 horas.

c) Se repitió el mismo proceso para las colonias típicas de las placas de ENDO y BPLS.

Fuente: Lopardo et. al., (2016)

Interpretación de resultados.

La muestra es positiva cuando hay crecimiento y el medio cambia a color azul en el pico y hay un proceso de alcalinidad y la muestra es negativa cuando el medio permanece de color verde debido a que no hay desarrollo bacteriano por lo tanto no hay cambio de color (Aranguren, 2008).

2.3.6 DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE LAS ENTEROBACTERIAS A LOS ANTIBIÓTICOS.

Se realizó la técnica de difusión en agar basado en el trabajo de Kirby Bauer y colaboradores; para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de acuerdo a la normativa establecida por el (CLSI) Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio.

PROCEDIMIENTO:

a) Se seleccionó colonias típicas de enterobacterias y se transfirió a tubos de solución fisiológica salina con la ayuda de un asa de siembra obteniendo una turbidez escala McFarland de 0.5%.

b) Con un hisopo estéril de los 2 ml de solución fisiológica salina, se retiró el inóculo y se sembró por estrías en placas de agar Mueller Hinton.

c) Seguidamente se colocaron los discos de sensibilidad distribuidos uniformemente sobre las placas de agar Mueller Hinton ya sembradas.

d) Se incubaron las placas en posición invertida por 24 horas a 37°C.

e) Pasado el tiempo de incubación se realizaron las mediciones con ayuda de un vernier digital.

Fuente: INS, (2002)

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación de *Vibrio* sp.

Para la determinación de *Vibrio* sp. en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco, se observa en la siguiente tabla N°3 los resultados del cultivo de *Vibrio* sp.

TABLA N° 3. Resultados del cultivo de *Vibrio* sp. en los 16 puntos de muestreo de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.

Puntos de muestreo	1er muestreo	2do muestreo	3er muestreo	4to muestreo	N° de muestras analizadas
Afluente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Cámara primaria	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Sedimentador primario 1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Sedimentador primario 2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Cámara 3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Filtro percolador primario 1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Filtro percolador primario 2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Filtro percolador primario 3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Cámara 7	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Filtro percolador secundario 1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Filtro percolador secundario 2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Cámara 5	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Sedimentador secundario 1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Sedimentador secundario 2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	4
Cámara de cloración	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	4
Efluente	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	4
TOTAL					64

En la tabla N°3 se observa que hubo ausencia de *Vibrio* sp. en las 64 muestras analizadas, las cuales tienen similitud con el trabajo realizado por Sota A. y colaboradores (2023) donde reportaron ausencia de *Vibrio* spp. en muestras de agua del humedal de Huasao en Cusco.

Aguilar y Cubas (2021) analizaron muestras de agua superficial en Chota Cajamarca, donde reportaron ausencia total de *Vibrio* en todas las muestras recolectadas al igual que el presente trabajo de investigación donde se reporta ausencia total de *Vibrio* sp. en aguas de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.

Igualmente Rodríguez y colaboradores (2015) realizaron estudios de 314 muestras de agua, encontrando en 175 muestras presencia de *Vibrio* y en las restantes ausencia de *Vibrio*, concluyendo así que *Vibrio* no se encuentra en todos los cuerpos de agua incluyendo aguas residuales; al igual que en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco hay ausencia total de *Vibrio* sp.

3.2 Aislamiento e identificación de *Enterococcus* spp.

De la siembra en agar bilis esculina se observaron colonias típicas de enterococos obteniendo los siguientes resultados (Ver tabla N°4).

TABLA N° 4. Resultados del aislamiento de *Enterococcus* spp. en los 16 puntos de muestreo de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.

Puntos de muestreo	1er muestreo	2do muestreo	3er muestreo	4to muestreo	N° de muestras analizadas
Afluente	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Cámara primaria	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Sedimentador primario 1	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Sedimentador primario 2	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Cámara 3	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Filtro percolador primario 1	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Filtro percolador primario 2	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Filtro percolador primario 3	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Cámara 7	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Filtro percolador secundario 1	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Filtro percolador secundario 2	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Cámara 5	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Sedimentador secundario 1	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Sedimentador secundario 2	Presente	Presente	Presente	Presente	4
Cámara de cloración	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	4
Efluente	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Sin crecimiento	4
				TOTAL	64

Las colonias características que presenta *Enterococcus* spp. fueron seleccionadas al azar de los 4 muestreos, para luego ser identificadas por el sistema Api 20Strep; se identificó las 25 colonias aisladas al azar como M (muestra) 1 a la muestra 25 (M25) seguido del punto donde se aisló. Obteniendo los siguientes resultados en la tabla N°5.

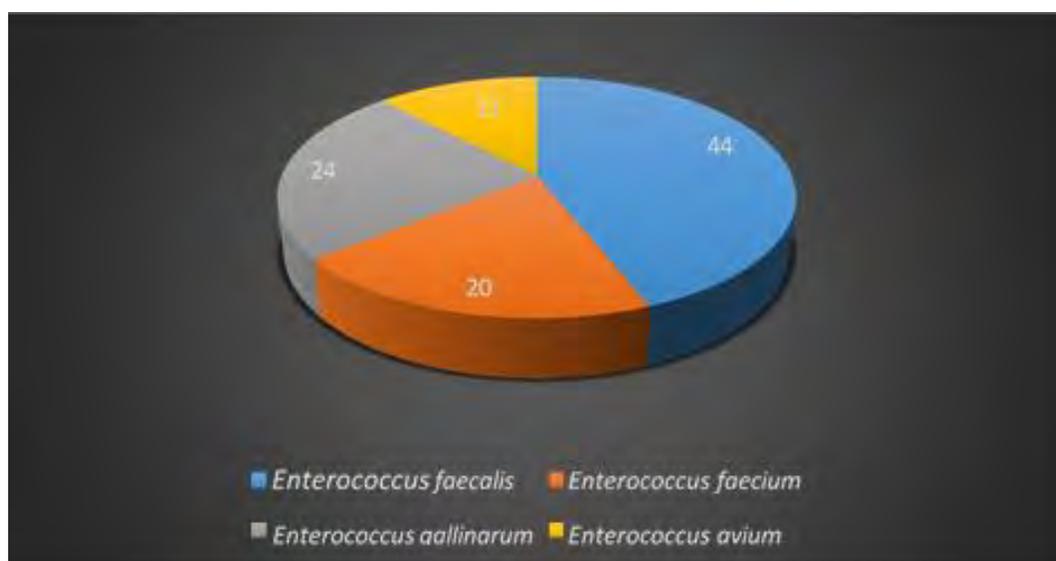
TABLA N° 5. Resultados de las 25 galerías del kit Api 20 strep.

Muestra	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. avium</i>
M1 (Afluente)	✓			
M2 (Afluente)			✓	
M3 (Afluente)	✓			
M4 (Sed. Prim. 1)	✓			
M5 (Sed. Prim. 1)	✓			
M6 (Sed. Prim. 2)			✓	
M7 (Sed. Prim. 2)				✓
M8 (Filtro perc. Prim. 1)	✓			
M9 (Filtro perc. Prim. 1)		✓		
M10 (Filtro perc. Prim. 2)	✓			
M11 (Filtro perc. Prim. 2)		✓		
M12 (Filtro perc. Prim. 3)			✓	
M13 (Filtro perc. Prim. 3)	✓			
M14 (Filtro perc. Sec. 1)		✓		
M15 (Filtro perc. Sec. 1)	✓			
M16 (Filtro perc. Sec. 2)	✓			
M17 (Filtro perc. Sec. 2)			✓	
M18 (Sed. Sec. 1)		✓		
M19 (Sed. Sec. 1)	✓			
M20 (Sed. Sec. 1)		✓		
M21 (Sed. Sec. 1)				✓
M22 (Sed. Sec. 2)			✓	
M23 (Sed. Sec. 2)				✓
M24 (Sed. Sec. 2)			✓	
M25 (Sed. Sec. 2)	✓			

TABLA N°6. Resultado de identificación de *Enterococcus spp.* en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo-Cusco.

Enterococos	(Número de cepas) N	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	11	44
<i>Enterococcus faecium</i>	5	20
<i>Enterococcus gallinarum</i>	6	24
<i>Enterococcus avium</i>	3	12
Total	25	100

FIGURA N°12. Resultados de *Enterococcus spp.* aislados de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo.



Como se observa en la tabla N°6 y figura N°12 se demostró existencia de enterococos en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo con una mayor predominancia de *Enterococcus faecalis* con 44% frente a las demás especies; observando así una similitud con el trabajo realizado por Sota A. y colaboradores (2023) donde aislaron cepas de *Enterococcus faecalis* en muestras de agua del humedal de Huasao – Cusco.

Igualmente Pucciarelli y colaboradores (2014), hicieron análisis de aguas del arroyo Vicario en la ciudad de Posadas – Argentina en el cual identificaron cepas de *Enterococcus faecalis* encontrando similitud con el presente trabajo donde se aisló muchas cepas de enterococos entre ellas *Enterococcus faecalis*.

Se demostró la presencia de *Enterococcus faecalis* en mayor porcentaje en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco, comparando con el trabajo de Coral, (2014), donde obtuvo recuentos altos de *Enterococcus faecalis* entre el periodo de estiaje y lluvias.

