



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE
MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AMBIENTAL**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS Y METALES
PESADOS EN BIOAEROSOL PROVENIENTE DE LA
LAGUNA DE OXIDACIÓN EN BAHÍA DE CARÁQUEZ**

AUTORES:

**OSCAR FABIÁN SOLÓRZANO INTRIAGO
GÉNESIS VALENTINA ZAMBRANO ALCÍVAR**

TUTOR:

Ing. CARLOS LUIS BANCHÓN BAJAÑA, M.Sc.

CALCETA, FEBRERO DE 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros, **OSCAR FABIÁN SOLÓRZANO INTRIAGO**, con cédula de ciudadanía **0943760413** y **GÉNESIS VALENTINA ZAMBRANO ALCÍVAR**, con cédula de ciudadanía **1312663998**, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: “**RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS EN BIOAEROSOLES PROVENIENTE DE LA LAGUNA DE OXIDACIÓN EN BAHÍA DE CARÁQUEZ**” es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedo a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación

**OSCAR FABIÁN SOLÓRZANO
INTRIAGO**

CC: 0943760413

**GÉNESIS VALENTINA
ZAMBRANO ALCIVAR**

CC: 1312663998

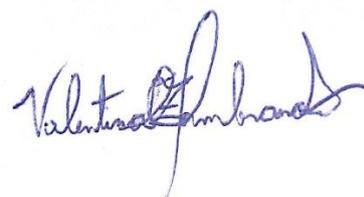
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Nosotros, **OSCAR FABIÁN SOLÓRZANO INTRIAGO**, con cédula de ciudadanía **0943760413** y **GÉNESIS VALENTINA ZAMBRANO ALCÍVAR**, con cédula de ciudadanía **1312663998**, autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **“RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS EN BIOAEROSOLES PROVENIENTE DE LA LAGUNA DE OXIDACIÓN EN BAHÍA DE CARÁQUEZ”**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.



**OSCAR FABIÁN SOLÓRZANO
INTRIAGO**

CC: 0943760413



**GÉNESIS VALENTINA
ZAMBRANO ALCIVAR**

CC: 1312663998

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

CARLOS LUIS BANCHÓN BAJAÑA, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **“RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS EN BIOAEROSOLES PROVENIENTE DE LA LAGUNA DE OXIDACIÓN EN BAHÍA DE CARÁQUEZ”**, que ha sido desarrollado por **SOLÓRZANO INTRIAGO OSCAR FABIÁN** y **ZAMBRANO ALCÍVAR GÉNESIS VALENTINA**, previo a la obtención del título de **INGENIERO AMBIENTAL**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

**Ing. CARLOS LUIS BANCHÓN
BAJAÑA, M.Sc.**

CC:0918059189

CERTIFICACIÓN DEL COORDINADOR DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Yo, José Miguel Giler Molina, Coordinador del Grupo de investigación Grupo de Investigación de Recursos Naturales, Biodiversidad y Desarrollo Sostenible (GIRBDS). certifico que los estudiantes, **SOLÓRZANO INTRIAGO OSCAR FABIÁN** y **ZAMBRANO ALCÍVAR GÉNESIS VALENTINA**, realizaron su Trabajo de Integración Curricular titulado: **“RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS EN BIOAEROSOLES PROVENIENTE DE LA LAGUNA DE OXIDACIÓN EN BAHÍA DE CARÁQUEZ”** previo a la obtención del título de **INGENIERO AMBIENTAL**. Este trabajo se ejecutó como parte de una actividad del programa de investigación titulado **“PROGRAMA DE MANEJO INTEGRAL AGROPECUARIO, AGROINDUSTRIAL Y DE LOS RECURSOS NATURALES DE LA ZONA DE PLANIFICACIÓN 4-PACÍFICO PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE”**, registrado en la Secretaría Nacional de Planificación con CUP 91880000.0000.386887.

Ing. José Miguel Giler Molina, M.Sc.
COORDINADOR DEL GRUPO DE
INVESTIGACIÓN GIRBDS
CC:1310656762

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **“RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS EN BIOAEROSOLES PROVENIENTE DE LA LAGUNA DE OXIDACIÓN EN BAHÍA DE CARÁQUEZ”** que ha sido desarrollado por **SOLÓRZANO INTRIAGO OSCAR FABIÁN** y **ZAMBRANO ALCÍVAR GÉNESIS VALENTINA**, previo a la obtención del título de **INGENIERO AMBIENTAL**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

**MG. JOSÉ MIGUEL GILER
MOLINA**

CC:1310656762

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

**ING. JOFFRE ANDRADE
CANDELL**

CC:1311651390

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

**MG. ADRIANA VERGARA
AUQUILLA**

CC:1714516307

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A mis familiares cercanos, especialmente a mis abuelos paternos y maternos, tíos, padre, madre y hermano, por su inquebrantable apoyo, comprensión y aliento en cada paso durante estos 5 años de preparación académica y realización de esta investigación.

A mis amistades, quienes estuvieron presentes en cada momento, brindando su respaldo y amistad sincera. Y de manera especial a Alfonso Miranda por su valiosa colaboración durante los monitoreos, su aporte fue fundamental para enriquecer este estudio.

Al tutor de esta tesis, Ing. Carlos Luis Banchón Bajaña cuyo asesoramiento experto y orientación fueron esenciales para el desarrollo y culminación exitosa de este proyecto de investigación.

A la ESPAM MFL por brindarme la oportunidad de formarme académicamente y proporcionarme un ambiente propicio para aprender y crecer como profesional. No puedo dejar de agradecer a los responsables de los laboratorios de la universidad, cuya colaboración y apoyo fueron imprescindibles para llevar a cabo los experimentos y análisis de manera eficiente.

A la M.Sc. Evelyn Arias Cedeño, coordinadora del campus PUCE Bahía, por proporcionarnos los datos meteorológicos necesarios para este estudio.

A Valentina Zambrano Alcívar, quien, con su amor, cariño e inteligencia pude tener una fuente de motivación, un lugar de paz y un soporte en el cansancio. Además de ser la mejor compañera de tesis que pude tener; la finalización de esta investigación es porque pudimos seguir adelante apoyándonos mutuamente.

Sin su respaldo, este logro no habría sido posible. Gracias a cada uno de ustedes por estar presentes en este recorrido lleno de aprendizaje y crecimiento.

SOLÓRZANO INTRIAGO OSCAR FABIÁN

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a Dios, cuya gracia y guía han sido mi fuente constante de fortaleza y discernimiento a lo largo de este viaje académico. A la Universidad ESPAM MFL, agradezco profundamente por brindarme la oportunidad de aprender, crecer y prosperar en un entorno académico excepcional. Los recursos, la dedicación de los docentes y la de nuestro tutor Ing. Carlos Banchón han sido invaluableles en la realización de esta investigación.

A mi familia, y en especial a mi mamá, les extiendo un agradecimiento infinito. Su amor incondicional, apoyo incansable y sacrificios han sido el pilar fundamental que me ha sostenido en momentos de desafío y triunfo. Sin su respaldo, este logro no habría sido posible.

Además, quiero reconocer y agradecer a todos aquellos que estuvieron presentes en cada momento, brindando su respaldo y amistad sincera. De manera especial, quiero agradecer a Alfonso Miranda por su valiosa colaboración durante los monitoreos, su dedicación y esfuerzo han enriquecido enormemente este trabajo.

A la M.Sc. Evelyn Arias Cedeño, coordinadora del campus PUCE Bahía, por proporcionarnos los datos meteorológicos necesarios para este estudio.

A mi novio, no puedo expresar suficiente gratitud por tu colaboración, amistad, cariño y dedicación inquebrantable. Juntos hemos superado obstáculos y alcanzado metas que parecían inalcanzables, este trabajo es un testimonio de nuestra determinación y sinergia.

A todos aquellos que de una forma u otra contribuyeron a este proyecto, ya sea con su apoyo moral, conocimientos, o simplemente su aliento, les agradezco de todo corazón. Espero que este sea el comienzo de una larga trayectoria de aprendizaje y contribución. ¡Gracias a todos por formar parte de este capítulo en mi vida!

ZAMBRANO ALCÍVAR GÉNESIS VALENTINA

DEDICATORIA

A mí mismo,

En este camino de aprendizaje y superación, me dedico este logro con profundo orgullo y satisfacción. El esfuerzo y perseverancia me han llevado a alcanzar este importante hito en mi vida.

A mis padres,

Les dedico este logro con gratitud infinita. Su amor, apoyo constante y sacrificio han sido fundamentales en mi formación a lo largo de mi vida.

A Valentina Zambrano, mi compañera de tesis y novia,

Tú has sido mi compañera fiel en este viaje, frente a mareas y tormentos como en días soleados. Tu apoyo incondicional y aliento han sido mi fortaleza en los momentos de duda y desafío.

A mis amistades más cercanas, en especial a mis hermanos de otra madre David, Bosco, Leandro, y Moisés.

Sin su apoyo moral, risas, y uno que otro consejo, hubiera tomado decisiones equivocadas en mi vida. Si el día de hoy estoy cumpliendo una meta más es porque ustedes creyeron en mí. Me alentaron a superar mis límites y mejorar mi persona. Mis logros, son sus logros. Y sus logros, son mis logros

A todos los docentes y personas que a lo largo de mi vida me impartieron conocimientos, sin su guía a lo largo de tantos años no habría sido capaz de formarme como el profesional que seré y como la calidad de ser humano que pienso ser.

A todos ustedes, les dedico este logro con gratitud y cariño. Sin su presencia y respaldo, este camino habría sido más difícil.

SOLÓRZANO INTRIAGO OSCAR FABIÁN

DEDICATORIA

Dedico esta investigación con profundo agradecimiento a Dios, mi fuente inagotable de inspiración y sabiduría que ha guiado cada paso de mi trayecto académico. Agradezco a la Universidad ESPAM MFL, cuyos recursos, docentes y comunidad académica han sido fundamentales en mi formación y en la realización de este proyecto.

A mi familia, especialmente a mi mamá y hermanos, les dedico esta investigación. Vuestra amorosa presencia, apoyo incondicional y sacrificios han sido mi refugio y motivación constantes. A mi mamá, mi faro de amor, apoyo inquebrantable y fuente de inspiración, le rindo un modesto tributo con esta investigación, reconociendo cada sacrificio que ha hecho para que pueda llegar hasta aquí.

También quiero dedicar este trabajo a Oscar Solórzano, mi compañero de tesis y novio; su apoyo inquebrantable, comprensión y amor han sido un regalo invaluable en mi vida esta investigación es un testimonio de nuestro compromiso y unidad.

A mis queridas amigas Tatiana Zambrano y Belén Casanova, les dedico este trabajo con cariño. Han sido constantes en mi vida académica, compartiendo alegrías y desafíos. Su apoyo ha sido un regalo preciado.

A mi familia, gracias por ser mi roca, y a mi novio, ¡sigamos avanzando juntos hacia nuevos horizontes! Que Dios continúe guiando nuestros pasos y que la Universidad ESPAM MFL siga siendo un faro de conocimiento y crecimiento.

ZAMBRANO ALCÍVAR GÉNESIS VALENTINA

CONTENIDO GENERAL

CARÁTULA	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iv
CERTIFICACIÓN DEL COORDINADOR DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN	v
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
DEDICATORIA.....	ix
DEDICATORIA.....	x
CONTENIDO GENERAL.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xv
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xv
RESUMEN.....	xvi
PALABRAS CLAVE.....	xvi
ABSTRACT	xvii
KEY WORDS.....	xvii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.3. OBJETIVOS.....	6
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	6
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
1.4. HIPÓTESIS.....	7

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
2.1. BIOAEROSOLES	8
2.1.1. RECOLECCIÓN DE BIOAEROSOLES	9
2.2. RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA	9
2.2.1. RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA A LOS METALES.....	10
2.2.2. RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA A LOS ANTIBIÓTICOS	10
2.2.3. ESTRÉS BIOLÓGICO EN MICROORGANISMOS	11
2.2.4. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD EN MICROORGANISMOS	11
2.3. CULTIVO MICROBIOLÓGICO	12
2.3.1. REQUERIMIENTOS DEL CULTIVO MICROBIOLÓGICO	12
2.4. PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL (PTAR).....	13
2.4.1. ETAPAS DEL TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUALES.....	13
2.4.2. LAGUNAS DE OXIDACIÓN	14
2.5. RIESGOS A LA SALUD Y AL AMBIENTE DE LOS BIOAEROSOLES	15
2.5.1. AFECTACIONES A LA SALUD HUMANA POR BIOAEROSOLES	15
2.5.2. AFECTACIONES AL MEDIO AMBIENTE POR BIOAEROSOLES	16
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	17
3.1. UBICACIÓN.....	17
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	18
3.3. DURACIÓN.....	18
3.4. MÉTODOS	18
3.4.1. MÉTODO ANALÍTICO.....	18
3.4.2. MÉTODO ESTADÍSTICO	18
3.4.3. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO-EXPLORATORIO	19

3.5. TÉCNICAS	19
3.5.1. OBSERVACIÓN	19
3.5.2. MUESTREO	19
3.5.3. EXPERIMENTACIÓN.....	20
3.5.4. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS	20
3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL	20
3.7. FACTORES DE ESTUDIO	20
3.7.1. NIVELES DE ESTUDIO	21
3.8. VARIABLES A MEDIR.....	21
3.8.1. VARIABLES INDEPENDIENTES	21
3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES.....	21
3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	21
3.9.1. FASE 1: ESTABLECIMIENTO DE LOS PUNTOS DE MUESTREO CIRCUNDANTES A LAS LAGUNAS DE OXIDACIÓN DE BAHÍA DE CARÁQUEZ PARA LA EFICIENTE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE BIOAEROSOLES	21
3.9.2. FASE 2. DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN BIOAEROSOLES PARA LA COMPROBACIÓN DE SU RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS.....	23
3.9.3. FASE 3: SOCIALIZACIÓN CON LAS COMUNIDADES SOBRE EL IMPACTO AL MEDIO AMBIENTE Y LA SALUD PÚBLICA QUE GENERAN LOS BIOAEROSOLES	27
3.10. DISEÑO EXPERIMENTAL	28
3.10.1. TRATAMIENTO	29
3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1. ESTABLECIMIENTO DE LOS PUNTOS DE MUESTREO CIRCUNDANTES A LAS LAGUNAS DE OXIDACIÓN DE BAHÍA DE	

CARÁQUEZ PARA LA EFICIENTE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE BIOAEROSOLES	33
4.2. FASE 2: DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN BIOAEROSOLES PARA LA COMPROBACIÓN DE SU RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS.....	39
4.3. FASE 3: SOCIALIZACIÓN CON LAS COMUNIDADES SOBRE EL IMPACTO AL MEDIO AMBIENTE Y LA SALUD PÚBLICA QUE GENERAN LOS BIOAEROSOLES	53
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
5.1. CONCLUSIONES	56
5.2. RECOMENDACIONES.....	57
BIBLIOGRAFÍA.....	59
ANEXOS	85
ANEXO 1.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Hilo Conductor del Marco Teórico	8
Figura 3.1. Mapa de Ubicación.....	17
Figura 3.2. Escalas de correlación.....	30
Figura 4.1. Rosa de los vientos del periodo marzo-mayo 2023 a las 7 a.m.	34
Figura 4.2. Rosa de los vientos del periodo marzo-mayo 2023 a las 1 p.m.	35
Figura 4.3. Rosa de los vientos del periodo marzo-mayo 2023 a las 7 p.m.	37
Figura 4.4. Puntos de Monitoreo en el Área Circundante de las Lagunas de Oxidación	38
Figura 4.5. Crecimiento en Medio de cultivos con respecto al punto de monitoreo.....	41

Figura 4.6. Conteo de Colonias por Tratamiento	42
Figura 4.7. Conteo de Colonias por Ubicación	43
Figura 4.8. Gráfico Q-Q Plot	45
Figura 4.9. Diagrama de Dispersión	46
Figura 4.10. Gráfico de Interacción de Factores.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1. Escala Beaufort.....	22
Tabla 3.2. Esquema de análisis de varianza.....	29
Tabla 3.3. Descripción de los tratamientos	29
Tabla 4.1. Puntos de monitoreo en el área circundante de las Lagunas de Oxidación en coordenadas UTM	38
Tabla 4.2. Promedios de conteos de colonias.....	44
Tabla 4.3. Análisis de Varianza del DBCA bifactorial.....	48
Tabla 4.4. Prueba de comparación de medias Tukey para el Factor A....	49
Tabla 4.5. Prueba de comparación de medias Tukey para el Factor B....	50
Tabla 4.6. Prueba de comparación de medias Tukey para la Interacción del Factor A y el Factor B.....	52

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 3.1. Ecuación de la concentración de una disolución	24
Ecuación 3.3. Prueba de Kruskal-Wallis	32

RESUMEN

Este estudio investigó la presencia de bacterias resistentes en bioaerosoles recolectados de la laguna de oxidación de Bahía de Caráquez, Ecuador. Se diseñó un experimento bifactorial con bloques completos al azar para evaluar el impacto de los metales pesados (acetato de plomo y nitrato de mercurio) y los antibióticos (azitromicina y cloranfenicol) en la resistencia bacteriana. La recolección de bioaerosoles se realizó en cuatro ubicaciones estratégicas basadas en condiciones meteorológicas, utilizando el método de sedimentación gravimétrica. El análisis estadístico reveló una correlación sólida entre la presencia de bioaerosoles y la abundancia de bacterias resistentes. Los resultados indican una capacidad significativa de adaptación de las bacterias a los metales pesados y antibióticos, lo que plantea preocupaciones sobre la resistencia microbiana. En particular, las bacterias mostraron resistencia estadísticamente similar dentro de las concentraciones de antibióticos utilizadas. En el caso de los metales pesados, el acetato de plomo se destacó como el compuesto con menor efecto en la inhibición del crecimiento bacteriano, sugiriendo una resistencia más alta de las bacterias a este compuesto. El estudio también incluyó actividades de concienciación en las comunidades locales sobre los riesgos asociados con los bioaerosoles y la resistencia bacteriana. Este trabajo contribuye significativamente al campo de la microbiología ambiental y tiene implicaciones clave para la salud pública y la gestión ambiental en la región de Bahía de Caráquez.

PALABRAS CLAVE

Bioaerosoles, resistencia microbiana, metales pesados, antibióticos.

ABSTRACT

This study investigated the presence of resistant bacteria in bioaerosols collected from the oxidation lagoon in Bahía de Caráquez, Ecuador. A bifactorial randomized full-block experiment was designed to assess the impact of heavy metals (lead acetate and mercury nitrate) and antibiotics (azithromycin and chloramphenicol) on bacterial resistance. Bioaerosol collection was carried out at four strategic locations based on weather conditions, using the gravimetric sedimentation method. The statistical analysis revealed a strong correlation between the presence of bioaerosols and the abundance of resistant bacteria. The results indicate a significant ability of bacteria to adapt to heavy metals and antibiotics, raising concerns about microbial resistance. In particular, the bacteria showed statistically similar resistance within the antibiotic concentrations used. In the case of heavy metals, lead acetate emerged as the compound with the lowest effect on inhibition of bacterial growth, suggesting a higher resistance of the bacteria to this composite. The study also included awareness-raising activities in local communities on the risks associated with bioaerosols and bacterial resistance. This work contributes significantly to the field of environmental microbiology and has key implications for public health and environmental management in the Bahía de Caráquez region.

KEY WORDS

Bioaerosols, microbial resistance, heavy metals, antibiotics.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los bioaerosoles son un consorcio de microorganismos aerotransportados junto al material particulado (PM), su origen es biológico incluyendo hongos, bacterias, virus, polen y sus fragmentos metabólicos como endotoxinas, micotoxinas y glucano; y pueden presentarse en una amplia variedad de tamaños y tipos (Can-Güven, 2022; Shammi et al., 2021).

La concentración y dispersión de los bioaerosoles dependen de las condiciones climáticas (Dong et al., 2016; King et al., 2020); y del tipo de fuentes locales (Fan et al., 2019; Madhwal et al., 2020). Entre los tipos de fuentes locales, las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) generan una variedad de contaminantes atmosféricos con altos niveles de bacterias con la capacidad de crear biopelículas (Romero y Castillo, 2018; Rumky et al., 2022). Debido a sus características dichos contaminantes inducen resistencia a los antimicrobianos y colaboran con la propagación de la transferencia vertical y horizontal de genes resistentes a los antibióticos (GRA) (Romero y Castillo, 2018; Rumky et al., 2022).

Diversos estudios han revelado la presencia de genes de resistencia microbiana en efluentes y bioaerosoles de las PTARs, lo que impulsa el desarrollo de bacterias con resistencia a antibióticos (Bengtsson-Palme et al., 2018; Navarro et al., 2022) y a los metales pesados (Iwu et al., 2020; Larsson y Flach, 2022) mediante la selección de cepas resistentes a compuestos antimicrobianos a través de resistencia cruzada o corresistencia aumentando la transferencia genética horizontal (TGH), siendo este el medio de propagación para los genes de resistencia a metales pesados (GRMP) y GRA (Buta et al., 2021; Samreen et al., 2021).

La contaminación biológico-sanitaria por la inhalación de bioaerosoles se produce por las dispersiones de dicho material esparcido por grandes extensiones; la inhalación de bioaerosoles está asociada al deterioro de la

salud pública, manifestándose en enfermedades infecciosas, efectos tóxicos, enfermedades y cáncer (Cárdenas, 2022; Cho et al., 2020).

Los bioaerosoles generan su emisión a la atmósfera por mezcla mecánica o aireación; provocan la presencia de patógenos potencialmente peligrosos para la salud humana, destacándose la presencia de *Enterococcus*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Streptomyces* (J. Li et al., 2016; Yang et al., 2019). La exposición a bioaerosoles provocan que microorganismos con Resistencia a los Antimicrobianos (RAM) se transfieran al tracto respiratorio superior de trabajadores de las PTARs y población circundante en un radio de 10 km desde el punto de emisión, representando un peligro para la salud pública y seguridad de los trabajadores (Banchón et al., 2021; Byliński et al., 2019; Zieliński et al., 2020).

A nivel mundial, 1.2 millones de personas tuvieron infecciones causadas por microorganismos resistentes a los antibióticos convencionales y 214.000 recién nacidos fallecieron por sepsis causada por bacterias con RAM en el año 2019; debido a esto investigadores estiman que para el año 2050, el número de personas fallecidas por microorganismos resistentes podría registrarse a más de 10 millones por año (Avafia y Cars, 2019; El Comercio, 2022; Welle, 2022).

Debido a que el 99% de la población mundial respira aire que excede el nivel permitido de contaminantes, 3.2 millones de personas mueren cada año por enfermedades relacionadas con la contaminación del aire con bioaerosoles; de las cuales el 21% son enfermedades respiratorias (que tienen una alta probabilidad de aumentar el riesgo de enfermedades respiratorias graves como la neumonía), el 19% enfermedades pulmonares crónicas y el 6% cáncer de pulmón (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2021, 2022).

A nivel de América Latina, los microorganismos con RAM son los responsables del fallecimiento de 89.100 personas en el 2019, el 11% de estas muertes fueron en países de la región andina (Bolivia, Ecuador y Perú)

(BBC News Mundo, 2022). Durante la pandemia de COVID-19 más del 90% de los pacientes hospitalizados con el virus en Latinoamérica recibieron antimicrobianos de amplio espectro, sin embargo sólo 7% de estos casos tenían afectaciones que justificaba su uso; lo que sumado a la falta de agua potable, sistemas de saneamiento e higiene y medidas de control eficaces, así como el incumplimiento de las normas emitidas por los organismos reguladores de cada gobierno, ha acelerado el surgimiento y propagación de la RAM (OMS, 2020; Organización Panamericana de la Salud [PAHO], 2021).

Además durante este periodo los Laboratorios Nacionales de Referencia de Perú, Venezuela, Costa Rica y Ecuador reportaron directamente a la PAHO la aparición de combinaciones de carbapenemasas (enzima que da resistencia a carbapenémicos), siendo el hito más reciente el efectuado en Argentina en el 2021 con el descubrimiento de una combinación nueva de carbapenemasas en el 27% de los bacilos Gram negativos aislados de pacientes hospitalizados (Román, 2022; Thomas et al., 2022).

En Ecuador, es inexistente una estadística actualizada sobre casos de muerte debido a la contaminación atmosférica; no obstante trabajos periodísticos denotan la posibilidad de enfermedades nosocomiales por aerosoles, siendo los ejemplos los casos sucedidos en hospitales de Guayaquil, Chone, Quito, Santo Domingo donde se reportaron casos de muertes de neonatos por las anteriormente mencionadas nosocomiales (Diario La Hora, 2007; El Universo, 2006; Gallo, 2011; Yunda, 2012)

El impacto potencial de las PTARs en la calidad del aire y riesgos inherentes para la salud humana es motivo del presente trabajo. Debido a que en la sociedad persiste el uso indebido y excesivo de antibióticos, los cuales se distribuyen en su descarga al medio ambiente como efluentes domésticos y que las referencias bibliográficas demuestran la presencia de genes de resistencia antibiótica y de tolerancia a metales pesados en microorganismos adheridos a los bioaerosoles circundantes a plantas de tratamiento de agua residual se plantea la siguiente interrogante:

¿Cuál es la resistencia de las bacterias que forman parte de los bioaerosoles generados en las lagunas de oxidación de Bahía de Caráquez a los antibióticos y metales pesados?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación posee una relevancia en el ámbito científico y ambiental; lo cual permite la evaluación de microorganismos que potencialmente son patógenos resistentes a antibióticos y metales pesados, teniendo en cuenta que en los lodos de las lagunas de oxidación puede abarcar altas concentraciones de sales solubles presentes en los metales pesados que pueden afectar negativamente las propiedades del suelo, así mismo como contiene organismos patógenos y contaminantes (Feria y Martinez, 2014).

El Plan de Acción Europeo para el Medio Ambiente y la Salud (2004-2010) recomienda el desarrollo de un seguimiento exhaustivo, la recopilación, la evaluación de datos relevantes y la expansión de la investigación para promover una mejor comprensión de las interacciones entre las fuentes de contaminación y los efectos sobre la salud (Ordóñez et al., 2008; OMS, 2016).

En consideración a la importancia biológica y económica, se busca evaluar los microorganismos y comprobar su resistencia a algunos antibióticos, puesto que existe un sin número de enfermedades virales, bacterianas, fúngicas que se transmiten por la atmósfera y a menudo producen brotes epidémicos (Peña, 2005). Los avances científicos, tecnológicos conllevan a que la comunidad internacional inicie un proceso de creación de tratados internacionales, complementados por las legislaciones de los estados y que se encuentran incluidos en diversos artículos en la Constitución Ecuatoriana (Tulio y Prado, 2005).

Desde el ámbito legal, la presente investigación se ampara en los artículos establecidos en la Constitución de la República del Ecuador en los Artículos 359, 395, 396, 397 donde en este último establece que “En caso de daños ambientales el Estado actuará de manera inmediata y subsidiaria para garantizar la salud y la restauración de los ecosistemas... garantizar el derecho individual y colectivo a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado...” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

El presente trabajo de investigación está orientado a satisfacer lo expuesto en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) planteados por la Organización de las Naciones Unidas; en el Objetivo 3 de las ODS, garantiza una vida sana y promoción del bienestar para todos en todas las edades; el Objetivo 11 de las ODS, que busca lograr que las ciudades sean más inclusivas, seguras, resilientes y sostenibles; el presente TIC se enfoca en la meta 11,6 que prescribe que “De aquí a 2030, reducir el impacto ambiental negativo per cápita de las ciudades, incluso prestando especial atención a la calidad del aire y la gestión de los desechos municipales y de otro tipo” (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 2022).

Además, de acuerdo con lo expuesto en el Código Orgánico del Ambiente, en su artículo 83 establece que “Los deberes y responsabilidades de los ecuatorianos, en materia ambiental, son los siguientes: defender la integridad territorial del Ecuador y sus recursos naturales, respetar los derechos de la naturaleza, preservar un ambiente sano y utilizar los recursos naturales de modo racional, sustentable y sostenible, conservar el patrimonio cultural y natural del país, y cuidar y mantener los bienes públicos” (Código Orgánico del Ambiente, 2017).

En lo que respecta el Plan de gobierno denominado Plan de Creación de Oportunidades 2021-2025, del gobierno de Guillermo Lasso menciona en sus ejes la transición ecológica cuyo objetivos se enfocan en la conservación del ecosistema y reducciones de emisiones de gases de efecto invernadero, sin embargo no se considera la calidad del aire, ni muchos menos sobre la presencia de bioaerosoles, su considerable riesgo

como dispersor de enfermedades y sus afectaciones al medio ambiente dentro del mismo documento (Secretaría Nacional de Planificación, 2021).

El presente trabajo busca estimular el desarrollo y la realización de diferentes estrategias que fomenten la mitigación o reduzca el impacto de los bioaerosoles y el manejo en la política ambiental del país, de manera simultánea evaluar la presencia de antibióticos y metales pesados en un ecosistema que da lugar al desarrollo de microorganismos resistentes, lo cual pueden generar afectaciones en la salud como infecciones, alergias o toxicidad a las personas que trabajan en las lagunas de oxidación (Carne et al., 2000; Veranes, 2013).

Tomando en cuenta que, dentro de Ecuador, los estudios referentes a la calidad atmosférica de las lagunas de oxidación y sus zonas circundantes son escasos, la única información se refiere a trabajos de titulación o artículos periodísticos de las posibles afectaciones relacionadas, es importante el desarrollo de esta investigación, como sustento de línea base para futuras investigaciones.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la existencia de bacterias resistentes a antibióticos y metales pesados en los bioaerosoles generados en las lagunas de oxidación de Bahía de Caráquez como fuente de información relevante para la salud humana y medioambiental a la sociedad.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los puntos de muestreo circundantes a las lagunas de oxidación de Bahía de Caráquez para la eficiente obtención de muestras de bioaerosoles.
- Verificar la presencia de microorganismos en bioaerosoles resistentes a los antibióticos (azitromicina y cloranfenicol) y metales pesados (acetato de plomo y nitrato de mercurio).