Al igual que Méndez y colaboradores (2010) analizaron muestras de agua residual en la cual obtuvieron recuentos elevados de enterococos, el más alto de ellos 1.1×10^7 UFC/100ml.

Se identificaron cepas de *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus avium*; al igual que Chiroles y colaboradores (2007) lograron aislar en muestras del río Almendares cepas de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*.

3.3 Aislamiento e identificación de Enterobacterias.

Se identificaron enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en todos los puntos de muestreo excepto en la cámara de cloración y el efluente (Anexo N°16).

TABLA N°7. Resultados del aislamiento de Enterobacterias en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.

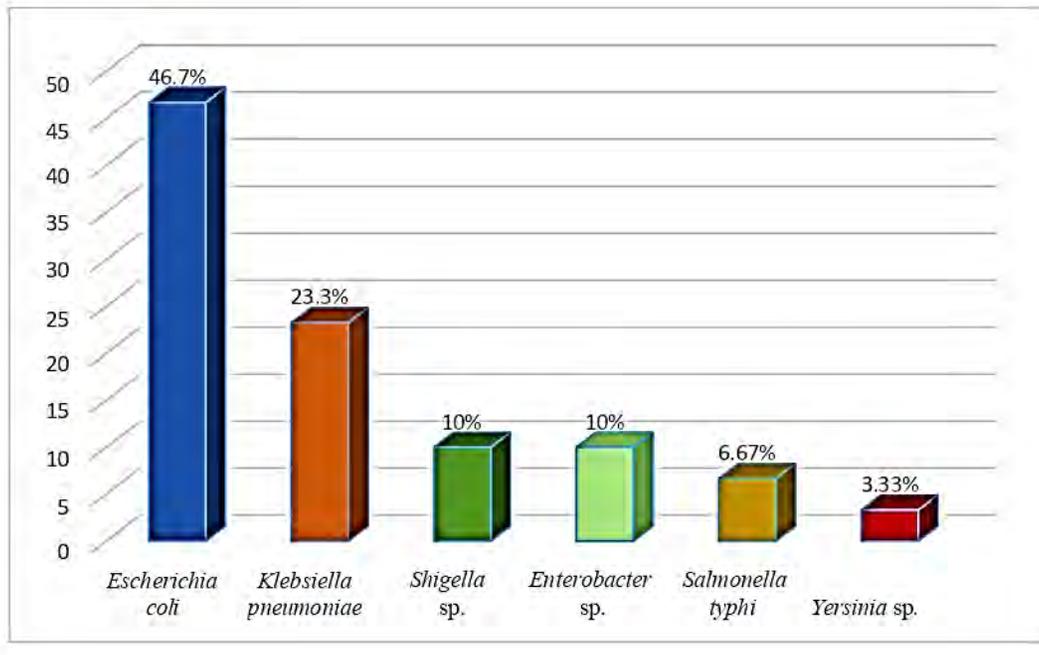
Especies	Número	%
<i>Escherichia coli</i>	28	46.7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	23.3
<i>Shigella</i> sp.	6	10
<i>Enterobacter</i> sp.	6	10
<i>Salmonella typhi</i>	4	6.67
<i>Yersinia</i> sp.	2	3.33
TOTAL	60	100

De las pruebas bioquímicas se obtuvo 6 especies de enterobacterias, de las cuales se aisló 28 cepas de *Escherichia coli*, 4 cepas de *Salmonella typhi*, 14 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, 6 cepas de *Shigella* sp., 6 cepas de *Enterobacter* sp. y 2 cepas de *Yersinia* sp. (Tabla N°7). Para posteriormente realizar sus pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

Demostrando que *Escherichia coli* es la bacteria más predominante entre las demás debido a que las aguas residuales no son solo de origen industrial, si no también urbano.

En la figura N°13 se observan los resultados de las enterobacterias aisladas de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de San Jerónimo.

FIGURA N°13. Resultados de las enterobacterias aisladas en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo - Cusco.



Se observa mayor presencia de *Escherichia coli*, encontrando así una similitud con el trabajo de Sota A. y colaboradores (2023) donde lograron aislar *Escherichia coli* en todos los puntos de muestreo del humedal de Huasao – Cusco.

Chávez y De la Cruz (2023) aislaron *E. coli*, *Serratia* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Providencia* sp., *Proteus* sp., *Salmonella* sp.; también en el trabajo realizado por Tellez y colaboradores (2023) donde lograron aislar cepas de *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* encontrando en común la presencia de *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Salmonella* en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.

Igualmente Smith H. y colaboradores (2021) evidenciaron presencia de coliformes totales, coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* en muestras de agua subterránea del AAHH Villa Cruz en Iquitos.

Lezama (2018) aisló de muestras de agua en Trujillo cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Serratia*, encontrando similitud con el presente trabajo donde se logró aislar cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

En totalidad se logró aislar 6 cepas de enterobacterias las cuales son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Yersinia* sp., *Enterobacter* sp. y *Shigella* sp.: como en el trabajo realizado por Clemente (2018) donde aisló cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* sp., *Enterobacter cloacae* y *Shigella* sp. en el afluente de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.

En el trabajo de investigación de Amado (2017) donde hicieron análisis de aguas para regadío y bebida de animales en Majes – Arequipa, también encontraron presencia de *Escherichia coli* en todos los puntos de muestreo, seguido de *Enterobacter* sp. que solo estuvo presente en 6 puntos de muestreo.

Chiroles y colaboradores (2007) también hallaron una mayor presencia de *Escherichia coli* en muestras de agua de río que presentaban tributarios como aguas residuales, *E. coli* fue la cepa más aislada con 69.7%, seguido de *Klebsiella pneumoniae* con 9.7% encontrando así gran similitud con el presente trabajo de investigación donde se obtuvo una mayor presencia de *Escherichia coli* seguido de *Klebsiella pneumoniae*.

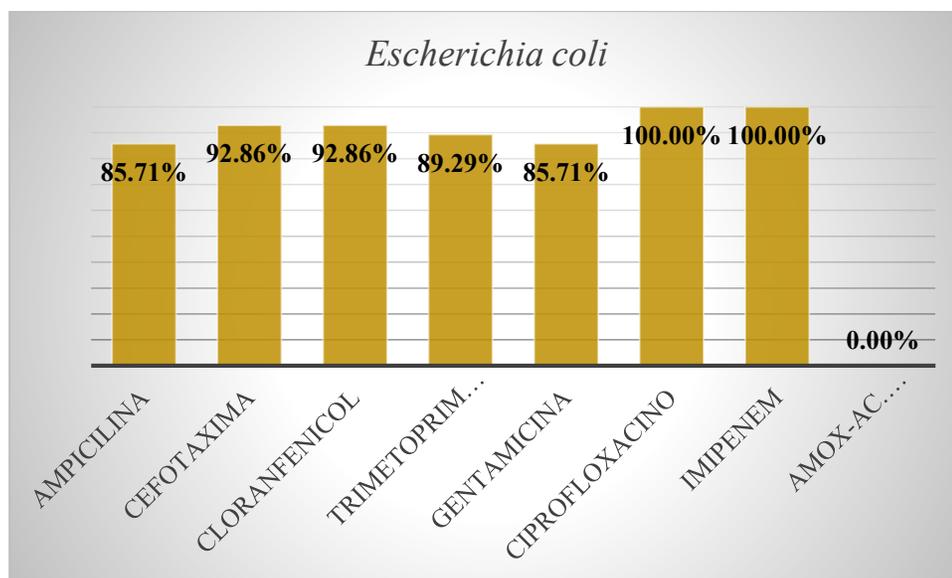
3.3.1 Susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias.

En las siguientes tablas se observa la susceptibilidad antimicrobiana de las 6 cepas de enterobacterias frente a 8 antibióticos.

TABLA N°8. Susceptibilidad antimicrobiana: *Escherichia coli*.

ANTIBIÓTICO	<i>Escherichia coli</i>	
	N (Número de cepas)	%
Ampicilina	24	85.71
Cefotaxima	26	92.86
Cloranfenicol	26	92.86
Trimetoprim sulfametoxazol	25	89.29
Gentamicina	24	85.71
Ciprofloxacino	28	100
Imipenem	28	100
Amox-Ac. clavulánico	0	0

FIGURA N°14. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli*.



En la tabla N°8 se observa que *Escherichia coli* es susceptible en más del 85% a la ampicilina, cefotaxima, cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacino e imipenem, igualmente se observa (ANEXO N°18) que el 100% de las cepas aisladas presentaron resistencia a la amoxicilina - ácido clavulánico.

Igualmente Chavez y De la Cruz (2023) aislaron *E. coli*, *Serratia* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Providencia* sp., *Proteus* sp., *Salmonella* sp., siendo *E. coli* sensible a imipenem, trimetoprim y ofloxacino.