- Difundir a las comunidades el impacto en el medio ambiente y la salud pública que generan los bioaerosoles

1.4. HIPÓTESIS

- Ho= La concentración de diferentes tipos de metales pesados y de antibióticos en los bioaerosoles tienen un efecto significativo en la presencia de microorganismos resistentes.
- H1= La concentración de diferentes tipos de metales pesados y de antibióticos en los bioaerosoles no tienen un efecto significativo en la presencia de microorganismos resistentes.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

Para poder efectuar la investigación con base en la información teórica relevante se hizo uso del siguiente Hilo Conductor:

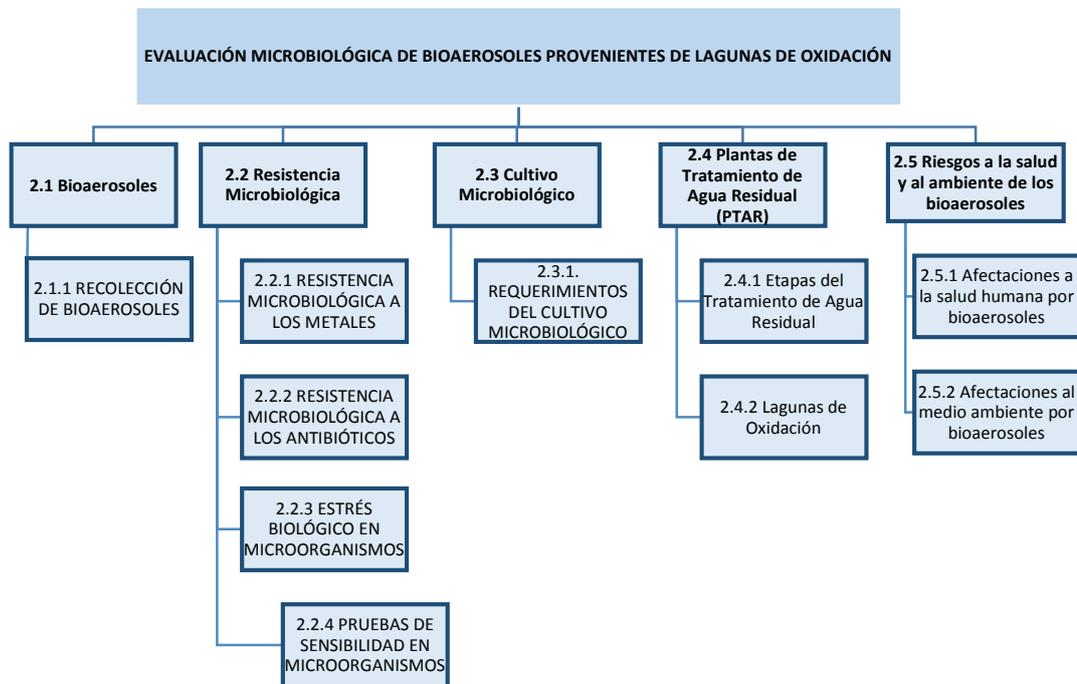


Figura 0.1. Hilo Conductor del Marco Teórico

2.1. BIOAEROSLES

Los bioaerosoles son partículas líquidas o sólidas suspendidas en aire, de origen biológico; definidas por sistemas coloidales lo que facilita su transporte en la atmósfera (Ji et al., 2007). Las partículas que conforman los Bioaerosoles miden entre 1 nm a 100 μm ; donde el límite inferior es por los pequeños grupos moleculares y el superior por las altas velocidades de sedimentación comparables a la magnitud de corrientes atmosféricas ascendentes (Després et al., 2012).

Para la existencia de las mismas debe haber un entorno con una alta temperatura, humedad relativa, movimiento de aire, luz, disponibilidad nutricional (Maldonado-Vega et al., 2014).

2.1.1. RECOLECCIÓN DE BIOAEROSOLES

La mayoría de los estudios sobre bioaerosoles se han realizado mediante la cultivación microbiológica, que se encarga de la recolección, el análisis de esporas de hongos, células bacterianas con técnicas de cultivo y recuento total; pese a esto hay especies que son viables pero que no presten sus condiciones aptas para ser cultivadas debido a los factores biológicos, meteorológicos (viento, radiación solar, temperatura, humedad relativa) y por la química atmosférica (Bruni et al., 2019).

La recolección de bioaerosoles por sedimentación es uno de los métodos más tradicionalmente utilizado por su bajo costo, fácil operación y bajo impacto en la actividad microbiana; utilizando placas de agar nutritivo como sustrato de cultivo para microorganismos que debido a su propia gravedad sedimenten en las placas, el proceso de recolección sigue en el cultivo de microorganismos (M. Li et al., 2021).

2.2. RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) ocurre cuando los microorganismos (bacterias, virus, hongos o parásitos) sufren alteraciones en su código genético como resultado de la adaptación a las presiones selectivas que experimentan (Serra, 2017).

Esta presión selectiva es influenciada por la resistencia microbiológica a metales pesados (RMMP), debido a que la presencia de metales pesados (MP) aumenta la presión ejercida en los microorganismos; promoviendo la conservación y mantenimiento de genes de resistencia a los antibióticos (Aktan et al., 2013).

El uso no controlado a gran escala de antibióticos (Atb) en aplicaciones clínicas agrícolas, veterinarias y humanas aportan a la diseminación de la RAM dentro de comunidades bacterianas y la selección de mecanismos de resistencia; siendo la propagación de los genes con RAM llevadas a cabo

en personas, animales, alimentos y en el medio ambiente (agua, suelo y aire) (PAHO, 2016; Smyth et al., 2020).

2.2.1. RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA A LOS METALES

El surgimiento, selección y evolución de organismos resistentes a los metales ocurre como resultado de la adaptación al medio ambiente en grandes cantidades de estos elementos (ya sean de naturaleza antropogénica o natural); debido a la facilidad de bioconcentración, así como a los efectos tóxicos y mutagénicos de esta sustancia (Govin-Sanjudo et al., 2020; A. Martínez et al., 2010).

Los microorganismos que persisten en un ambiente con alta presión selectiva manejan y promueven los genes de resistencia a metales (GRM) mediante la transferencia horizontal de genes (Mondragón et al., 2011). Las PTARs son conocidas como puntos críticos para la propagación de GRA y de GRM debido a los compuestos químicos que llegan en los efluentes de aguas domésticas o industriales (Roberto et al., 2019; Zieliński et al., 2022).

2.2.2. RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA A LOS ANTIBIÓTICOS

Los microorganismos pueden considerarse resistentes a Atbs si el organismo puede mantener la capacidad de desarrollarse y reproducirse continuamente a pesar de la presencia de niveles citotóxicos de este tipo de compuesto; es decir, las bacterias autóctonas de un medio contaminado por Atbs al resistir el estrés selectivo transferirá fácilmente GRA a bacterias exógenas, incluidas comensales humanas y patógenos (O'Malley et al., 2021; Wright, 2007).

Este tipo de RAM es severamente influenciada por el uso generalizado de antibióticos para tratar infecciones en humanos y animales (Mao et al., 2015). Siendo detectado altas concentraciones de bacterias con GRA en aguas residuales y en PTARs; dentro de esta última las unidades de tratamiento biológico son las mayores promotoras del crecimiento

bacteriano y del intercambio genético (lo que conduce a una proliferación de GRA a bacterias exógenas) (Zieliński et al., 2022).

2.2.3. ESTRÉS BIOLÓGICO EN MICROORGANISMOS

En la naturaleza, los microorganismos están en constante cambio, lo que lleva a la creación de mecanismos para resistir esta presión; en el estrés biológico se forman proteínas que protegen a la célula en respuesta específica a la presión selectiva ambiental a las que son sometidas (Bravo et al., 2016; Watson, 1990).

Una de las respuestas más comunes de las bacterias al estrés microbiano es la adquisición de ADN de otros organismos con RAM a través de la transferencia de genes (THG); los elementos genéticos más involucrados en este proceso son los plásmidos conjugativos, los transposones y los integrones (este último es importante para la captura y expresión eficiente de genes exógenos) (Bakkali, 2013; Osińska et al., 2020).

2.2.4. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD EN MICROORGANISMOS

Las pruebas de sensibilidad o antibiogramas ayudan a determinar la susceptibilidad de un microorganismo frente a compuestos antimicrobianos, mediante la exposición de una concentración de estos compuestos a un microorganismo a evaluar (sean estos bacterias, hongos o virus) (MedlinePlus, 2020; Vazquez-Pertejo, 2022).

Existen varias formas de ejecutar una prueba de sensibilidad mediante varios métodos como lo son la difusión en agar, dilución en agar, Macrodilución y Microdilución en caldo, Epsilon test, Métodos automatizados, Pruebas especiales (Cercenado y Saavedra-Lozano, 2009; Herrera, 1999).

El método de dilución en agar consiste en la preparación de tubos con la concentración definida (generalmente una concentración de 128 ug/ml o ppm) del compuesto antimicrobiano con el fin de ser añadido y homogeneizado a una cantidad conocida de Agar, para luego ser vertido en

Cajas Petri vacías; logrando así un medio de cultivo con el compuesto antimicrobiano diluido a una concentración determinada (Herrera, 1999).

El medio de cultivo debe ser vertido cuanto antes para evitar la solidificación del agar, en una cantidad de 20 ml de medio con antimicrobiano (19 ml de medio de cultivo por 1 ml de solución de antimicrobiano) para ser solidificado, evitando la presencia de agua de condensación (García et al., 2000; Malbrán, 2012).

2.3. CULTIVO MICROBIOLÓGICO

Un cultivo es una población de microorganismos que crece en un ambiente artificial ya sea empleando placas de Petri que pueden ser de vidrio o plástico y que no deben ser estudiados como individuos aislados. Estas poblaciones deben provenir de una sola célula, para después proceder a realizar cultivos con los nutrientes necesarios y en cantidades apropiadas a los requerimientos específicos de los microorganismos para los que ha sido diseñado (Fernández et al., 2010).

Es fundamental considerar dos aspectos a la hora de efectuar un estudio de los microorganismos como es: el procedimiento mediante el cual se promueve el crecimiento de los microorganismos al brindarles las condiciones ambientales adecuadas y el aislamiento de una sola clase de microorganismo, mediante la aplicación de técnicas de laboratorio para separarlo de las poblaciones mixtas (Llop et al., 2001).

Después del proceso de recolección de muestras, los medios de cultivo se deben incubar a una temperatura y atmósfera adecuados durante un tiempo determinado, dependiendo de la especie pueden tardar incluso días en desarrollar colonias microbianas; en el caso de las bacterias duran 24 horas en condiciones ideales para su crecimiento (Lindsley et al., 2017).

2.3.1. REQUERIMIENTOS DEL CULTIVO MICROBIOLÓGICO

De acuerdo con Gómez y Batista (2006), existen algunos requerimientos para un adecuado medio de cultivo como lo son:

- La nutrición microbiana permite proporcionar energía a los microorganismos para su crecimiento y desarrollo, la forma en cómo lo absorbe dependerá del género que sean.
- Es de suma importancia seleccionar el tipo y la concentración de los nutrientes que se van a emplear, como son: fuente de carbono, energía, nitrógeno, fósforo, factores de crecimiento, entre otros, también de condiciones tales como concentración de oxígeno, temperatura y pH.
- Como principal factor ambiental para que se prolifere y desarrolle un microorganismo es una temperatura adecuada.

2.4. PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL (PTAR)

Mediante la utilización de algunas tecnologías como la instalación de depuradoras y unidades de tratamiento de aguas residuales se realiza el saneamiento de aguas hasta alcanzar los valores máximos permisibles de acuerdo a las leyes que buscan minimizar el impacto ambiental evitando así pérdidas económicas por sanciones (Cabrera et al., 2022; Díaz et al., 2012). Comúnmente las aguas servidas son vertidas a las fuentes de agua sin un tratamiento adecuado, provocando contaminación en suelo, aguas superficiales y subterráneas; es por ello que se busca implementar proyectos de reutilización de agua, además de efectuar controles más eficientes en los vertimientos de las PTAR (Fragoso-Castilla et al., 2021).

2.4.1. ETAPAS DEL TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUALES

El tratamiento de aguas residuales consiste en 3 etapas: Pretratamiento, tratamiento primario, tratamiento secundario, desinfección y tratamiento de lodos. El tratamiento secundario para las aguas negras es la parte más importante del proceso, ya que es donde, por medio de microorganismos, se remueve la materia orgánica contenida en el agua residual. Esta etapa puede llevarse a cabo de forma aerobia o anaerobia y la biomasa puede estar suspendida o adherida a algún medio (Limón, 2013).

De acuerdo con Muñoz, (2005), las etapas del tratamiento para las aguas negras consisten en tres categorías distintas:

- Primario: tratamientos físicos y químicos.
- Secundario: tratamientos biológicos anaeróbicos o aeróbicos y/o Combinación de los dos tratamientos secundarios.
- El tratamiento terciario se emplea para eliminar el fósforo, mientras que el tratamiento avanzado incluye pasos adicionales para mejorar la calidad del efluente eliminando los contaminantes recalcitrantes

2.4.2. LAGUNAS DE OXIDACIÓN

Las lagunas de tratamiento son sistemas de tratamiento de aguas residuales, diseñados específicamente para separar los contaminantes del agua residual llevando a cabo el manejo y disposición de residuos de forma apropiada (Ceja, 2019). En forma opuesta a las lagunas naturales (pantanos, ciénagas, marismas, etc) los cuales se consideran parte del ambiente receptor y no parte de un sistema de tratamiento. Su diseño es muy variado, pero siempre incluye canalizaciones, aislamiento del suelo para evitar el paso de la contaminación a los ecosistemas circundantes y el control del flujo del efluente en cuanto a su dirección, flujo, tiempo de retención y nivel del agua (Alarcón et al., 2018).

El término “Lagunas de oxidación” se utilizó por la importancia que tiene el oxígeno en el proceso estabilizador de la materia orgánica, y por la gran cantidad de este gas que se produce a través del proceso de fotosíntesis de las algas (Butler et al., 2017; Vásquez, 2016). Los microorganismos usan el resto de la materia carbonácea, juntamente con el nitrógeno, fósforo, etc., disponibles, para formar nuevo material celular. Por acción bacteriana, el nitrógeno orgánico pasa sucesivamente a amoníaco, nitritos y nitratos; los sulfuros se oxidan a sulfatos (Butler et al., 2017; Vásquez, 2016).

Según lo establecido en el Código Ecuatoriano de la Construcción, Parte IX, Obras Sanitarias (1992) de la Secretaría Nacional de Aguas [SENAGUA] en su inciso 5.5.2.6., la elección del sitio para un sistema de lagunas debe

realizarse aguas abajo de la cuenca hidrográfica, en una zona suficientemente extensa y alejada de cauces propensos a torrentes y avenidas. En caso de no ser posible esta ubicación, se deben planificar obras de protección. Además, se aconseja que el área esté lo más distante posible de urbanizaciones con viviendas ya establecidas, recomendándose distancias mínimas de 1,000 m para lagunas anaeróbicas, 500 m para lagunas facultativas y 100 m para sistemas que involucren lagunas aireadas.