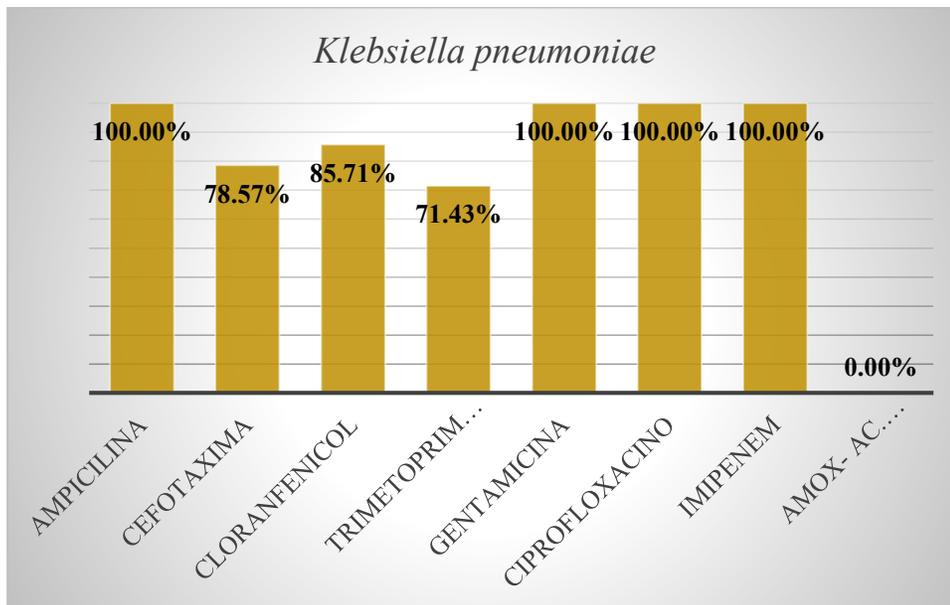
Costa, C. (2021) aisló cepas de *E. coli* donde el 100% de cepas fue sensible a la ampicilina, encontrando una similitud con el presente estudio donde se evidenció que *E. coli* fue sensible a la ampicilina en un 85,71% de las cepas aisladas.

Como mencionan Martínez y Villalobos (2008) en su trabajo realizado, *E. coli* presentó en más del 50% susceptibilidad frente al cloranfenicol, cefotaxima y trimetoprim- sulfametoxazol; lo cual se asemeja con el presente trabajo, en el cual *E. coli* presentó una susceptibilidad al cloranfenicol y cefotaxima en un 92,86% y trimetoprim sulfametoxazol en un 89,29%.

TABLA N°9. Susceptibilidad antimicrobiana: *Klebsiella pneumoniae*.

ANTIBIÓTICO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	N (Número de cepas)	%
Ampicilina	14	100
Cefotaxima	11	78.57
Cloranfenicol	12	87.72
Trimetoprim sulfametoxazol	10	71.43
Gentamicina	14	100
Ciprofloxacino	14	100
Imipenem	14	100
Amox-Ac. clavulánico	0	0

FIGURA N°15. Susceptibilidad antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae*.



En la tabla N° 9 se observa que *Klebsiella pneumoniae* fue susceptible en un 100% a la ampicilina, gentamicina, ciprofloxacino e imipenem, 78.57 % a la cefotaxima, 85.72% al cloranfenicol, 71.43% al trimetoprim-sulfametoxazol. Igualmente se observó (ANEXO N°18) resistencia del 100% de cepas aisladas de *Klebsiella pneumoniae* a amoxicilina – ácido clavulánico.

Observando similitud con el trabajo realizado por Chávez y De la Cruz (2023) donde aislaron *Klebsiella* sp., siendo ésta sensible a imipenem y ofloxacino.

TABLA N°10. Susceptibilidad antimicrobiana: *Shigella* sp.

ANTIBIÓTICO	<i>Shigella</i> sp.	
	N (Número de cepas)	%
Ampicilina	5	83.33
Cefotaxima	6	100
Cloranfenicol	0	0
Trimetoprim sulfametoxazol	6	100
Gentamicina	6	100
Ciprofloxacino	6	100
Imipenem	6	100
Amox-Ac. clavulánico	0	0

FIGURA N°16. Susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella* sp.

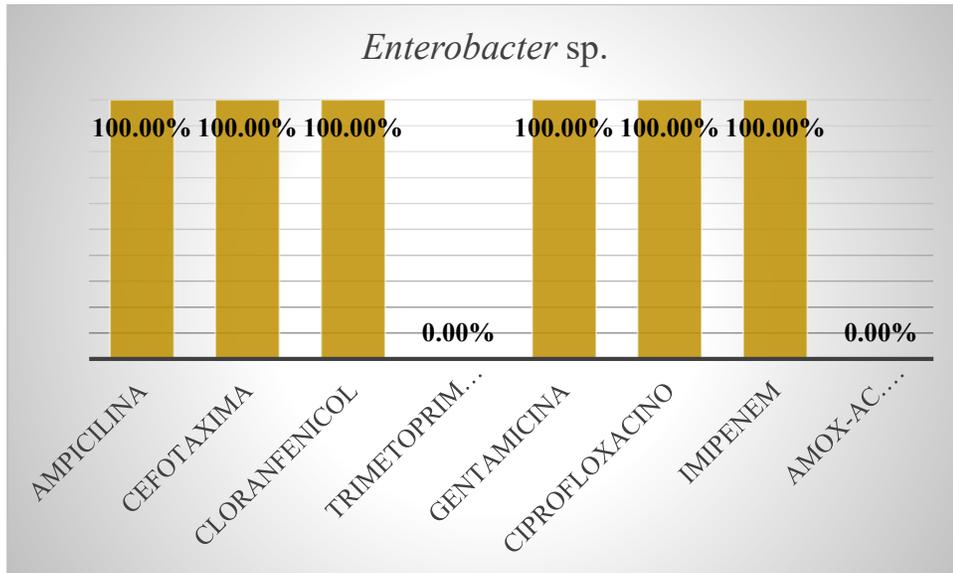


En la tabla N° 10 se observa que *Shigella* sp. presentó susceptibilidad en un 100% a la cefotaxima, trimetoprim-sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacino e imipenem; 83.33% a la ampicilina. También se observó (ANEXO N°18) un 100% de resistencia de las cepas aisladas a amoxicilina - ácido clavulánico.

TABLA N°11. Susceptibilidad antimicrobiana: *Enterobacter* sp.

ANTIBIÓTICO	<i>Enterobacter</i> sp.	
	N (Número de cepas)	%
Ampicilina	6	100
Cefotaxima	6	100
Cloranfenicol	6	100
Trimetoprim sulfametoxazol	0	0
Gentamicina	6	100
Ciprofloxacino	6	100
Imipenem	6	100
Amox-Ac. clavulánico	0	0

FIGURA N°17. Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterobacter* sp.

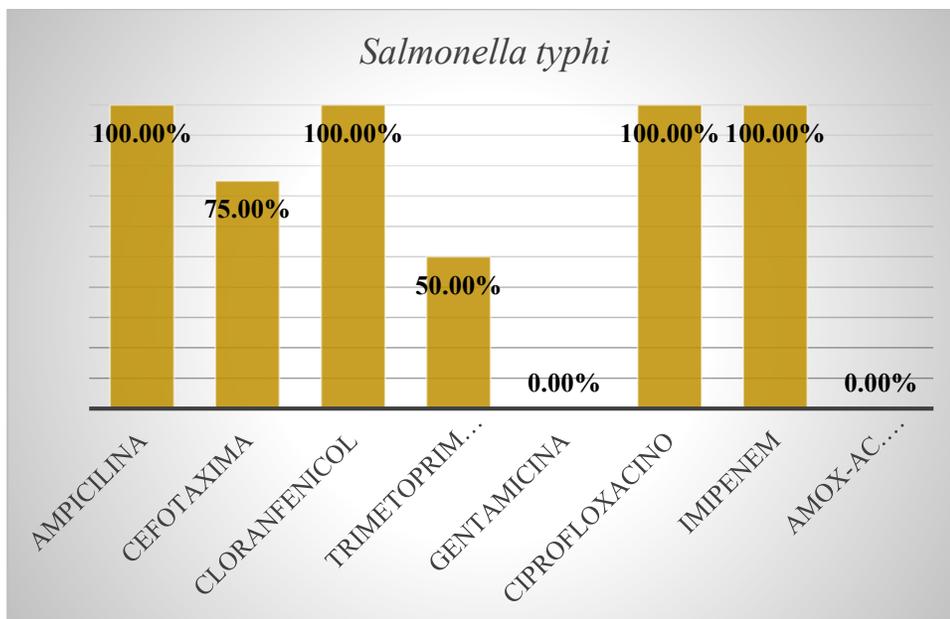


En la tabla N° 11 se observa que *Enterobacter* sp. presentó susceptibilidad en un 100% a la ampicilina, cefotaxima, cloranfenicol, gentamicina, imipenem y ciprofloxacino; también se pudo observar (ANEXO N°18) que el 100% de cepas aisladas fueron resistentes al trimetoprim sulfametoxazol y a amoxicilina – ácido clavulánico, comparando con el trabajo realizado por Soriano y colaboradores (2021) donde *Enterobacter* sp. presentó resistencia al ácido clavulánico, igualmente se halla otra similitud con el trabajo del autor ya mencionado donde *Enterobacter cloacae* presentó sensibilidad a gentamicina, imipenem y ciprofloxacino.

TABLA N°12. Susceptibilidad antimicrobiana: *Salmonella typhi*.

ANTIBIÓTICO	<i>Salmonella typhi</i>	
	N (Número de cepas)	%
Ampicilina	4	100
Cefotaxima	3	75
Cloranfenicol	4	100
Trimetoprim sulfametoxazol	2	50
Gentamicina	0	0
Ciprofloxacino	4	100
Imipenem	4	100
Amox-Ac. clavulánico	0	0

FIGURA N°18. Susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella typhi*.