2.5. RIESGOS A LA SALUD Y AL AMBIENTE DE LOS BIOAEROSOLES

La fuente de microorganismos que causan infecciones nosocomiales puede provenir de los pacientes (fuente endógena), del ambiente y del personal hospitalario (fuente exógena); en relación con el ambiente, el aire, ha sido considerado como el vector más importante en la transmisión de determinadas enfermedades infecciosas como gripe, tuberculosis, difteria, sarampión, varicela, entre otros (Izzeddin et al., 2011). Por su naturaleza de agentes vivos, se diferencian de otros agentes causantes de enfermedades en ambientes laborales porque comparten con el cuerpo humano su conformación a base de células; estos agentes se pueden transmitir por contacto físico directo, inhalación, ingestión o inyección y el riesgo biológico será mayor dependiendo del trabajo que se realice (Coral et al., 2018).

2.5.1. AFECTACIONES A LA SALUD HUMANA POR BIOAEROSOLES

La contaminación atmosférica doméstica o ambiental genera desde el año 2019 en 6 a 7 millones de muertes por enfermedades respiratorias presentes en el ámbito socio económico debido a su fácil transmisión a través de las actividades que se realizan en el día a día, lo que representa un ausentismo laboral y escolar (De la Rosa et al., 2002; Fuller et al., 2022).

La presencia de bioaerosoles genera impactos adversos para la salud gracias a la transmisión de microorganismos patógenos a través del aire,

siendo su principal entrada es la respiración donde entra a los pulmones humanos generando una serie de enfermedades respiratorias (Humbal et al., 2018). La fisiopatología de los bioaerosoles depende de sus características físicas, propiedades biológicas y químicas, estas influyen en la adaptabilidad a la influencia de factores meteorológicos y humanos que le aporta la capacidad afectar áreas críticas como centros de salud (Banchón et al., 2020).

2.5.2. AFECTACIONES AL MEDIO AMBIENTE POR BIOAEROSOLES

En el desenvolvimiento ambiental de los bioaerosoles interviene la contaminación del aire: como la neblina, la niebla, el polvo y las partículas, lo cual perjudica el índice de calidad del aire; además de que pueden permanecer suspendidos en el aire durante mucho tiempo y pueden existir en el aire, vivos o no (De la Rosa et al., 2002; Fuller et al., 2022). Por tanto, la exposición a bioaerosoles en ambientes cerrados aumenta, de modo que entre el 5 y el 34 % de la contaminación del aire interior está relacionada con estas partículas en el aire (Sadigh et al., 2021).

Las concentraciones de contaminación del aire interior dependen de muchos factores, como las fuentes y emisiones internas, las tasas de intercambio de aire, la penetración de contaminantes externos en el ambiente interior y la tasa de sedimentación de los microorganismos (Sáez, 2017). Los factores antropogénicos como el tráfico pesado, la congestión y la quema de biomasa también afectan la presencia de bioaerosoles en la atmósfera (Shammi et al., 2021).

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación fue experimental, por lo que se manipularon las variables de estudio y tuvo un enfoque científico, pues se evaluó la resistencia de las bacterias de los bioaerosoles generados en la PTAR de Bahía de Caráquez a los antibióticos y metales pesados

3.3. DURACIÓN

La investigación tuvo un período de duración de nueve meses.

3.4. MÉTODOS

3.4.1. MÉTODO ANALÍTICO

Los métodos analíticos se utilizaron para proporcionar datos o más información para la toma de decisiones (Rodríguez y Blanco, 2001) El riesgo de tomar una decisión equivocada debe reconocerse en el proceso de toma de decisiones además permite conocer más del objeto de estudio, con lo cual se puede: explicar, hacer analogías, comprender mejor su comportamiento y establecer nuevas teorías (Verch et al., 2022).

Los parámetros que fueron considerados en la validación de un método analítico son la resistencia que tienen los bioaerosoles hacia los antibióticos y metales pesados.

3.4.2. MÉTODO ESTADÍSTICO

Este método se diseñó para abordar situaciones en las que los datos, debido a su inherente incertidumbre, requieren un proceso sistemático de recolección, organización, representación, análisis y posterior interpretación; mismo que se aplica en investigaciones que involucran eventos, individuos o grupos, con el propósito de extraer conclusiones precisas o realizar estimaciones futuras (Matos et al., 2020). El objetivo principal de su uso en esta investigación fue proporcionar datos que puedan someterse a un análisis posterior, con el fin de determinar si los

microorganismos bajo estudio, específicamente las bacterias, manifiestan resistencia frente a los antibióticos o metales pesados.

3.4.3. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO-EXPLORATORIO

Suministra la información bibliográfica para identificar el estado del conocimiento, los posibles vacíos de investigación que puedan existir y las oportunidades de nuevos aportes al tema en estudio para recopilar datos necesarios sobre la resistencia que tiene las bacterias en los bioaerosoles hacia las metales pesados y antibióticos, para así poder proporcionar información para el desarrollo de la presente investigación (Villas et al., 2008).

3.5. TÉCNICAS

3.5.1. OBSERVACIÓN

La técnica de observación desempeñó un papel fundamental en esta investigación. Su empleo permitió la observación y registro sistemático de los eventos relevantes en el contexto de este estudio. En muchas disciplinas científicas, la observación se utiliza como un medio para construir teorías y analizar fenómenos, especialmente cuando los métodos experimentales que implican el control y la manipulación de variables resultan difíciles o impracticables (Smith y Reiser, 2005).

3.5.2. MUESTREO

El muestreo en una investigación es uno de los factores más importantes que determina la precisión de un estudio y el proceso que permite seleccionar el grupo del cual se recopilaran datos (López, 2004). En función de las condiciones meteorológicas como la velocidad y dirección del viento, se procedió a establecer con precisión los puntos de monitoreo (Bhardwaj, 2019).

3.5.3. EXPERIMENTACIÓN

La investigación experimental se desarrolló en un ambiente controlado. Los investigadores recopilan datos y los resultados apoyarán o rechazarán la hipótesis; incluye una hipótesis, una variable que puede ser manipulada por el investigador y variables que pueden medirse, calcularse y compararse (Arispe, 2020). En esta investigación se evaluarán las concentraciones de metales pesados y antibióticos para determinar si especies bacterianas toleran dichos químicos y crecen en colonias (Singh, 2021).

3.5.4. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS

En el presente trabajo se aplicó la técnica estadística en función de los datos, si cumplen con una distribución normal se recurrió pruebas paramétricas; caso contrario, cuando los datos no tengan una distribución se planteó el uso de pruebas no paramétricas (Kim, 2015).

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental consistió en un total de 16 Cajas Petri, cada una contenía aproximadamente 15 ml de medio de cultivo nutritivo para aislamiento de bacterias (TM MEDIA, India). Este medio de cultivo se compuso de los siguientes ingredientes: Agar 15 g/l, Peptona 5 g/L, NaCl 5 g/l, Extracto de carne 1.5 g/l, Extracto de levadura 1.5 g/l, y se ajustó el pH a 7.4. En estas Cajas Petri, se incorporaron concentraciones de metales pesados de 150 mg/l, utilizando acetato de plomo y nitrato de mercurio, junto con antibióticos a una concentración de 150 mg/l, que incluían azitromicina y cloranfenicol.

3.7. FACTORES DE ESTUDIO

- Factor A. Tipos de Metal Pesado (MP)
- Factor B. Tipo de Antibiótico (Atb)

3.7.1. NIVELES DE ESTUDIO

- A1. Concentración de Acetato de Plomo a 150 mg/l (+)
- A2. Concentración de Nitrato de Mercurio a 150 mg/l (-)
- B1. Concentración de Azitromicina a 150 mg/l (+)
- B2. Concentración de Cloranfenicol a 150 mg/l (-)

3.8. VARIABLES A MEDIR

3.8.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

- Tipos de metales pesados: Acetato de plomo Trihidratado $Pb(C_2H_3O_2)_2$. Nitrato de mercurio dihidratado $Hg_2(NO_3)_2 * 2H_2O$.
- Tipos de antibióticos: Azitromicina, Cloranfenicol.

3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES

- Presencia de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) con resistencia antibiótica.
- Presencia de Unidades Formadoras de Colonias con resistencia a metales pesados.

3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.9.1. FASE 1: ESTABLECIMIENTO DE LOS PUNTOS DE MUESTREO CIRCUNDANTES A LAS LAGUNAS DE OXIDACIÓN DE BAHÍA DE CARÁQUEZ PARA LA EFICIENTE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE BIOAEROSOL

Se solicitó los datos meteorológicos correspondientes a los meses de marzo a mayo a través de un oficio dirigido a la coordinación de la estación meteorológica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en Bahía de Caráquez. Se requirieron los datos más actuales de humedad relativa, temperatura, precipitación, velocidad y dirección del viento. El análisis de estos datos es esencial debido a su influencia en la representatividad de las muestras de partículas suspendidas, como se ha destacado en la

investigación de Baron (2016). Para identificar los lugares de muestreo adecuados, se consideraron parámetros críticos, como la velocidad y dirección del viento y se comprobó que tipo de viento mediante la Escala Beaufort (Bauer, 2022; Xunta, 2022) (Tabla 3.1.).

Tabla 0.1. Escala Beaufort

Vientos en la escala de Beaufort						
Viento	Denominación	km/h	m/s	Nudos	Velocidad por hora	Efecto
0	Calma	< 1	< 0.3	< 1	< 1	El humo asciende verticalmente
1	Ventolina o Aire ligero	1-5	0.3-1.5	1-3	1-3	Desvío de humos
2	Flojito o Brisa ligera	6-11	1.6-3.3	4-6	4-7	Contracciones de las hojas
3	Flojo o Suave brisa	12-19	3.4-5.4	7-10	8-12	Movimiento de ramas
4	Bonancible-moderado o Brisa moderada	20-28	5.5-7.9	11-15	13-17	Movimiento de las extremidades
5	Fresquito o Brisa fresca	29-38	8.0-10.7	16-21	18-24	Movimiento de árboles pequeños
6	Fresco o Fuerte brisa	39-49	10.8-13.8	22-27	25-30	Movimiento de ramas fuertes
7	Frescachón o Viento fuerte	50-61	13.9-17.1	28-33	31-38	Movimiento de árboles
8	Temporal o Vendaval	62-74	17.2-20.7	34-40	39-46	Dificultad para caminar
9	Temporal fuerte o Vendaval de cuerdas	75-88	20.8-24.4	41-47	47-54	Daños a la casa
10	Temporal duro o Tormenta	89-102	24.5-28.4	48-55	55-63	Arranque de árboles
11	Temporal muy duro o Tormenta violenta	103-117	28.5-32.6	56-63	64-73	Daños por tormenta
12	Temporal huracanado o Huracán	> 118	> 32.7	> 64	> 74	Devastación

Fuente: Bauer (2022) y Xunta (2022)

Estos aspectos se evaluaron mediante la creación de una rosa de los vientos utilizando el software R Studio.

Debido a la presencia de población civil en las inmediaciones de la laguna de oxidación, contradiciendo las recomendaciones de SENAGUA en el Código Ecuatoriano de la Construcción (1992) que establece distancias mínimas de 1,000 m para lagunas anaeróbicas y 500 m para lagunas facultativas, los puntos de monitoreo se encuentran a distancias que no superan los 250 m. Esto se realizó con el objetivo de ofrecer una aproximación más precisa a la realidad que enfrentan los habitantes de la zona.

Durante la recolección de muestras, se llevó a cabo la codificación de las coordenadas geográficas de los puntos de muestreo de bioaerosoles. Estas coordenadas se registraron utilizando un dispositivo GPS en el sistema de coordenadas UTM. Posteriormente, la información recopilada se representó en un mapa generado con ArcGis versión 10.5 (Chapman y Wieczorek, 2020; González, 2015).

3.9.2. FASE 2. DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN BIOAEROSOLES PARA LA COMPROBACIÓN DE SU RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS.

Para poder determinar la presencia de bacterias con resistencia a metales pesados y antibióticos se realizaron pruebas de sensibilidad o antibiogramas, siendo más específicas la de dilución en agar (Cercenado y Saavedra, 2009).

La preparación del medio de cultivo siguió recomendaciones metodológicas descritas por diversos autores, como García et al. (2000), Herrera (1999) y Malbrán (2012), pero se centró principalmente en la investigación de Banchón et al. (2020). Misma que indica que se debe disolver los compuestos del tratamiento dentro de un matraz Erlenmeyer, después de preparar el medio de cultivo. Para poder calcular la cantidad de compuesto a añadir a un volumen determinado se utilizó la siguiente ecuación mencionada en el libro de Chang y Goldsby (2013).

$$C = m/V \quad (3.1.)$$

Ecuación 0.1. Ecuación de la concentración de una disolución

Fuente: Chang y Goldsby (2013)

Donde:

- C es la concentración deseada en mg/L.
- m es la masa de compuesto en mg que se desea tener en el volumen.
- V es el volumen en litros al que se agregará el compuesto.

En este proceso, se combinó Agar Nutritivo para el aislamiento de bacterias (TM MEDIA, India) que contiene Agar 15 g/l, Peptona 5 g/l, NaCl 5 g/l, Extracto de carne 1.5 g/l, Extracto de levadura 1.5 g/l y pH 7.4; con concentraciones disueltas de un metal pesado en el medio de cultivo. En esta investigación, se prepararon disoluciones con una concentración de 150 mg/l para dos factores: "Factor A", que comprende metales pesados como el acetato de plomo y el nitrato de mercurio, y "Factor B", que incluye antibióticos como la azitromicina y el cloranfenicol (Tabla 3.3.).

Se llevaron las cajas Petri y el equipo de bioseguridad necesario, incluyendo guantes, mascarillas y alcohol, a la ubicación de muestreo. Siguiendo las normativas de bioseguridad y utilizando material previamente esterilizado según las directrices del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN, 2013).

La recolección de bioaerosoles se llevará a cabo mediante el método de sedimentación gravimétrica (Galán et al., 2018; M. Li et al., 2021). Este método es especialmente adecuado para capturar partículas en el aire, permitiendo evaluar la concentración de bioaerosoles presentes en diferentes ubicaciones estratégicas.

Cada sesión de monitoreo tuvo una duración aproximada de 5 minutos. Las muestras de bioaerosoles se tomaron en 4 puntos específicos cercanos a las Lagunas de Oxidación de Bahía, basados en los resultados obtenidos en el análisis de datos meteorológicos.

Una vez completada la recolección, las muestras se transportaron a los laboratorios de Microbiología de la ESPAM MFL. Allí, se incubaron las cajas Petri con las muestras correspondientes en condiciones óptimas a 37°C durante 24 horas (Lindsley et al., 2017; Ramírez et al., 2018). Pasado este tiempo, se evaluó el estado de las muestras y se registró el crecimiento de bacterias en los medios de cultivo, lo que indica la resistencia de estos microorganismos a los metales pesados y antibióticos.

El conteo de colonias resistentes a los tratamientos se efectuó utilizando una cámara Neubauer de campo oscuro (Sánchez et al., 2017). Los datos resultantes se registraron en una hoja de cálculo de Excel y se representaron visualmente a través de gráficos estadísticos, permitiendo una comprensión rápida y efectiva de las respuestas microbianas en diversas condiciones experimentales. Además, se aplicó un proceso de promediado de los resultados en función de las fechas de monitoreo, con el propósito de reducir el ruido o la variabilidad relacionados con factores no pertinentes para esta investigación, como las diferencias temporales entre los días de muestreo. Este enfoque sigue las pautas y recomendaciones proporcionadas por Box et al. (2008), Mendenhall et al. (2020), Montgomery (2017) y Quinn y Keough (2002).