Como se observa en la tabla N° 12 *Salmonella typhi* presentó susceptibilidad 100% a la ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacino e imipenem, 75% a la cefotaxima y 50% al trimetoprim-sulfametoxazol. También se observa (ANEXO N°18) que presentó resistencia en un 100% a gentamicina y amoxicilina - ácido clavulánico y en un 50% al trimetoprim sulfametoxazol.

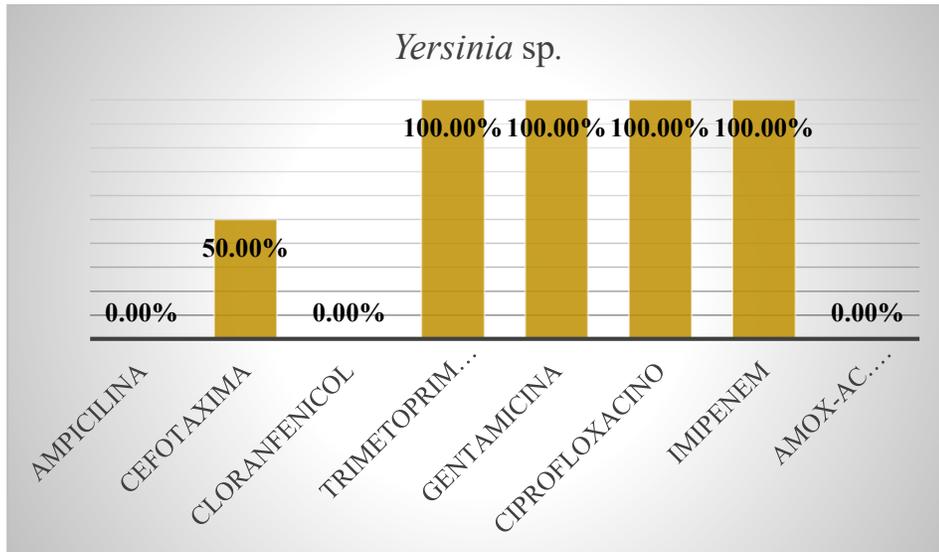
Observando similitud con el estudio realizado por Lukas, M. (2011) donde aisló cepas de *Salmonella typhi* donde presentó sensibilidad en un 96% al cloranfenicol y cefotaxima, en 93,33% sensibilidad a ampicilina y al ciprofloxacino en 82,67%.

Igualmente Chávez y De la Cruz (2023) aislaron *Salmonella* sp., siendo ésta sensible a imipenem y trimetoprim.

TABLA N°13. Susceptibilidad antimicrobiana: *Yersinia* sp.

ANTIBIÓTICO	<i>Yersinia</i> sp.	
	N (Número de cepas)	%
Ampicilina	0	0
Cefotaxima	1	50
Cloranfenicol	0	0
Trimetoprim sulfametoxazol	2	100
Gentamicina	2	100
Ciprofloxacino	2	100
Imipenem	2	100
Amox-Ac. clavulánico	0	0

FIGURA N°19. Susceptibilidad antimicrobiana de *Yersinia* sp.



Como se observa en la tabla N° 13 *Yersinia* sp. presentó 100% de sensibilidad al trimetoprim-sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacino e imipenem y finalmente 50% de sensibilidad a la cefotaxima. Igualmente se observa (ANEXO N°18) resistencia en un 100% de cepas aisladas a la ampicilina y en 50% al cloranfenicol; resistencia intermedia en 100% a la amoxicilina - ácido clavulánico y en 50% a la cefotaxima y cloranfenicol.

Observando similitud con el estudio realizado por Soriano y colaboradores (2021) donde demostró que *Yersinia enterocolitica* aislada de efluentes hospitalarios presentó sensibilidad a ciprofloxacino, gentamicina, imipenem y trimetoprim sulfametoxazol; donde también presentó resistencia intermedia a ácido clavulánico.

CONCLUSIONES

1. No se encontró presencia de *Vibrio* sp. en la línea de líquidos de la Planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo.
2. De un total de 25 cepas de enterococos, 11 cepas son *Enterococcus faecalis* (44%), 6 cepas *Enterococcus gallinarum* (24%), 5 cepas *Enterococcus faecium* (20%) y 3 cepas *Enterococcus avium* (12%) aisladas en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.
3. Se determinó la presencia de enterobacterias, aislando 60 cepas entre las cuales tenemos: 28 cepas de *Escherichia coli* (46.7%), 14 cepas de *Klebsiella pneumoniae* (23.3%), 6 cepas de *Shigella* sp. (10%), 6 cepas de *Enterobacter* sp. (10%), 4 cepas de *Salmonella typhi* (6.67%) y finalmente 2 cepas de *Yersinia* sp. (3.33%).
4. Las enterobacterias aisladas de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales presentaron susceptibilidad a los antibióticos: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* sp., *Yersinia* sp. y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a ciprofloxacino e imipenem; *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a la ampicilina; *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* sp., *Yersinia* sp. y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a la gentamicina; *Salmonella typhi* y *Enterobacter* sp., presentaron susceptibilidad en un 100% al cloranfenicol; *Shigella* sp. y *Enterobacter* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% a la cefotaxima; *Shigella* sp. y *Yersinia* sp. presentaron susceptibilidad en un 100% al trimetoprim sulfametoxazol; *Escherichia coli* fue susceptible en 92.86% a cefotaxima y cloranfenicol, en 89.29% a trimetoprim sulfametoxazol y en 85.71% a ampicilina y gentamicina; *Salmonella typhi* fue susceptible en 75%

a la cefotaxima y 50% a trimetoprim sulfametoxazol; *Klebsiella pneumoniae* fue susceptible en 85.72% a cloranfenicol, en 78.57% a la cefotaxima y 71.43% a trimetoprim sulfametoxazol; *Shigella* sp. fue susceptible en 83.33% a la ampicilina y finalmente *Yersinia* sp. fue susceptible en 50% a la cefotaxima.

RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas moleculares para una identificación de bacterias patógenas.
2. Es necesario realizar estudios de investigación de control de calidad de aguas residuales que luego serán devueltas a un cuerpo de agua, ya que se puede observar la presencia de microorganismos resistentes de antibióticos, siendo este un problema para la salud pública ya que las aguas del río Huatanay son utilizadas por muchos agricultores para el riego de sus hortalizas, mismas que posteriormente son comercializadas en centros de abastos.
3. Se recomienda hacer ensayos más repetitivos y en distintas épocas del año debido al incremento del caudal en épocas de lluvias en la ciudad del Cusco.
4. Es de vital importancia realizar charlas de un mejor y adecuado lavado de hortalizas en los hogares, ya que, si se determinara en próximas investigaciones la presencia de algún microorganismo patógeno en éstos, debido al riego con aguas contaminadas sería un grave problema para la salud.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, S. I. (2005). *Manual de control de infecciones y epidemiología hospitalaria.* Organización panamericana de la salud.

Adón, A. y Echavarría, H. (2021). *Enterococcus faecalis: factores de virulencia e importancia clínica en el área odontológica.* Tesis para optar al título profesional de Odontólogo. Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña. Santo Domingo, República Dominicana.

Aguilar, J. D., y Cubas, N. (2021). Contaminación agrícola por uso de aguas residuales. *Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*, 5(13). 65-77.

Aranguren, M. (2008). Recuperado el miércoles 28 de diciembre de 2017, de *Identificación de Enterobacterias.*

Albrecht, C. (2014). *Aplicación de componentes alimentarios en problemas de salud asociados a estrés oxidativo: Selección de compuestos con propiedades antiradicalarias a partir de alimentos ó productos alimenticios regionales* (Tesis para optar al Título de Doctora en Ciencias de la Salud, con mención en Nutrición. Córdoba, Argentina).

Alquili, V. (2007). *Caracterización de cepas de Escherichia coli con fenotipos de multiresistencia inducidos o seleccionados in vitro con antimicrobianos o con fármacos no antimicrobianos* (Universidad de las Palmas de Gran Canaria de España).

Amado M. (2017). *Determinación bacteriológica de la calidad del agua de consumo humano, regadío y bebida de animales del distrito de majes, provincia de Caylloma* (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa).

Arias, A., y Alarcón, T. (2001). *Presencia de Vibrio cholerae en aguas de ríos y residuales de los principales puertos de los distritos de Iquitos y Punchan* (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de la Amazonia Peruana).

Bergey, D. H., Holt, J. G., Krieg, N., Sneath, P. H., Staley, J. T., y Willims, S. T. (2005). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9ª ed.).

Bermúdez-Almada, M. C., Espinosa-Plascencia, A., Lara-Espinoza, C. L., Rivera-Domínguez, M., Astorga-Cienfuegos, K. R., y Villalpando-Canchola, E. (2017). *Detección de Vibrio mediante la amplificación de genes de patogenicidad en camarón Litopenaeus vannamei cultivado en un sistema tipo invernadero.* Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, 25(72), 20-29.

Boletín Informativo de Resúmenes (Infobic), (2022). *Informativo del observatorio en inocuidad y calidad alimentaria*, (p.65).

Cabrera, E. (2017). *Evaluación microbiológica del agua superficial del río Cumbaya para uso recreacional en los sectores Cancún y Bocatoma, distrito de morales* (Tesis de pregrado, Universidad Peruana unión de San Martín).