Previo al análisis estadístico, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, conforme a los lineamientos de Environmental Systems Research Institute (ESRI, 2019), Kumar (2020), Ramírez-Alán (2017), Rojas (2023) y Statology (2021). Adicionalmente se realizó un gráfico de interacción de factores para poder determinar si los efectos de estos factores son independientes o si hay una influencia conjunta que no se puede explicar simplemente observando los efectos individuales de cada factor; es decir, si el efecto de un factor depende del nivel o la presencia de otro factor (Montgomery, 2017; Moore et al., 2017; Witte y Witte, 2017).

En caso de que los datos cumplieran con estos supuestos, se procedió a realizar un Análisis de Varianza (ANOVA) ajustado a un Diseño de Bloques Completo al Azar con Arreglo Bifactorial 2^2 , como se sugiere en los

trabajos de Dagnino (2014) y Moreno (2008). Por otro lado, en el escenario contrario, cuando los supuestos no se cumplían, se optó por realizar la prueba estadística de Kruskal-Wallis, siguiendo las pautas recomendadas por Flores (2018), Flores-Ruiz et al. (2017) y Rodrigo (2016). En el proceso de análisis estadístico, se empleó el software InfoStat versión del 2008 para verificar la normalidad y homogeneidad de varianza, la interacción de los factores, así como para llevar a cabo pruebas estadísticas con un grado de significancia del 5%, ya sea ANOVA o Kruskal-Wallis según la distribución de los datos, seguido de pruebas post hoc, como Tukey o Mann-Whitney, para evaluar las diferencias entre grupos (Tukey para datos paramétricos o Mann-Whitney para datos no paramétricos) (Maurandi-López et al., 2019). Para poder realizar los análisis estadísticos se adaptó la hipótesis de la investigación de la siguiente forma:

- HIPÓTESIS PARA EL FACTOR A (TIPOS DE METAL PESADO):

Hipótesis Nula (H0): La concentración de diferentes tipos de metales pesados en los bioaerosoles no tiene un efecto significativo en la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados, teniendo en cuenta los efectos de los lugares de muestreo.

Hipótesis Alternativa (H1): La concentración de diferentes tipos de metales pesados en los bioaerosoles tiene un efecto significativo en la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados, teniendo en cuenta los efectos de los lugares de muestreo.

- HIPÓTESIS PARA EL FACTOR B (TIPO DE ANTIBIÓTICO):

Hipótesis Nula (H0): La concentración de diferentes tipos de antibióticos en los bioaerosoles no tiene un efecto significativo en la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados, teniendo en cuenta los efectos de los lugares de muestreo.

Hipótesis Alternativa (H1): La concentración de diferentes tipos de antibióticos en los bioaerosoles tiene un efecto significativo en la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados, teniendo en cuenta los efectos de los lugares de muestreo.

- HIPÓTESIS PARA LA INTERACCIÓN ENTRE FACTOR A Y FACTOR B:

Hipótesis Nula (H0): No hay una interacción significativa entre los tipos de metal pesado y los tipos de antibiótico en la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados, teniendo en cuenta los efectos de los lugares de muestreo.

Hipótesis Alternativa (H1): Existe una interacción significativa entre los tipos de metal pesado y los tipos de antibiótico en la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados, teniendo en cuenta los efectos de los lugares de muestreo.

3.9.3. FASE 3: SOCIALIZACIÓN CON LAS COMUNIDADES SOBRE EL IMPACTO AL MEDIO AMBIENTE Y LA SALUD PÚBLICA QUE GENERAN LOS BIOAEROSOLES

Se llevó a cabo una revisión sistemática de literatura (Arteaga, 2022) que englobó la búsqueda y análisis de artículos científicos, libros y fuentes web confiables. El objetivo fue recopilar una sólida base de datos relacionada con tecnologías, estrategias y acciones efectivas para mitigar y reducir los impactos negativos de los bioaerosoles en el entorno ambiental.

Con el propósito de generar conciencia sobre los riesgos asociados con los bioaerosoles y la creciente resistencia bacteriana a los antimicrobianos, se desarrollaron presentaciones de diapositivas y carteles informativos. Estos materiales se diseñaron con la intención de ser utilizados en charlas dirigidas a estudiantes de todos los niveles, desde la educación básica hasta la universidad (Espejel et al., 2012; Salavarría et al., 2011).

Se llevaron a cabo charlas presenciales dirigidas a las comunidades locales, en las que se presentaron y discutieron los resultados de la investigación. Durante estas sesiones, se destacaron los riesgos asociados con la alta exposición a los bioaerosoles y se ofrecieron recomendaciones prácticas para reducir la posibilidad de afectaciones graves tales como las (Ministerio del Ambiente, 2010).

3.10. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente TIC se ajustó a un Diseño con Arreglo Bifactorial 2^2 con Bloques Completos al Azar (DBCA), el mismo que tomando en cuenta las características de ensayo constó de 4 tratamientos y 3 repeticiones en 4 puntos diferentes (Tabla 3.2.).

Tabla 0.2. Esquema de análisis de varianza

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Factor A	$2-1=1$
Factor B	$2-1=1$
Interacción A x B	$(2-1)(2-1)=1$
Bloques	$4-1=3$
Error experimental	$(2*2-1)(4-1)=9$
Total	$2*2*4-1=15$

3.10.1. TRATAMIENTO

Los tratamientos en estudio serán:

Tabla 0.3. Descripción de los tratamientos

TRATAMIENTOS	Tipos de MP (FACTOR A)	Tipo de Atb (FACTOR B)	DESCRIPCIÓN (A x B)
T ₁	Acetato de Plomo (+)	Azitromicina (+)	A1B1
T ₂	Acetato de Plomo (+)	Cloranfenicol (-)	A1B2
T ₃	Nitrato de Mercurio (-)	Azitromicina (+)	A2B1
T ₄	Nitrato de Mercurio (-)	Cloranfenicol (-)	A2B2

3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las pruebas de normalidad sirven para analizar cuánto difiere la distribución de los datos observados respecto a lo esperado, si proceden de una distribución normal con la misma media y desviación típica; es común que estos test se empleen con la finalidad de verificar las condiciones de métodos paramétricos, por ejemplo un t-test o un ANOVA (Amat, 2016).

Un gráfico Q-Q (Quantile-Quantile) se emplea como una herramienta gráfica para examinar si un conjunto de datos sigue una distribución teórica específica, comúnmente se utiliza para verificar la concordancia con una distribución normal (Statology, 2021). Este gráfico compara los cuantiles del conjunto de datos con los cuantiles esperados de una distribución teórica, como la como la distribución normal (ESRI, 2019). En caso de que los datos sigan una distribución normal, los puntos en el gráfico Q-Q se alinearán en una línea diagonal; si los datos se desvían de la normalidad, los puntos mostrarán desviaciones con respecto a la línea diagonal (Kumar, 2020). Además, InfoStat considera que si el coeficiente de correlación lineal r es superior a 0.94 en el Q-Q Plot, es otro indicador de normalidad (Ramírez-Alán, 2017).

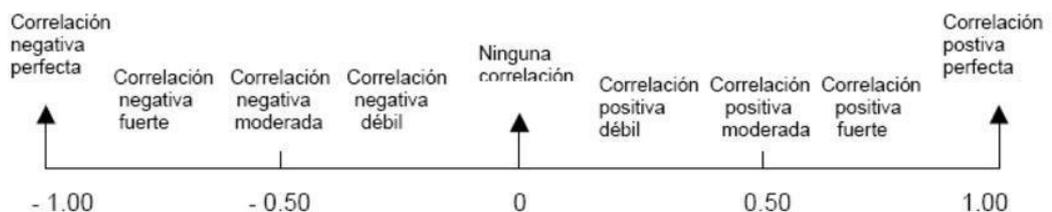


Figura 0.2. Escalas de correlación

Fuente: Ramírez-Alán (2017).

Para la comprobación del supuesto de homogeneidad de varianzas de forma gráfica se toma en cuenta los residuales y los predichos en un gráfico de dispersión, si los puntos en el gráfico se distribuyen de manera uniforme alrededor de cero, sin mostrar patrones de campana o cono, ni relaciones con la variable dependiente estimada, el modelo se considera que tiene homogeneidad (Rojas, 2023). No obstante, si se detecta algún patrón entre ambas variables, esto señala la presencia de heterocedasticidad, lo que lleva al investigador a considerar otras pruebas alternativas al ANOVA para la comparación de medias (Flores Muñoz, 2018).

Un gráfico de interacción de factores es una herramienta que permite determinar si los efectos de los factores en estudio son independientes o si existe una influencia conjunta que no puede ser explicada únicamente

mediante la observación de los efectos individuales de cada factor (Montgomery, 2017; Moore et al., 2017). La presencia de interacción se puede identificar visualmente en el gráfico cuando las líneas o curvas que representan los efectos de los diferentes factores muestran comportamientos específicos en relación con los otros factores (Moore et al., 2017). Esto puede manifestarse como líneas que se cruzan en un punto, cambios en la pendiente de las líneas o, de manera más evidente, la presencia de puntos de cruce; por otro lado, la ausencia de interacción se refleja en líneas que son paralelas entre sí (Witte y Witte, 2017).

El ANOVA es un conjunto de métodos estadísticos muy útil y flexible. Es beneficioso cuando hay más de dos grupos de necesidades a modo de comparación, si se emplea cuando hay más de dos mediciones repetidas, cuando los objetos pueden diferir en una o más características que afectan los resultados requeridos ajusta su efecto o cuando se desea analizar su efecto (Dagnino, 2014).

Para probar la hipótesis nula (H_0) (tres o más medias de población son iguales) frente a la hipótesis alternativa (H_a) (al menos una media es diferente); utilizando una notación formal para supuestos estadísticos utilizando k-medias escribiríamos de acuerdo con Moreno (2008):

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$$

H_a : no todas las medias son iguales

Aquí μ_i es la media del i-ésimo nivel del factor.

Este estudio se basará en el conteo de colonias, lo cual puede generar variables discretas; estas variables son analizadas generalmente mediante pruebas no paramétricas como la de Kruskal-Wallis (Flores-Ruiz et al., 2017). Mismo que se expresa de la siguiente manera (Ecuación 3.2.):

$$H = \frac{12}{N(N + 1)} \left(\sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} \right) - 3(N + 1) \quad (0.2.)$$

Ecuación 0.2. Prueba de Kruskal-Wallis

Fuente: Rodrigo (2016)

Donde:

k = Número de grupos

R_i = Suma de los rangos para el i -ésimo grupo

n_i = Tamaño de muestra del i -ésimo grupo

N = Tamaño total de la muestra

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ESTABLECIMIENTO DE LOS PUNTOS DE MUESTREO CIRCUNDANTES A LAS LAGUNAS DE OXIDACIÓN DE BAHÍA DE CARÁQUEZ PARA LA EFICIENTE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE BIOAEROSOLES

Las informaciones sobre los datos meteorológicos se obtuvieron de la estación meteorológica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, ubicada en la sede de Bahía de Caráquez, donde se facilitaron los datos de temperatura, precipitación, nubosidad, dirección y velocidad del viento. Para poder determinar los puntos de monitoreo adecuados, se consideraron parámetros claves como la velocidad y dirección del viento.

- **ROSA DE LOS VIENTOS DEL PERIODO MARZO-MAYO 2023 A LAS 7 A.M.**

En la figura 4.1., se observa que durante los meses de marzo, abril y mayo, el viento predominantemente sopla en dirección Sureste alrededor de las 7 a.m. Esto representa el 9% de las observaciones, lo cual es la frecuencia más alta en comparación con las otras direcciones.

La velocidad del viento registrada en todas las coordenadas mostradas en la figura es constante y varía en un rango de 0-2 m/s, lo que se considera de acuerdo a la Escala Beaufort (Bauer, 2022; Xunta, 2022) como un intervalo entre ventolina o aire ligero (0.3-1.5 m/s) y flojito o brisa ligera (1.6-3.3 m/s); como se puede ver a continuación mediante la rosa de los vientos realizada en el software R Studio.

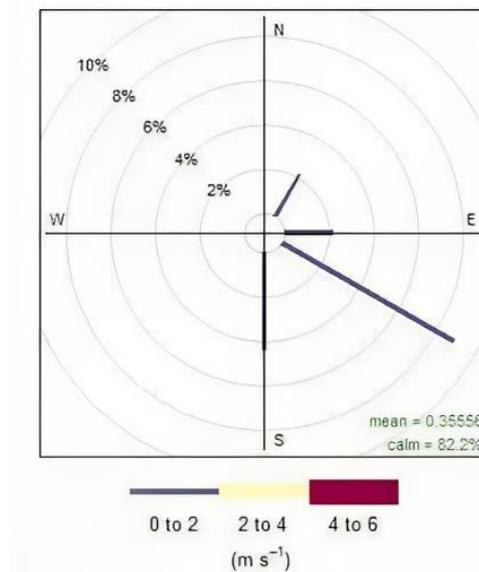


Figura 0.1. Rosa de los vientos del periodo marzo-mayo 2023 a las 7 a.m.

De acuerdo con los resultados presentados previamente, esta condición meteorológica puede conllevar a la acumulación de contaminantes en proximidad a las fuentes de emisión durante condiciones de aire ligero, este rango de velocidad del viento obstaculiza la capacidad de dispersión y dilución de bioaerosoles y partículas contaminantes en la atmósfera. Ramos y Meza (2017), afirman que la velocidad del viento ejerce una influencia significativa en la dilución y supervivencia de los bioaerosoles, al mismo tiempo que incide en la concentración de estos, dificultando su dispersión y propiciando su acumulación en zonas próximas a las fuentes de emisión. No obstante, esta restricción en la dispersión tiene efectos significativos en lo que respecta a la calidad del aire y la salud pública en la región, según lo mencionado por Guo et al. (2014).

De acuerdo con Hong et al. (2018), la presencia de árboles y vegetación en el área, influye en la dispersión de los bioaerosoles, lo cual disminuye las partículas atmosféricas mediante captura, filtración, precipitación y difusividad turbulenta afectando su supervivencia y capacidad de dispersión.

- **ROSA DE LOS VIENTOS DEL PERIODO MARZO-MAYO 2023 A LAS 1 P.M.**

Según la figura 4.2., se aprecia un cambio en la dirección del viento al noroeste en las horas próximas a las 1 p.m. durante los meses de marzo, abril y mayo. Este cambio en la dirección del viento se hace notable, ya que se presenta con una frecuencia del 20% hacia el noroeste (NW), superando así a otras direcciones del viento, en las cuales la velocidad alcanzó picos máximos de 4-6 m/s, lo que se considera de acuerdo a la Escala Beaufort (Bauer, 2022; Xunta, 2022) como un intervalo entre flojo o suave brisa (3.4-5.4 m/s) y bonancible- moderado o brisa moderada (5.5-7.9 m/s).