Canet, J. (2016). *Escherichia Coli: características, patogenicidad y prevención.* España.

Cedeño, H. (2020). *Análisis de los parámetros de calidad del agua del efluente del río muerto para su posible reutilización del Cantón Manta, Ecuador.* Polo del conocimiento, 5. (2). 579-604.

Chajeka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A. y Laniewska-Trokenheim, L. (2017). "Virulence factors of *Enterococcus spp.* presented in food". *LWT - Food Science and Technology*, 75, pp. 670-676.

Chávez, R., y De la Cruz, A. (2023). Resistencia de bacterias aisladas y caracterizadas, provenientes de las tomas de agua de plantas potabilizadoras de Azuero. *Centros revista científica universitaria*,12(2).

Chisavo A. y Husserl J. (2020). *Control biológico de enterobacterias en aguas residuales mediante bacteriófagos líticos: revisión bibliográfica.* Universidad de los Andes, Bogotá D.C., Colombia.

Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF) (2000). *Microorganismos de los alimentos, características de los patógenos microbianos y métodos de enumeración.* Editorial Acribia S.A Zaragoza.

Coral, B. E. (2014). *Evaluación de la influencia de los procesos naturales y las actividades humanas en la calidad del agua del río Paria, distrito de Independencia-Huaraz* (Tesis de maestría, Universidad nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Ancash).

Costa, C. (2021). *Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de la calidad del agua de efluentes del río chillón durante los meses enero a junio* (Tesis de pregrado, Universidad Ricardo Palma de Lima).

Chiroles, S., Gonzáles, M. I., Torres., Valdés. M., y Domínguez, I. (2007). *Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares.* Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología.

Da Silva, É. L. B., Souza, J. T., da Silva Luz, K. S., dos Santos, B. S., Vêras, Í. V. U. M., y da Silva, J. B. A. (2022). *Análise microbiológica de Salmonella sp. em carne bovina e de frango comercializadas em Mossoró-RN.* Research, Society and Development, 11(11).

Entidad Municipal Prestadora de Servicio de Saneamiento del Cusco (SEDACUSCO) (2015). *Planta de Tratamiento de Agua Residuales de San Jerónimo – Cusco.*
<https://www.youtube.com/watch?v=wSYSFV4HGOU&t=431s>

Entidad Municipal Prestadora de Servicio de Saneamiento del Cusco (SEDACUSCO) (2018). *Video Colash PTAR de San Jerónimo–EPS.SEDACUSCO S.A.*
https://www.youtube.com/watch?v=GPH-f3_NX2s

Fernández Horóstegui, H. (2018). *Fitorremediación mediante cotiledones de durazno (Prunus persica) para reducción de turbidez y Escherichia coli de aguas domésticas,* Distrito de Oyón–2017.

García, B. (2017). *Diagnóstico de las infecciones humanas causadas por especies halófilas del género Vibrio.* Servicio de Microbiología.

Gil, M. (2018). *Enterococcus faecalis: características, morfología, patogenia.* Revista Liferder <https://www.liferder.com/enterococcus-faecalis/>

Gonzales, E., y Quispe, R. (2020). *Influencia de los microorganismos eficaces (EM) en el tratamiento de aguas residuales domesticas en el distrito de Huancavelica* (Tesis para optar al título de Ingeniero Ambiental y Sanitario, Universidad Nacional de Huancavelica).

Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (CLSI) (2012). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests Clinical and Laboratory Standards Institute.* (11a ed.), 32 (1).

Instituto Nacional de Salud (INS). (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión.* Lima.

Jiménez, C., Haro, R., Lázaro, J., Montés, J., (1994). Aislamiento ambiental de *Vibrio cholerae* O1 en aguas continentales de la provincia de Sevilla. *Revista de sanidad e higiene pública.* 68(1): 187-196.

Jiménez, A. (2018). ZONOSIS ALIMENTARIAS, *Yersenia* spp. Medidas de Vigilancia y Prevención en los Establecimientos Alimentarios. Madrid, España.

Lai, Y. C., Lu, M. C., y Hsueh, P. R. (2019). Hypervirulence and carbapenem resistance: two distinct evolutionary directions that led high-risk *Klebsiella pneumoniae* clones to epidemic success. *Expert Review of Molecular Diagnostics,* 19(9), 825–837.

Larrea, J., Rojas, M., Romeo, B., Rojas, N. M., y Heydrich, M. (2012). *Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas.* Centro Nacional de Investigaciones Científicas Ciudad de La Habana.44.

León, C. (2010). *Vibrio, Helicobacter y Pseudomona* (Microbiología médica, Universidad de San Martín de Porres).

Lezama, M. (2018). *Evaluación de coliformes y enterobacterias patógenas como potencial de riesgo de contaminación del agua de riego en la cuenca baja del río Moche* (Tesis de Doctorado, Universidad Privada Antenor Orrego).

Logacho, M. (2015). *Detección de Salmonella Enteritidis, typhimurium e infantis en materia prima y alimento balanceado en un sistema productivo de pollos de engorde en la Provincia de Pichincha* (Tesis de pregrado, Universidad central del Ecuador).

Lopardo, H; Predari, S., y Vay, C. (2016). *Manual de microbiología clínica de la asociación argentina de microbiología.* Buenos Aires. (1ª ed.).

López, B., Alcázar, V., Castellanos, M. C., Hernández, I., Jiménez, Y., León, A., Mejía, M. E., Pichardo, L., Tapia, M. L., Moreno, S., y Calderón, E. (2013). *Vigilancia institucional de la susceptibilidad antimicrobiana en patógenos de interés clínico.* Boletín Médico del Hospital Infantil de México, (p.70).

López, M., y Miranda, C. (2018). *Niveles de Escherichia coli enteropatógenicas en agua de mar de la playa agua dulce del Distrito de Chorrillos* (Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico y Bioquímico).

Lukas, M. (2011). *Isolation, identification and antimicrobial testing of Salmonella typhi from 77 water and food samples in Mwea region, kirinyaga county, Kenya* (Tesis de maestría).

Macotela, P. P. (2023). *Caracterización molecular y fenotípica de aislamientos de Klebsiella spp. de interés clínico y epidemiológico obtenidos en hospitales de Querétaro.* Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., y Parker, J. (2014). *Brock, Biología de los microorganismos.* (10 a ed.), Editorial Pearson.

Marin, R., y Pintado, G. (2018). *Fiebre tifoidea y factores de virulencia de Salmonella entérica serotipo Typhi.* España.

Martínez, R., y Villalobos, L. (2008). *Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Escherichia coli aisladas de alimentos y aguas residuales en Cumaná.* *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente.* (20)172-176.

Mattock y Blocker (2017). ¿Cómo funcionan juntos los factores de virulencia de *Shigella* para causar la enfermedad? *Revista Frontiers*.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00064>

Mayorga, N. M. (2014). *Determinación de la calidad bacteriológica en los efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chilpina – Arequipa y cultivos hortícolas* (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Agustín).

Méndez, R. I., San Pedro, L., Castillo, E. R., y Vásquez, E. (2010). Modelación del tiempo de conservación de muestras biológicas de agua. *Revista Internacional de contaminación ambiental*. 26(4) 327-335.

Ministerio de agricultura y riego (MINAGRI) y autoridad nacional del agua (ANA). (2016). *Manual de buenas prácticas para el uso seguro y productivo de las aguas residuales domésticas*, Lima.

Ministerio del Ambiente (MINAM). (2017). *Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua y disposiciones complementarias*.

Ministerio de la Salud (MINSA). (2022). *Semana Epidemiológica N°08*. Sala de situación de brotes y otros EVISAP.

Molina, J., y Uribarren, T. (2015). Infecciones por *Shigella spp.*

<https://www.studocu.com/latam/document/universidad-catolica-de-honduras/patologia>

Murray, P. (2014). *Microbiología médica*. Barcelona, España. (7a ed.), Editorial Elsevier

Novoa, O., Frati, A., Peredo, M., Flores, S., Novoa, O., Galicia, J., y Romero, C. (2016). Susceptibilidad de las bacterias aisladas de infecciones gastrointestinales agudas a la rifaximina y otros agentes antimicrobianos en México. *Revista de gastroenterología*, 81 (1). 3-10.

Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental (OEFA). (2014). *Fiscalización ambiental en aguas residuales*. Lima.

Organización mundial de la salud (OMS). (2020). *Resistencia a los antibióticos*.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>

Organización mundial de la salud (OMS). (2023). *Partes sobre brotes epidémicos – Cólera – Situación mundial*.

<https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON426>

Pal, M., y Lema, A. G. (2022). Current Perceptive on the Virulence Factors of Yersinia Enterocolitica: A Critical Review. *American Journal of Infectious Diseases*, 10(1), 7-10.

Palomino, R. (2017). *Tratamiento De Aguas Residuales: Qué es y cuál es su proceso*.
<https://mentecuerposano.com/tratamiento-de-aguas-residuales/>

Pucciarelli, A. B., Tessari, A., y Von Specht, M. H. (2014). *Enterococcus spp*. En aguas de arroyo Vicario: Recuento, identificación y perfil de sensibilidad. *Revista de ciencia y tecnología* (p.21).

Rodríguez, D. (2011). *Determinación de Vibrio cholerae en tanques de aguas de lastre de buques internacionales que arribaron al Terminal Multiboyas de Ecopetrol y al Puerto de Tumaco*. Boletín científico CIOH, 29(2), 107- 116.