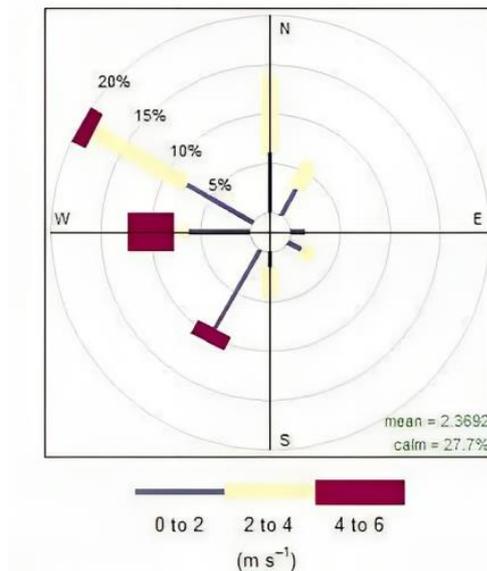


Figura 0.2. Rosa de los vientos del periodo marzo-mayo 2023 a las 1 p.m.

El cambio en la dirección del viento hacia el Noroeste cerca de las 1 p.m. tiene implicaciones importantes en la dispersión de contaminantes atmosféricos, incluidos los bioaerosoles. Estudios realizados por Ghosh et al. (2015) enfatizan que la velocidad bonancible-moderado del viento es beneficiosa para la dispersión controlada de partículas biológicas en el aire, lo que promueve una distribución más uniforme en el entorno, además la temperatura promedio alta y la humedad relativa favorecen el crecimiento microbiológico. A pesar de que se registran picos de velocidad del viento de 4-6 m/s en otras direcciones, la frecuencia del cambio hacia el noroeste es

lo que lo hace particularmente relevante. La frecuencia del 20% sugiere que este cambio es un fenómeno recurrente que debe considerarse en la planificación de puntos de monitoreo de la calidad del aire.

De acuerdo con Nair (2021) para llevar a cabo una adecuada planificación de los puntos de monitoreo, es esencial tener en cuenta las condiciones del terreno, la velocidad del viento y la cobertura vegetal, de manera que se pueda determinar la ubicación óptima para la recolección de datos. Basándose en los resultados previamente presentados, se establecieron puntos de monitoreo estratégicos para recolectar muestras de bioaerosoles en la dirección del viento Noroeste.

- **ROSA DE LOS VIENTOS DEL PERIODO MARZO-MAYO 2023 A LAS 7 P.M.**

Los resultados del análisis de la figura 4.3., revelan una variabilidad en la dirección y velocidad del viento en los meses de marzo, abril y mayo. Durante este período, la dirección predominante del viento se encuentra en la parte norte (N) alrededor de las 7 p.m. con una frecuencia aproximadamente al 14%, superando a las demás direcciones. En términos de velocidad del viento, se observa que el rango más frecuente se sitúa entre 0-2 m/s, lo que se considera de acuerdo a la Escala Beaufort (Bauer, 2022; Xunta, 2022) como un intervalo entre ventolina o aire ligero (0.3-1.5 m/s) y flojito o brisa ligera (1.6-3.3 m/s). Por otro lado, las direcciones menos predominantes se encuentran en las coordenadas NE y ES.

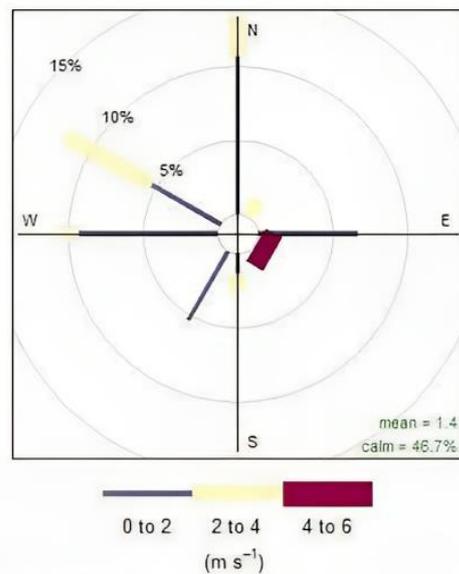


Figura 0.3. Rosa de los vientos del periodo marzo-mayo 2023 a las 7 p.m.

Las direcciones menos predominantes, en particular son las coordenadas NE (noreste) y ES (sureste), lo cual indica que, aunque sean menos frecuentes, hay momentos en los que el viento puede provenir de estas direcciones, la variabilidad observada en la dirección del viento enfatiza la necesidad de llevar a cabo un análisis minucioso de las condiciones y propiedades que influyen en los procesos de dispersión atmosférica. Según (Drew et al., 2008) estos cambios en la dirección del viento deben ser meticulosamente considerados en la fase de planificación de la ubicación estratégica de los puntos de monitoreo, también es fundamental realizar la recolección de muestras a favor del viento y cerca de la fuente para obtener datos precisos y representativos.

Durante la fase de muestreo, se codificaron las coordenadas geográficas correspondientes a los cuatro puntos designados para la recolección de muestras de bioaerosoles. Este proceso se basó en la orientación proporcionada por la rosa de los vientos correspondiente al periodo de marzo a mayo de 2023, a las 1 p.m. (Figura 4.2) lo que indicó una dirección predominante del viento hacia el Noroeste. Las coordenadas geográficas se registraron con precisión utilizando un dispositivo GPS y se expresaron en el sistema de coordenadas UTM mediante mediciones en campo.

Posteriormente, esta información se representó en un mapa elaborado, donde se destacaron los puntos de monitoreo, tal como se ilustra en la Tabla 4.1.:

Tabla 0.1. Puntos de monitoreo en el área circundante de las Lagunas de Oxidación en coordenadas UTM

Nombre del Punto de monitoreo	Distancia de la Laguna de Oxidación	Eje de las Abscisas	Eje de las Ordenadas
C. Principal y Callejón sin nombre (C.S.N.)	180 m	564027	9928578
C. Principal y Calle D	155 m	564113	9928681
Suroeste Laguna	250 m	563992	9928424
Entrada Laguna	30 m	564168	9928599

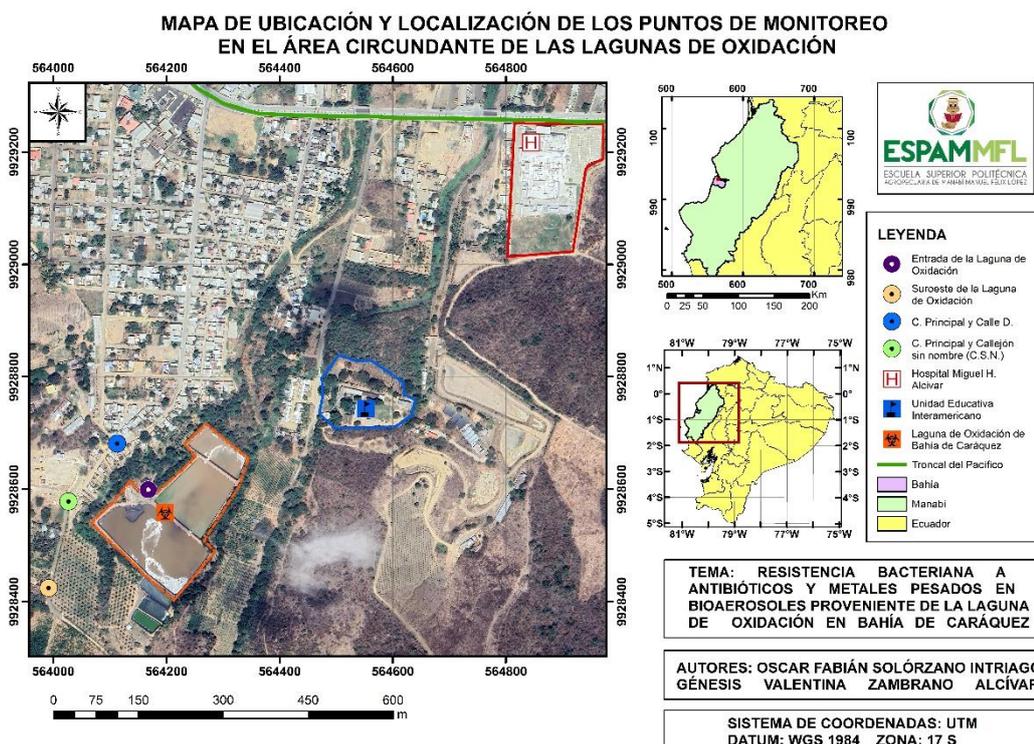


Figura 0.4. Puntos de Monitoreo en el Área Circundante de las Lagunas de Oxidación

La utilización de la rosa de los vientos específica para el periodo marzo-mayo de 2023 a las 1 P.M. proporcionó una guía valiosa para determinar la dirección predominante del viento. Este enfoque resultó de suma importancia para la precisa selección de los puntos de muestreo, dado que

la concentración de partículas en el aire se encuentra directamente influenciada por la velocidad y la dirección del viento. Según Haas et al. (2013) la concentración de microorganismos depende de la época, condición meteorológica y ambiental; además, también garantiza que las muestras capturen adecuadamente la dispersión de los bioaerosoles en la dirección del flujo de aire predominante.

La precisión en la captura de coordenadas geográficas, facilitada por el dispositivo GPS y la aplicación del sistema de coordenadas UTM, aseguró la exactitud de la geolocalización de los puntos de muestreo. Esto, a su vez, según Baxendale et al. (2015) permite una correlación efectiva entre los datos recopilados y su ubicación geoespacial precisa, lo que resulta esencial en el análisis posterior. Así mismo la distancia de los puntos de monitoreo acerca a la realidad que viven los habitantes de la zona (Banchón et al., 2021; Byliński et al., 2019; Zieliński et al., 2020)

La representación cartográfica de los puntos de monitoreo en un mapa elaborado brinda una visualización efectiva de la ubicación de las muestras. Este enfoque cartográfico facilita la interpretación y el análisis de los datos, permitiendo a los investigadores y a otros interesados contextualizar los resultados en función de la distribución geográfica conforme lo menciona (Juaréz, 2018).

4.2. FASE 2: DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN BIOAEROSOLES PARA LA COMPROBACIÓN DE SU RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y METALES PESADOS

Se prepararon los medios de cultivo para su posterior uso en las tomas de muestras de los bioaerosoles en las inmediaciones cercanas de las lagunas de oxidación de Bahía de Caráquez en los puntos de monitoreo determinados por las condiciones meteorológicas (Tabla 4.1.), durante las 3 tres primeras semanas en junio de 2023 (5, 13 y 19 de junio) para después

llevar las muestras a la incubadora por 24 horas, para más adelante realizar el conteo microbiológico.

El medio de cultivo posterior a la preparación especificada en las instrucciones del fabricante se enriqueció con concentraciones de metales pesados y antibióticos. Se añadieron 150 mg/l de acetato de plomo y nitrato de mercurio como fuentes de metales pesados, y 150 mg/l de azitromicina y cloranfenicol como fuentes de antibióticos (Anexo 1).

La recolección de bioaerosoles se llevó a cabo utilizando el método de sedimentación gravimétrica, el cual es un enfoque reconocido y ampliamente utilizado en estudios de calidad del aire y evaluación de partículas suspendidas en el ambiente (Galán et al., 2018; M. Li et al., 2021). Cada caja Petri, según el diseño experimental (Tabla 3.2.), fue ubicada en puntos estratégicos (Figura 4.4.). El tiempo destinado para la recolección de material particulado en cada caja Petri fue de 5 minutos (Anexo 2).

La incubación de las muestras a una temperatura constante de 37°C durante 24 horas facilitó el crecimiento y desarrollo de las colonias bacterianas, lo que permitió el conteo y análisis meticuloso de los resultados.

El conteo de las colonias resistentes a los tratamientos se realizó con cámara Neubauer en campo oscuro (Anexo 3).

Los resultados obtenidos en el presente estudio revelan la presencia de colonias bacterianas pese a la presencia de los tratamientos antimicrobianos aplicados (Figura 4.5.)

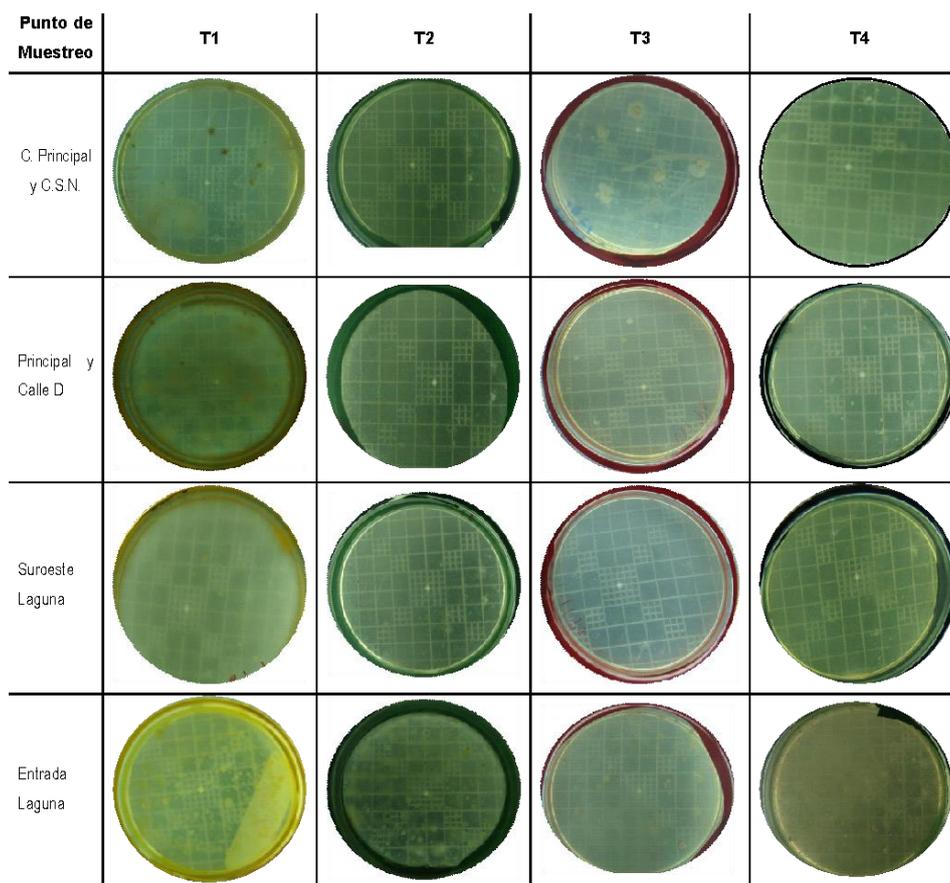


Figura 0.5. Crecimiento en Medio de cultivos con respecto al punto de monitoreo.

La figura 4.6 revela la presencia de colonias bacterianas pese a la presencia de tratamientos antimicrobianos aplicados. El tratamiento "A2B1" (150 mg/l de nitrato de mercurio, y 150 mg/l de azitromicina) mostró la menor cantidad de la suma total de los conteos de colonias bacterianas (1220 en total) en comparación con los demás tratamientos (A2B2= 1567; A1B2= 1762; y A1B1= 2104), lo que sugiere un efecto inhibitorio más pronunciado en el desarrollo bacteriano, es decir, las bacterias tienen menor resistencia a los compuestos utilizados. En contraste del tratamiento "A1B1" (150 mg/l de acetato de plomo y 150 mg/l de azitromicina), el cual es el tratamiento con mayor presencia de colonias, representando una mayor resistencia de las bacterias a dichos compuestos.

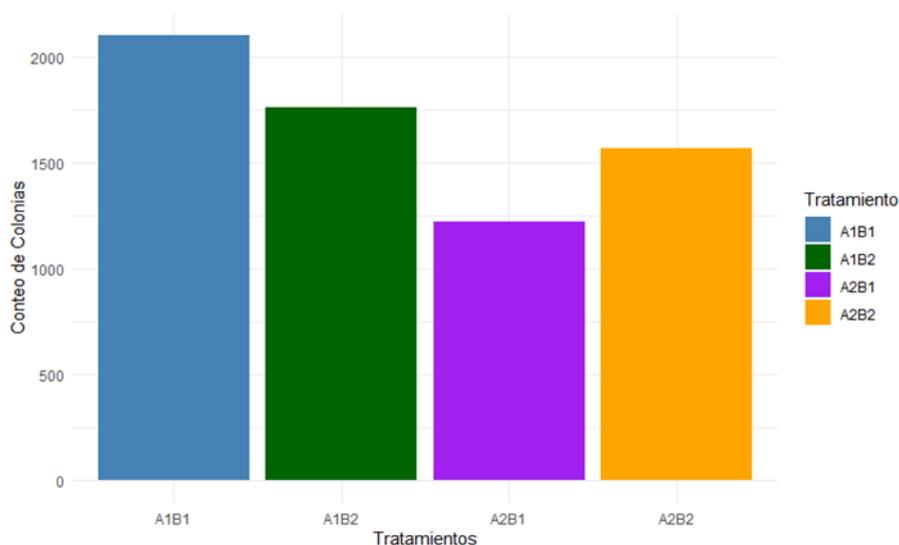


Figura 0.6. Conteo de Colonias por Tratamiento

Los hallazgos presentados en la figura 4.6., indican que algunas bacterias han desarrollado una cierta resistencia a los compuestos antimicrobianos presentes en cada uno de los tratamientos, estos datos son de suma importancia, ya que la resistencia bacteriana a los antibióticos y metales pesados representa un grave riesgo para la salud pública y el medio ambiente.

De acuerdo con Uddin et al. (2021), la proliferación de bacterias resistentes a estos compuestos compromete la efectividad de tratamientos médicos. Esto complica el tratamiento de infecciones bacterianas comunes; además puede llevar a enfermedades más graves o incluso a la muerte en casos severos y aumentar la contaminación ambiental, lo cual puede tener un impacto negativo en la biodiversidad, esto puede afectar a microorganismos beneficiosos y organismos más grandes que dependen de esos microorganismos en la cadena alimentaria.

En la figura 4.7, se visualiza la suma total de colonias bacterianas obtenidas en los cuatro tratamientos utilizados durante el muestreo de bioaerosoles. Destaca la "Entrada de la Laguna" con la mayor cantidad, registrando un total de 2409 colonias contadas, mientras que la "Calle Principal y Calle Sin Nombre" presentó la menor cantidad, con un total de 987 colonias.

Este resultado da una visión de la exposición que tienen los habitantes del sector y trabajadores de la laguna de oxidación de Bahía.

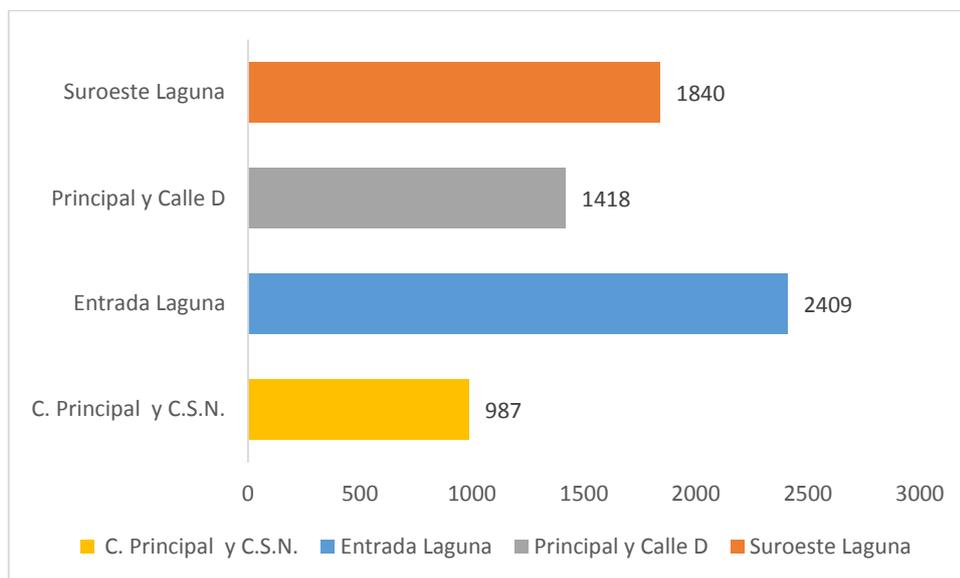


Figura 0.7. Conteo de Colonias por Ubicación

La Laguna de Oxidación de Bahía está ubicada a una distancia de 700 metros de la carretera que conduce a la ciudad de Bahía, atravesando durante ese trayecto áreas habitada (UD2, 2016). La presencia de población humana en esta área constituye una infracción a las regulaciones establecidas por el Código Ecuatoriano de la Construcción (1992) de SENAGUA, que estipula distancias de menos de 1,000 metros para lagunas anaeróbicas y 500 metros para lagunas facultativas en relación con los asentamientos urbanos.

Numerosos estudios destacan el inminente riesgo biológico asociado con la exposición a bioaerosoles, impactando negativamente la salud humana con la posibilidad de desencadenar enfermedades infecciosas, efectos tóxicos y, en algunos casos, cáncer (Cárdenas, 2022; Cho et al., 2020). La dispersión de bacterias presentes en los bioaerosoles está sujeta a condiciones meteorológicas, lo que implica que estas partículas bacterianas pueden encontrarse a distancias de hasta 10 km desde el punto de emisión, representando así un potencial problema para la salud humana (Banchón et al., 2021; Byliński et al., 2019; Zieliński et al., 2020).

Además, según Serwecińska (2020), algunas bacterias pueden desarrollar resistencia a estos contaminantes debido a la liberación de metales pesados y antibióticos en el medio ambiente, ya sea por actividades agrícolas, industriales o el tratamiento de aguas residuales. Este fenómeno puede tener impactos adversos en la salud de los ecosistemas acuáticos y terrestres, así como consecuencias para la salud humana, dada la dificultad de tratar estas cepas con antibióticos.

Para el análisis estadístico, se calculó el promedio de los resultados obtenidos en las tres sesiones de monitoreo, acorde a Mendenhall et al. (2020), Montgomery (2017) y Quinn y Keough (2002). Manteniendo la individualidad de cada punto de muestreo y los factores que componen los tratamientos. Los resultados se presentan en la Tabla 4.2.

Tabla 0.2. Promedios de conteos de colonias

Factor A	Factor B	Tratamiento	Punto de muestreo	Colonias
Acetato de Pb	Azitromicina	A1B1	C. Principal y C.S.N.	133,33
Acetato de Pb	Cloranfenicol	A1B2	C. Principal y C.S.N.	71,67
Nitrato de Mg	Azitromicina	A2B1	C. Principal y C.S.N.	38,33
Nitrato de Mg	Cloranfenicol	A2B2	C. Principal y C.S.N.	85,67
Acetato de Pb	Azitromicina	A1B1	Entrada Laguna	209,33
Acetato de Pb	Cloranfenicol	A1B2	Entrada Laguna	236,00
Nitrato de Mg	Azitromicina	A2B1	Entrada Laguna	185,67
Nitrato de Mg	Cloranfenicol	A2B2	Entrada Laguna	172,00
Acetato de Pb	Azitromicina	A1B1	Principal y Calle D	160,00
Acetato de Pb	Cloranfenicol	A1B2	Principal y Calle D	129,33
Nitrato de Mg	Azitromicina	A2B1	Principal y Calle D	69,33
Nitrato de Mg	Cloranfenicol	A2B2	Principal y Calle D	114,00
Acetato de Pb	Azitromicina	A1B1	Suroeste Laguna	198,67
Acetato de Pb	Cloranfenicol	A1B2	Suroeste Laguna	150,67
Nitrato de Mg	Azitromicina	A2B1	Suroeste Laguna	113,33
Nitrato de Mg	Cloranfenicol	A2B2	Suroeste Laguna	150,67

Posteriormente se procedió a analizar la naturaleza de los datos mediante la comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, y la interacción de los factores.

En la figura 4.8., se constata gráficamente la dispersión de los puntos en el gráfico Q-Q Plot, en donde exhiben una proximidad a la línea recta, lo cual denota el cumplimiento de la distribución normal de los datos. Adicionalmente, se destaca que el coeficiente de correlación ($r= 0,961$); superando el valor de 0,94, fortaleciendo la conclusión de que los datos cumplen la distribución normal, tal como recomienda ESRI (2019), Kumar (2020), Ramírez-Alán (2017) y Statology (2021).

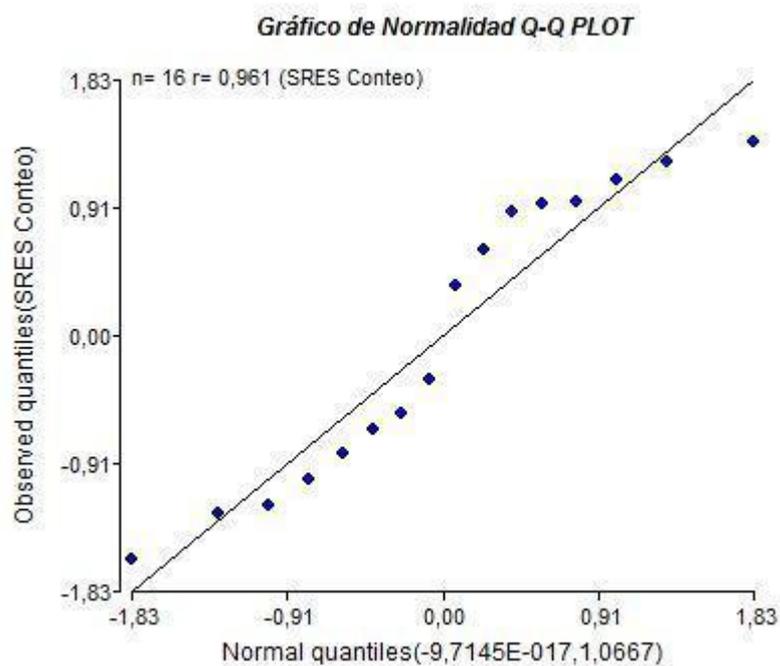


Figura 0.8. Gráfico Q-Q Plot

El cumplimiento del supuesto de normalidad es fundamental, ya que respalda la elección del ANOVA como la herramienta adecuada para analizar estadísticamente los datos. Al considerar los datos como paramétricos, se fortalece la precisión y la confiabilidad de los resultados del análisis estadístico (Federación de Científicos Europeos de Osteopatía, 2014; Flores et al., 2018).

Al analizar el diagrama de dispersión (Figura 4.8.), se puede evidenciar la distribución uniforme alrededor de cero, sin mostrar patrones visibles. Esto concuerda con las pautas de Flores Muñoz (2018) y de Rojas (2023) que respalda la afirmación de que se cumple el supuesto de homogeneidad.

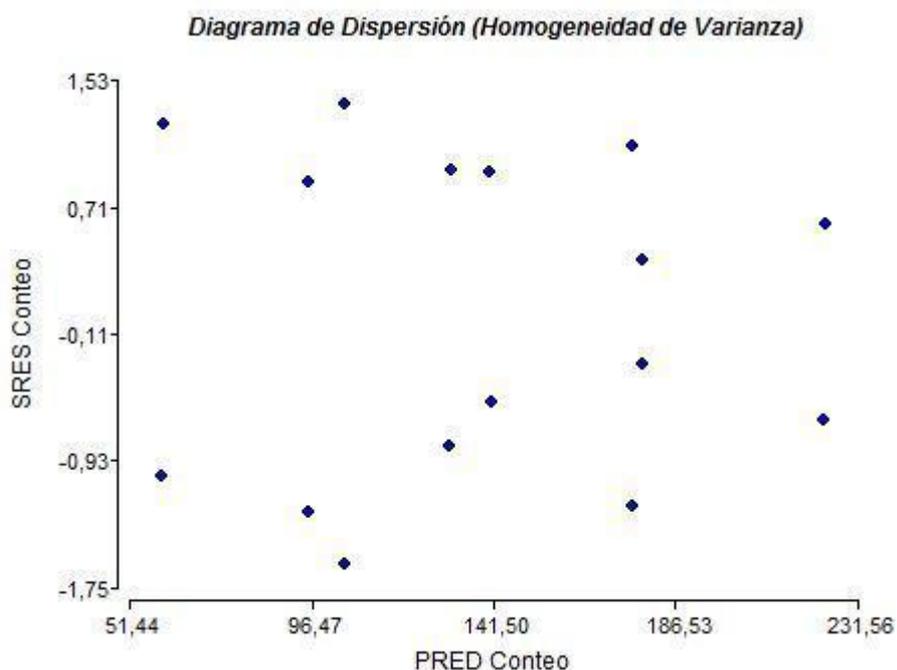


Figura 0.9. Diagrama de Dispersión

El supuesto de homogeneidad en el análisis estadístico consiste en la igualdad de las varianzas entre los grupos en los que se divide la muestra. Tal como lo mencionó Correa et al. (2006) este supuesto es importante en muchos análisis estadísticos, ya que si las varianzas son diferentes entre los grupos, esto puede afectar la precisión de los resultados del análisis y llevar a conclusiones incorrectas, además el incumplimiento del supuesto de homogeneidad afecta la precisión, validez y confiabilidad de los resultados del análisis estadístico (Almeida et al., 2008).

Al realizarse el diagrama de puntos (Figura 4.10.) para realizar el gráfico de interacción se comprueba la presencia de un punto de cruce la interacción entre el Factor A y el Factor B. En los resultados, se constató que el acetato de plomo condujo a un recuento de colonias superior en comparación con los demás compuestos, esto indica que, a pesar de la presencia de acetato de plomo las colonias de microorganismos demostraron una mayor capacidad de resistencia ante este compuesto, lo cual significa que exhibieron una capacidad para prosperar y multiplicarse en mayor medida que en presencia de los otros compuestos tal como lo explica Martínez et al. (2010).