Rodríguez, R. (2013). *Vademécum Académico de Medicamentos*. McGraw. Cefotaxima:

antimicrobianos.

Rodríguez, M., López, N., Álvarez, A., Xequé, Á. S., Gallegos, R.M., y Juárez, A. (2015). *Vibrio Cholerae* Serogrupo no: 01 en muestras de agua de los municipios de Querétaro, México. *Revista Estudios Ambientales*, 4-15.

Rojas, F. (2011). *Microbiología – Procedimiento detección Vibrio cholerae en aguas servidas (Tórula de Moore)*. Ministerio de salud de Chile.

Sánchez, R., y Pérez, I. (2014). Cólera: historia de un gran flagelo de la humanidad. *Revista humanidades médicas*.14 (2).

Sanz, C. (2011). *Prácticas de microbiología* (Universidad de La Rioja).

Silva F. y Martínez O. (2018) Complejo *Enterobacter cloacae*. *Rev Chilena Infectol*; 35 (3): 297-8. doi: 10.4067/s0716-10182018000300297.

Smith, H., y Reshea, S. (2021). *Evaluación de la calidad del agua para el consumo humano en el AAHH Villa Cruz, en el Distrito de San Juan Bautista*. Iquitos.

Soriano, D. R., Yareta, J., Rojas, A. F, Fajardo, A., León, D., Castillo, I., Bejarano, M. L., Hilario, M., Galarza, M., y Carbajal, P. M. (2021). Efluentes hospitalarios como reservorio de enterobacterias productoras de betalactamasas y carbapenemasas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38 (2).

Sota, A. F., Cáceres, A.I., y Anchari, Y. (2023). Caracterización microbiológica del cuerpo de agua de los humedales de Huasao (Oropesa-Cusco, Perú). *Revista de investigación Hatun Yachay Wasi*, 2(1), 7-14.

Superintendencia Nacional de Servicio de Saneamiento (SUNASS). (2022). *Diagnóstico de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) en el ámbito de las empresas prestadoras.*

Téllez, S., Rodríguez, E. A., y Jiménez, J. N. (2023). *Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistente a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias, 78-85.*

Velásquez (2018). *Farmacología básica y clínica. Sección X. 19 edición. Editorial médica panamericana.*

Vidales, R. E., Miranda, P., Santiago, D., Sánchez, S. H., y Ramírez, R. M., (2014). *Los patrones de adherencia de Escherichia coli patogénica aviar y E. coli patogénica de humanos a células epiteliales en cultivo son similares (p.6).*

Villacres, F. A., Martínez, S. F., Gavilanes, A., y Cruz, J. A. (2022). *Escherichia coli carbapenamasas. 6(2), 2-8.*

ANEXOS

ANEXO N° 1. Solicitud de permiso de ingreso para toma de muestras a la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo.

SEÑOR
GERENTE GENERAL DE LA EPS. SEDACUSCO S.A.
ING. JOSE LUIS BECERRA SILVA.

SEDACUSCO
TRAMITE DOCUMENTAL
11 JUN 2019
EXP. N° 3118
Firma: 

Asunto.

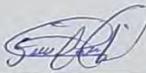
Solicitamos toma de muestras de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo.

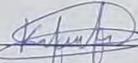
Presente.

Nos es grato dirigirnos a Usted para solicitarle la toma de muestra de aguas residuales de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Jerónimo – Cusco. Somos dos estudiantes de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, pertenecientes a la escuela profesional de biología, por la presente solicitamos se nos permita realizar la toma de muestras de 16 puntos, las cuales especificamos en el perfil de tesis que adjuntamos (pág. 12) requiriendo se nos permita realizarlo el mes de Julio, los cuales serán procesados en el laboratorio de control de calidad de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, el trabajo realizado servirá para presentar como proyecto de tesis titulado "DETERMINACIÓN DE *Vibrio sp.* Y *Enterococcus spp.* Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTERIAS EN LA LÍNEA DE LÍQUIDOS DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES SAN JERÓNIMO – CUSCO.", esperando también sirva como aporte a la empresa SEDACUSCO S.A. entregando un reporte final de la presencia de *Vibrio*, *Enterococos*, *Enterobacterias* y como éstas van disminuyendo gradualmente en cada etapa del tratamiento de las aguas residuales hasta su llegada al efluente.

Agradeciendo por la atención a la presente.

Cusco, martes 11 de Junio del 2019


Bach: Silvia Mercedes Clemente Taco.
DNI: 73631855
Dirección: AA.HH. Huasahuara E-17 Tica Tica
Cel. 968559571


Bach: Karla Cutipa Sullca.
DNI: 73038604
Dirección: Nuevo Huacarpay J-4
Cel. 916673255

ANEXO N°2. Toma de muestras de la línea de líquidos de la PTAR San Jerónimo.



ANEXO N°3. Diluciones y siembra en agares selectivos para Enterobacterias.



ANEXO N°4. Enriquecimiento para *Vibrio* sp. y siembra en agar TCBS.



ANEXO N° 5. Enriquecimiento en caldo Azida y siembra en agar bilis esculina para determinar *Enterococcus* spp.



ANEXO N°6. Identificación de *Enterococcus* spp. mediante el kit Api 20 Strep.



Enterococcus faecalis



Enterococcus faecium

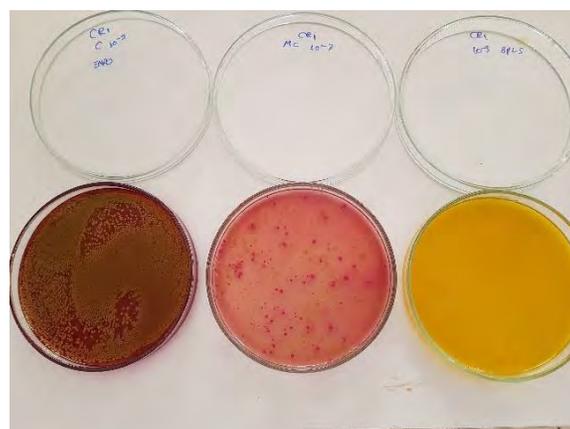
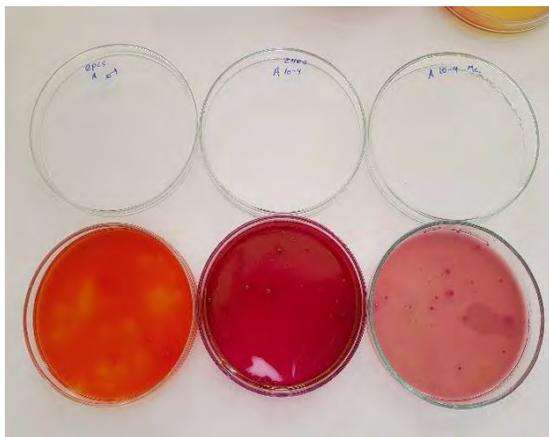
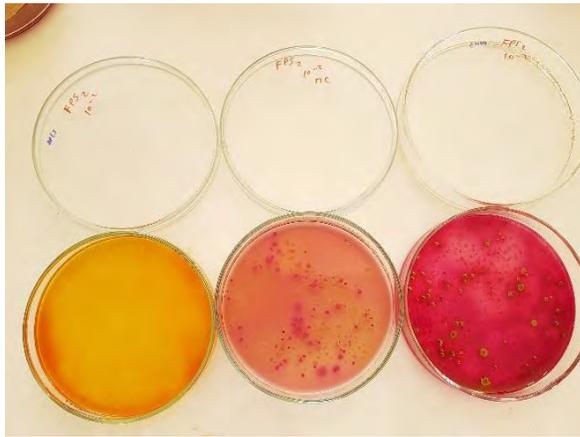


Enterococcus gallinarum



Enterococcus avium

ANEXO N°7. Crecimiento de Enterobacterias en agares selectivos.



ANEXO N°8. Caracterización de colonias típicas de Enterobacterias.

	AGAR ENDO	AGAR BPLS	AGAR MAC CONKEY
<i>Escherichia coli</i>	Colonias circulares de borde entero, consistencia cremosa y de color rosado con brillo metálico.	Colonias circulares de borde entero, consistencia cremosa y de color amarillo.	Colonias circulares de borde entero, consistencia cremosa y de color rosado intenso.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonias circulares de borde entero, mucoides, consistencia cremosa y de color rosa pálido.	—	Colonias circulares de borde entero, mucoides, consistencia cremosa y de color rosado.
<i>Salmonella typhi</i>	—	Colonias circulares de borde entero, consistencia cremosa y de color rosado.	Colonias incoloras circulares de borde dentado y de consistencia cremosa.
<i>Enterobacter sp.</i>	Colonias circulares de borde entero, consistencia cremosa y de color rosa pálido con centro rosado intenso.	—	Colonias circulares de borde entero, consistencia cremosa y de color rosa pálido con centro rosado intenso.
<i>Shigella sp.</i>	Colonias circulares de borde entero, mucoides, consistencia cremosa y de color rosado.	—	Colonias circulares de borde ondulado, consistencia cremosa y de color amarillo translucido.
<i>Yersinia sp.</i>	—	—	Colonias incoloras con centro rojizo, circulares de borde entero, elevación plana y de consistencia cremosa.

ANEXO N° 9. Identificación bioquímica de Enterobacterias.



Escherichia coli



Klebsiella pneumoniae



Salmonella typhi



Yersinia sp.

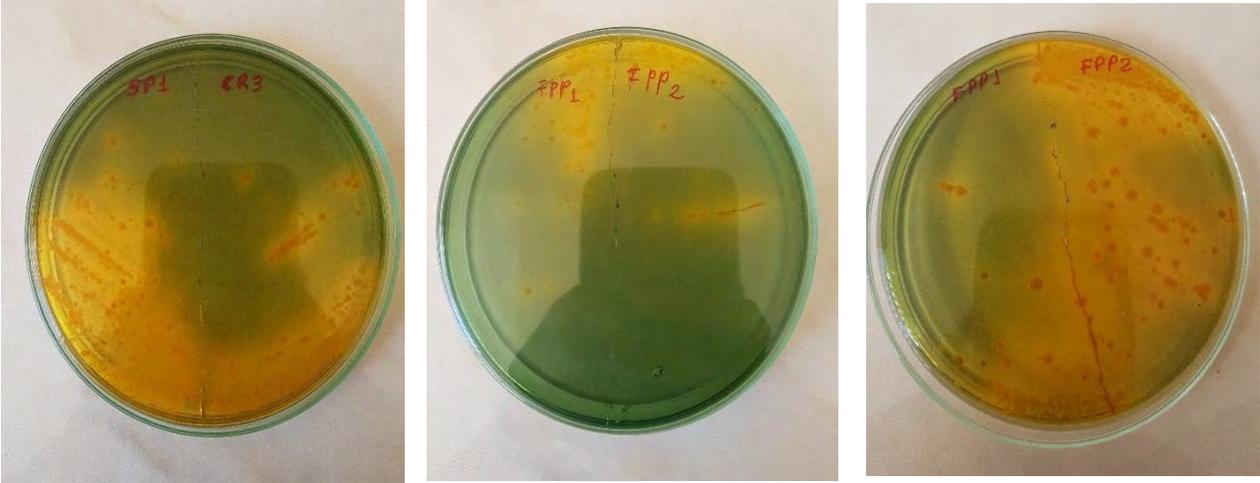


Enterobacter sp.



Shigella sp.

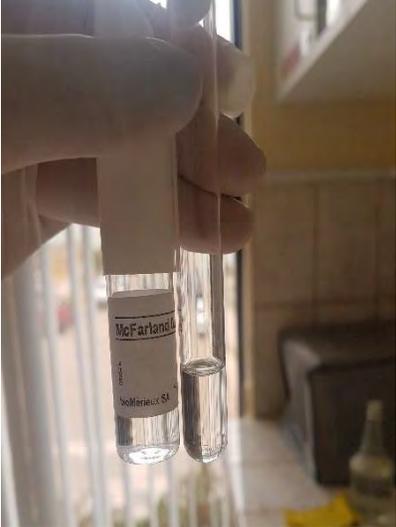
ANEXO N° 10. Crecimiento de colonias en agar TCBS.



ANEXO N° 11. Crecimiento de colonias típicas de enterococos en agar bilis esculina.



ANEXO N° 12. Antibiograma para Enterobacterias aisladas.





ANEXO N°13. Presencia de *Enterococcus* spp. en las 25 cepas aisladas.

Muestreo	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. avium</i>	Total
M₁	3	0	0	2	5
M₂	5	1	2	0	8
M₃	2	2	1	1	6
M₄	1	2	3	0	6

ANEXO N°14. Resultados de las 4 especies identificadas con el Kit API 20Strep.

ESPECIE \ PB	VP	HIP	ESC	PYRA	Agal	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-	+	+
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	-	-	+/-	+/-	+	+
<i>E. gallinarum</i>	+	+	+	+/-	-	-	+	-	+	+
<i>E. avium</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

ESPECIE \ PB	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
<i>E. faecalis</i>	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-
<i>E. faecium</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
<i>E. gallinarum</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>E. avium</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-

ANEXO N°15. Resultados obtenidos de la identificación bioquímica de colonias típicas de Enterobacterias aisladas de la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo.

MICROORGANISMOS	TSI	GAS	H2S	LIA	INDOL	ORNITINA	MOVILIDAD	CITRATO
<i>Escherichia coli</i>	A/A	+	-	K/K	+	+	+	-
<i>Salmonella typhi.</i>	K/A	-	+	K/K	-	+	+	-
<i>Shigella sp.</i>	K/A	-	-	K/A	+/-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	A/A	+	-	K/K	-	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	+	-	K/K	-	-	-	+
<i>Yersinia sp.</i>	A/A	-	-	K/K	+/-	+	-	-

ANEXO N°16. Resultados del aislamiento de Enterobacterias en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco durante los 4 muestreos.

Muestreros Especies	1er muestreo	2do muestreo	3er muestreo	4to muestreo	Promedio
<i>Escherichia coli</i>	28	30	25	27	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	10	13	18	14
<i>Shigella sp.</i>	10	3	5	7	6
<i>Enterobacter sp.</i>	6	2	5	11	6
<i>Salmonella typhi</i>	6	1	4	4	4
<i>Yersinia sp.</i>	3	0	1	3	2

ANEXO N° 17. Resultado de identificación de Enterobacterias en los distintos puntos de muestreo de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo-Cusco.

Punto	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella</i> sp.	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Yersinia</i> sp.
Afluente)	✓	✓			✓	✓
Cámara primaria	✓	✓	✓	✓		
Sedimentador primario 1	✓	✓	✓	✓		✓
Sedimentador primario 2	✓	✓	✓		✓	
Cámara 3	✓	✓	✓	✓		
Filtro percolador primario 1	✓				✓	
Filtro percolador primario 2	✓	✓		✓		
Filtro percolador primario 3	✓	✓	✓			
Cámara 7	✓	✓		✓		
Filtro percolador secundario 1	✓					
Filtro percolador secundario 2	✓	✓				
Cámara 5	✓	✓				
Sedimentador secundario 1	✓					
Sedimentador secundario 2	✓					

ANEXO N°18. Resultados de la técnica de Kirby Bauer en las Enterobacterias aisladas en la línea de líquidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco.

BACTERIAS ANTIBIOTICO	<i>Escherichia coli</i>						<i>Salmonella typhi</i>						<i>Klebsiella pneumoniae</i>					
	S		I		R		S		I		R		S		I		R	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Ampicilina	24	85.71	1	3.57	3	10.72	4	100					14	100				
Cefotaxima	26	92.86			2	7.14	3	75			1	25	11	78.57	3	21.43		
Cloranfenicol	26	92.86	1	3.57	1	3.57	4	100					12	85.72	1	7.14	1	7.14
Trimetoprim sulfametoxazol	25	89.29	1	3.57	2	7.14	2	50			2	50	10	71.43	3	21.43	1	7.14
Gentamicina	24	85.71	2	7.14	2	7.14					4	100	14	100				
Ciprofloxacino	28	100					4	100					14	100				
Imipenem	28	100					4	100					14	100				
Amox- acid. clavulánico					28	100					4	100					14	100

BACTERIAS ANTIBIOTICO	<i>Shigella sp.</i>						<i>Yersinia sp.</i>						<i>Enterobacter sp.</i>					
	S		I		R		S		I		R		S		I		R	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Ampicilina	5	83.33	1	16.67							2	100	6	100				
Cefotaxima	6	100					1	50	1	50			6	100				
Cloranfenicol			6	100					1	50	1	50	6	100				
Trimetoprim sulfametoxazol	6	100					2	100									6	100
Gentamicina	6	100					2	100					6	100				
Ciprofloxacino	6	100					2	100					6	100				
Imipenem	6	100					2	100					6	100				
Amox- acid. clavulánico					6	100			2	100							6	100

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente N: Número

ANEXO N°19. Tabla de halos de inhibición CLSI (2017-2018).

ANTIMICROBIANO	GEN	SIGLA	POTENCIA	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
AMIKACINA		AK	30 meg	≤14 mm	≥17 mm
AMPICILINA		AM	10 meg	≤13 mm (28)* (18)H (16)E (23)Sb	≥17 mm (29)* (22)H (17)E (24)Sb
AMP-SULBACTAM		SAM	10/10 meg	≤11 mm (19)H	≥15 mm (20)H
AMOXICILINA		AX	25 meg	≤13 mm	≥17 mm
AMOX- AC-CLAVULANICO		AMC	20/10 meg	≤13 mm (19)* (19)H	≥18 mm (20)* (20) H
AMOX-SULBACTAM		SO	10/10 meg	≤13 mm (19)* (19)H	≥18 mm (20)* (20) H
ACIDO NALIDINICO		W	30 meg	≤13 mm (25)Nm	≥19 mm (26)Nm
ACIDO OXOLINICO		O	2 meg	≤10 mm	≥11 mm
ACIDO PIPEMIDICO		PI	20 meg	≤13 mm	≥19 mm
AZITROMICINA		AZT	15 meg	≤13 mm (11)H (19)Nm	≥18 mm (12)St,H (20)Nm
AZITREDNAM		AZ	30 meg	≤15 mm (17) Eb (25)H	≥22 mm (21)Eb (26)H
CEFADROXILO	(1)	CPH	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFACTOR	(2)	FAC	30 meg	≤14 mm (16)H	≥18 mm (20)H
CEFALENINA	(1)	CN	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFALOFINA	(1)	CF	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFAZOLINA	(1)	CEZ	30 meg	≤19 mm (14)Inf,UrinaríasNo complicadas	≥23 mm (18)*(16)Inf,UrinaríasNo complicadas
CEFAMANDOL	(2)	CMA	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFEPIME *	(4)	CPM	30 meg	≤18 mm SDD (30)N (25)H (21)Sv(23)Sb,(14) Ac	≥25 mmSDD (31)N (26)H (24)Sv,Sb (14)P (18)Ac
CEFIMINA	(3)	CFM	5 meg	≤15 mm (20)H (30)N	≥19 mm (21)H (31)N
CEFOPER-SULBACTAM	(3)	SFP	30/75 meg	≤15 mm	≥21 mm
CEFOTAXIMA	(3)	CTX	30 meg	≤14mm (22)Eb (25)Sv,H (30)N (23)Sb (33)Nm	≥23mm(20)Eb,H (31)N (24)Sb (28)Sv (34)Nm
CEFOTIINA	(2)	CXA	30 meg	≤14 mm (21)*,AL (23)N (24)**	≥18 mm (22)*,AL (28)N (25)**
CEPROZIL	(2)	CPR	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFURADINA	(1)	CD	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFTAZIDINA	(3)	CAZ	30 meg	≤14 mm (17)Eb (25)H (30)N (17)B	≥18 mm (21)Eb,B (26)H (31)N
CEFTRIAXONA	(3)	CTR	30 meg	≤13 mm (19)Eb(25)H(24)Sv(23)Sb(34)N(33)Nm	≥21 mm (23)Eb (26)H(27)Sv(24)Sb(35)N(34)Nm
CEFUROXIMA 1 ^{er}	(2)	CXM	30 meg	≤14 mm (16)H (25)N	≥18 mm (20)H (31)N
CIPROFLOXACINO		CIP	5 meg	≤15 mm (20)H (27)N (32)Nm (20)St.spp	≥21 mm (21)H (41)N (21)E (35)Nm (31)St.spp
CLARITROMICINA		CLR	15 meg	≤13 mm (10)H (16)S,Sv,Sb	≥18 mm (13)H (21)S,Sv,Sb
CLINDAMICINA		Da	2 meg	≤14 mm (15)S,S,Sv,Sb	≥21 mm (19)S,S,Sv,Sb
CLORAFENICOL		C	30 meg	≤12 mm (25)H (20)S (17)Sv,Sb (19)Nm	≥18 mm (29)H (21)S,Sv,Sb (26)Nm
CLOXACILINA		CX	1 meg	≤10 mm	≥13 mm
COLISTIN		CL	10 meg	≤10 mm	≥11 mm
DICLOXACILINA		DX	1 meg	≤10 mm	≥13 mm
DOXICICLINA		DXS	30 meg	≤10 mm (9)Ac (12)*,E (24)S	≥14 mm (13)Ac (16)*,E (28)S
ENOXACINO		E	10 meg	≤14 mm (31)N	≥18 mm (36)N
ERITROMICINA		EM	15 meg	≤13 mm (15)S,Sv,Sb	≥23 mm (21)S,Sv,Sb
ERTAPENEM		ETP	10 meg	≤15 mm (18)Eb (18)H	≥19 mm (22)Eb (19)H
ESTREPTOMICINA		S	10 meg	≤11 mm	≥15 mm
ESTREPTOMICINA 300		SE	300 meg	≤6 mm E	≥10 mm E
FLUCLOXACILINA		FX	1 meg	≤10 mm	≥13 mm
FOSFOMICINA		FO	200 meg	≤12 mm	≥16 mm
FURAZOLIDONA		FZ	100 meg	≤14 mm	≥17 mm
GENTAMICINA		GE	10 meg	≤12 mm	≥15 mm
GENTAMICINA 120		G	120 meg	≤6 mm E	≥10 mm E
IMPENEM *		IPM	10 meg	≤13 mm (19)Eb (15)H,P (18)Ac	≥16 mm (23)Eb (16)H (19)P (22)Ac
KANAMICINA		K	30 meg	≤13 mm	≥18 mm
LEVOFLOXACINO		LVX	5 meg	≤13 mm (16)H (15)*	≥17 mm (19)*
LINCOMICINA		L	2 meg	≤16 mm	≥21 mm
LINEZOLID		LZD	30 meg	≤20 mm E	≥21 mm (23)E
MEROPENEM *		MRP	10 meg	≤13 mm (19)Eb(19)H (15)B (29)Na(15)P(14)Ac	≥16 mm (23)Eb (20)H (20)B (30)Nm (19)P (18)Ac
MENOCICLINA		M	30 meg	≤12 mm (25)Nm (14)B,Sin*,E	≥16 mm (26)Nm (19)B,Sin*,E
MOXIFLOXACINO		MXF	5 meg	≤20 mm (*) (17)H (14)S	≥24 mm (*) (18)H (18)S
NEOMICINA		N	30 meg	≤12 mm	≥17 mm
NITROFURANTOINA		NIT	300 meg	≤14 mm	≥17 mm
NORFLOXACINO		NOR	10 meg	≤12 mm	≥17 mm
OFLOXACINO		FLX	5 meg	≤12 mm (24)N (14)* (15)H	≥16 mm (31)N (18)* (16)H
OXACILINA		OX	1 meg	≤19 mm S (10)* (17)Sp	≥20 mm S (13)* (18)Sp
PENICILINA		P	10 UOF	≤19 mm S (28)* (26)N (14)E (23)Sb	≥20 mm S (29)* (47)N (15)E (24)Sb
PIPERACILINA		PE	100 meg	≤17 mm (14)P	≥21 mm
PIPERAC/TAZOACTAM		TZ	100/10 meg	≤17 mm (20)H (14)*	≥21 mm H,P (18)*
POLIMIXINA B		PB	300 U	≤11 mm	≥12 mm
RIFAMPICINA		R	5 meg	≤16 mm (19)Nm	≥20 mm (19)S (25)Nm
ROXITROMICINA		RXT	15 meg	≤13 mm	≥23 mm
SULFATRIMETOPRIM		SXT	25 meg	≤10 mm (15)S (25)NaI	≥16 mm (19)S (30)Nm
SULFONAMIDA		SF	250 meg	≤12 mm	≥17 mm
TEICOPLANINA		TEI	30 meg	≤10 mm	≥14 mm
TETRACICLINA		Te	30 meg	≤11 mm (24)S (30)N (25)H (14)*,E,V (18)Sv,Sb	≥15 mm (28)S (38)N (29)H (19)*,E,V (23)Sv,Sb
TOBRAMICINA		TB	10 meg	≤12 mm	≥15 mm
TRIMETOPRIM		TMP	5 meg	≤10 mm	≥16 mm
VANCOMICINA		VA	30 meg	≤16 mm (14)E	≥17 mm S,E,Sb
GENTAMICINA HLAR		G	120 meg	≤ 6 mm	≤10 mm
ESTREPTOMICINA HLAR		ST	300 meg	≤ 6 mm	≤10 mm

* Staphylococcus spp. ** Staphylococcus spp.
A Staphylococcus aureus St Salmonella typhi, extra intestinal spp
S Streptococcus pneumoniae P Ps. Aeruginosa
L S. lugdunensis Ac Actinobacter spp.
Sm S. maltophilia Eb Enterobacteriaceae

E Enterococcus spp. H Haemophilus spp.
Sv Strept. viridans Sb Strept. Beta hemolitius
B B. cepacia N N. gonorrhoeae
Nm Ni. meningitidis V Vibrio cholerae
Sp S. pseudintermedius

NOTAS: Para Burkholderia cepacia sólo se informa CAZ y MRP.
Para Streptophomonas maltophilia sólo se informa LVX y SX.
Cloranfenicol no se informa en cepas del tracto urinario.

NOTAS: Klebsiella spp. y E. coli que producen beta-lactamasa de espectro expandido (BLEE), pueden ser clínicamente R a Penicilinas, Cefalosporinas o Aztreonam a pesar de ser S *in vitro*.

NOTA: Cepas de Staphylococcus aureus Resistentes a los macrólidos y cepas de Staphylococcus spp. coagulasa negativas, pueden tener resistencia constitutiva o inducible a la Clindamicina; o pueden ser resistentes sólo a los macrólidos. La resistencia inducida a la Clindamicina se puede detectar usando el Test de Aproximación de Discos, poniendo el disco de Clindamicina 2 meg entre 15 a 26 mm del disco de Eritromicina 15 meg.

En Salmonella spp. y Shigella spp. Las Cefalosporinas de primera y segunda generación pueden ser activas *in vitro*, no son efectivas clínicamente, por lo que no deben informarse como S.

En cepas de LCR debe informarse CTX y CTR.
CFM no es aplicable a Morganella spp.
CPR no es aplicable a Providencia spp. por dar S falsa.

Después de la incubación, los microorganismos que no muestran "aplanamiento" del halo de la Clindamicina deberían reportarse como "Clindamicina Susceptible", por otra parte, aquellos que presentan "aplanamiento" del halo de la Clindamicina adyacente al disco de Eritromicina (REFERIDA COMO ZONA "D") indica Resistencia Inducible a la Clindamicina. Estas cepas deben informarse como "CLINDAMICINA RESISTENTE".