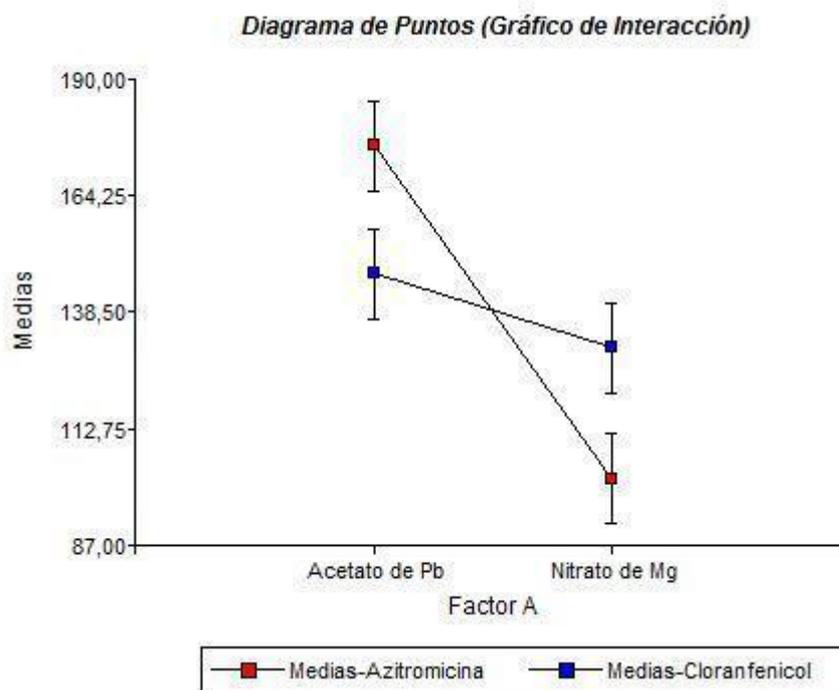


Figura 0.10. Gráfico de Interacción de Factores

Conforme a lo expresado por Pardo et al. (2007), el gráfico de interacción entre factores facilita la interpretación de los resultados del análisis estadístico y hace que los resultados sean más confiables debido a que permite visualizar cómo los efectos de un factor dependen del nivel de otro factor y puede ayudar a identificar patrones y relaciones entre los factores

Los resultados del análisis estadístico (Tabla 4.3.) confirman que el Factor B es el único que no muestra diferencias estadísticas significativas, ya que su p-valor (0.9806) supera el nivel de significancia establecido ($\alpha=0.05$). Esto sugiere que las bacterias exhiben una resistencia estadísticamente similar dentro de las concentraciones de antibióticos utilizadas, ya que no se observa un efecto significativo en la inhibición de su crecimiento bacteriano.

Por otro lado, el Factor A (p-valor= 0.0015) y la interacción entre los factores (p-valor= 0.0185) presentan valores por debajo del nivel de significancia, lo que permite rechazar la hipótesis nula y respaldar la hipótesis alternativa. Esto indica que:

- El Factor A, que se refiere a los "Metales pesados", tiene un impacto estadísticamente significativo en la inhibición del crecimiento bacteriano en comparación con el Factor B, que representa los "Antibióticos".
- La interacción entre el Factor A y el Factor B tiene un efecto significativo en el crecimiento bacteriano, lo que limita la presencia de microorganismos resistentes.

Tabla 0.3. Análisis de Varianza del DBCA bifactorial

Tabla de Análisis de Varianza (SS Parcial)					
FV	GI	Sc	Cm	Fc	p-valor
Factor A	1	8100.00	8100.00	17.58	0.0015
Factor B	1	0.25	0.25	20.30	0.9806
Factor A x Factor B	1	3287.11	3287.11	6.3 E-04	0.0185
Bloqueo (Lugar)	3	30690.14	10230.05	8.24	0.0001
Error	9	3590.92	389.99	25.64	
Total	15	45668.42			

La aplicación del ANOVA bifactorial en el software InfoStat confirmó las diferencias estadísticas significativas en la resistencia bacteriana en función de los tipos de metales pesados y antibióticos empleados; este resultado resalta que la interacción de estos compuestos aumenta la capacidad de las bacterias para que sean resistentes. Esto sugiere que en situaciones donde hay contaminación ambiental con estos compuestos, es necesario prestar una atención especial y considerar varios factores al abordar la resistencia bacteriana.

Según Giono et al. (2020) es incentivo para realizar un monitoreo de las PTARs más detallado, además de tener en cuenta diversas influencias y factores que podrían contribuir a la resistencia bacteriana en entornos contaminados, ya que la interacción entre contaminantes complica el problema y alienta a requerir enfoques más completos en su manejo.

Al realizar la prueba de comparación de medias Tukey para el Factor A, (Tabla 4.4.), se concluye que estadísticamente el acetato de plomo es el nivel de este factor que muestra un menor efecto en la inhibición del

crecimiento de bacterias, como lo indica su alta media (161.13). En otras palabras, el acetato de plomo tiene un menor impacto en la reducción del crecimiento bacteriano en comparación con otros niveles de este factor.

Esto implica que, las concentraciones de acetato de plomo utilizadas en el estudio permiten un crecimiento de bacterias en los bioaerosoles en comparación con otros niveles de metales pesados.

Tabla 0.4. Prueba de comparación de medias Tukey para el Factor A

Factor A	Media	Tamaño de Muestra	Error Estándar	Letras de Significancia
Acetato de Plomo	161.13	8	7.06	A
Nitrato de Mercurio	116.13	8	7.06	B

Después de analizar las pruebas de comparación de medias de Tukey en relación con los diversos factores de estudio, se constató que las bacterias presentes en los bioaerosoles demuestran una resistencia hacia el plomo. Según el estudio realizado por Nguyen et al. (2019) demuestra que los metales pesados actúan como agentes co-selectores en la proliferación de la resistencia a los antibióticos en patógenos humanos en múltiples reservorios ambientales.

En consecuencia, este análisis estadístico proporciona una base sólida para las conclusiones de la presente investigación. Esto en concordancia con lo expuesto por Arya et al. (2021), quienes sugieren la presencia de interacciones complejas que deben explorarse en futuros estudios

En lo que respecta a la resistencia de las bacterias al acetato de plomo y nitrato de mercurio, como se evidencia en los resultados, se planteó interrogantes sobre la efectividad de este compuesto como agente antimicrobiano en entornos donde la contaminación por estos metales es un problema. Además, la liberación de metales pesados por parte de las industrias proporciona un ambiente propicio para el crecimiento bacteriano Yin et al. (2019). Esta persistencia de bacterias en presencia de metales pesados es motivo de preocupación y resalta la importancia de abordar la

resistencia bacteriana desde una perspectiva integral que considere no solo el acetato de plomo y el nitrato de mercurio, sino también otros metales pesados y otros factores ambientales, según Masindi y Muedi (2018).

La prueba de comparación de medias Tukey para el Factor B (Tabla 4.5.), refuerza la conclusión previa obtenida en el ANOVA para el DBCA bifactorial (Tabla 4.5). Estos resultados indican que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles del Factor B. Esto se debe a que las medias de los conteos bacterianos con resistencia a los dos antibióticos (Cloranfenicol= 138.75 y Azitromicina= 138.50) son prácticamente idénticas.

Tabla 0.5. Prueba de comparación de medias Tukey para el Factor B

Factor B	Media	Tamaño de Muestra	Error Estándar	Letras de Significancia
Cloranfenicol	138.75	8	7.06	A
Azitromicina	138.50	8	7.06	A

El hallazgo de que las bacterias en los bioaerosoles de las lagunas de oxidación de Bahía de Caráquez muestran una resistencia ante los antibióticos empleados en el estudio es de gran relevancia. El crecimiento detectado en presencia de estos antibióticos revela que las bacterias de los bioaerosoles poseen una capacidad similar para resistir la acción de medicamentos, lo que indica la presencia de cepas bacterianas resistentes en el ambiente, tal como lo sugiere Reygaert (2018). Tal como lo mencionan Prestinaci et al. (2015), la resistencia bacteriana es una preocupación importante para la salud pública, pues dificulta el tratamiento de infecciones bacterianas tanto en humanos como en animales.

Según estudios realizados por Mancuso et al. (2021), esta situación plantea preocupaciones específicas para los trabajadores y las comunidades cercanas a las lagunas de oxidación, dado que están expuestos diariamente a estos bioaerosoles, existe un potencial riesgo de que las bacterias resistentes puedan transferir su resistencia a otras bacterias, incluyendo

patógenos humanos. Desafortunadamente, en las últimas décadas el uso excesivo y mal uso de antibióticos, así como factores económicos, han acelerado la propagación de bacterias resistentes a los antibióticos, haciendo que el tratamiento farmacológico sea ineficaz para la población.

La dispersión de bioaerosoles debido al viento amplifica aún más el alcance de exposición, lo que significa que incluso las comunidades más alejadas de las lagunas pueden verse afectadas. Lee y Yoo (2022) mencionan en su investigación que es esencial tomar medidas para evaluar y mitigar los riesgos asociados con la exposición a bioaerosoles resistentes a antibióticos en el entorno, con el fin de proteger la salud de los trabajadores y las comunidades locales, así como para garantizar una gestión ambiental adecuada en las lagunas de oxidación.

Los resultados de la prueba de comparación de medias Tukey (Tabla 4.6.), para las interacciones entre los factores A y B revelan información relevante. En primer lugar, se concluye que:

- La interacción que tiene estadísticamente referente a la presencia de colonias de bacterias es la combinación de acetato de plomo con azitromicina, con un valor de 175.33. Este resultado coincide con las conclusiones anteriores.
- En lo que respecta a la interacción entre los factores, los resultados del análisis Tukey indican que las combinaciones de acetato de plomo es el menos efectivo para reducir el crecimiento bacteriano en comparación con los otros tratamientos antimicrobianos presentes en un entorno dado.
- Por otro lado, los resultados del análisis Tukey para las interacciones también indican que las combinaciones de nitrato de mercurio con ambos antibióticos resultaron en una menor presencia de colonias de bacterias. Específicamente, la interacción entre nitrato de mercurio y azitromicina mostró la menor presencia de colonias, con un valor de 101.67.

Tabla 0.6. Prueba de comparación de medias Tukey para la Interacción del Factor A y el Factor B

Factor A	Factor B	Media	Tamaño de Muestra	Error Estándar	Letras de Significancia
Acetato de Plomo	Azitromicina	175.33	4	9.99	A
Acetato de Plomo	Cloranfenicol	146.92	4	9.99	AB
Nitrato de Mercurio	Cloranfenicol	130.58	4	9.99	BC
Nitrato de Mercurio	Azitromicina	101.67	4	9.99	C

La observación de una menor presencia de colonias de bacterias en la interacción entre nitrato de mercurio y azitromicina es un resultado de relevancia en este estudio. Zhou et al. (2015) sugiere que esta combinación específica de metal pesado y antibiótico tiene un impacto significativo en la inhibición del crecimiento bacteriano, los resultados en cuanto a la resistencia bacteriana revelan una capacidad significativa de adaptación a los metales pesados y antibióticos, lo que apunta a una preocupante resistencia microbiana.

Es importante destacar que este resultado es coherente con las tendencias observadas en otros aspectos del estudio, como lo han mencionado Tchounwou et al. (2012), donde se ha identificado que el nitrato de mercurio está involucrado en procesos como la lixiviación de metales pesados, la resuspensión de sedimentos y la evaporación de metales desde los recursos hídricos hacia el suelo. Estos procesos ejercen un efecto más acentuado en la inhibición del crecimiento bacteriano en comparación con otros tratamientos.

Así mismo, los resultados contrastan con las sugerencias presentadas por Soares et al. (2015), las cuales indican que la interacción entre el acetato de plomo y la azitromicina podría generar un efecto aditivo o sinérgico en la inhibición del crecimiento bacteriano. Se plantea que ambos compuestos podrían atacar vías celulares distintas y debilitar aún más la resistencia bacteriana.

4.3. FASE 3: SOCIALIZACIÓN CON LAS COMUNIDADES SOBRE EL IMPACTO AL MEDIO AMBIENTE Y LA SALUD PÚBLICA QUE GENERAN LOS BIOAEROSOLES

En el marco de esta actividad, se llevó a cabo una estrategia integral de socialización dirigida a las comunidades para abordar el impacto de los bioaerosoles en el medio ambiente y la salud pública.

Se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica para respaldar la creación de material informativo destinado a la sensibilización sobre estrategias de mitigación en ambos ámbitos. Esta revisión se centró en estudios científicos y reportes técnicos relevantes, permitiendo una contextualización precisa de los resultados en relación con investigaciones previas, siguiendo las pautas de Martín y Lafuente (2017).

La retroalimentación, Herrera-Araya (2022), se utilizó para fortalecer la interpretación de los datos, basándose en una base científica sólida y estableciendo conexiones sustanciales con el conocimiento previo en el campo.

El material de apoyo, que incluía presentaciones visuales y gráficos explicativos, se diseñó con el propósito de comunicar efectivamente las estrategias de mitigación a diversas audiencias, alineándose con la importancia de la socialización de resultados en la investigación, según Cohen y Gómez (2019).

La actividad abordó tanto la salud humana como la salud del medio ambiente, destacando la interconexión entre ambas áreas. Esto, según Martínez Salinas (2023), contribuye a fomentar un comportamiento ambiental y un enfoque integral hacia la mitigación de impactos de bioaerosoles, reconociendo la importancia de la salud del ecosistema en la salud humana.

Durante el desarrollo del estudio, se generó un material de apoyo en forma de póster informático y diapositivas gráficas que abordaron los temas de los

bioaerosoles, la resistencia bacteriana y sus impactos en la ciudadanía. Este material se utilizó en cuatro eventos de sociabilización y divulgación científica (Anexo 4):

- 4ta Jornada Académica "AMBIENTALISTAS" (5 de junio de 2023): Presentación en la Universidad Técnica de Manabí, dirigida a estudiantes de nivel básico y bachillerato.
- Feria de Emprendimiento Institucional (7 de junio de 2023): Segunda sesión de socialización en la Carrera de Ingeniería Ambiental de la ESPAM MFL, dirigida a estudiantes universitarios e investigadores de diversas disciplinas científicas.
- XI Jornada Científica Estudiantil de la Carrera de Ingeniería Ambiental - ESPAM MFL (14 de noviembre de 2023): Elaboración de un segundo póster informático para la presentación de resultados de la investigación, dirigida a miembros del cuerpo docente interesados.
- VI Congreso Internacional: Industria y Desarrollo Sostenible (CIIDS), parte del XII Evento Internacional La Universidad en el Siglo XXI (16 de noviembre de 2023): Participación en un evento virtual presencial donde se realizó la ponencia de los resultados de la investigación a un público de investigadores a nivel nacional e internacional mediante el uso de diapositivas.

La diversidad de audiencias alcanzadas en estos cuatro eventos subraya la importancia de difundir información sobre los impactos de los bioaerosoles. La socialización de los resultados desempeña un papel crucial en la promoción de la conciencia ambiental y en la toma de decisiones relacionadas con el medio ambiente, según señalan Palomino et al. (2022).

La participación de estudiantes de nivel básico y bachillerato en la 4ta Jornada Académica "AMBIENTALISTAS" se presenta como un elemento esencial, brindándoles la valiosa oportunidad de familiarizarse con problemas ambientales pertinentes desde una edad temprana, lo que puede considerarse como la siembra de la semilla de la conciencia ambiental en

sus mentes, de acuerdo con los argumentos presentados por Villamandos et al. (2019).

Por otro lado, la presentación en la Feria de Emprendimiento Institucional, XI Jornada Científica Estudiantil y al VI CIIDS a estudiantes universitarios e investigadores representa un público más especializado. Esto amplía la difusión de los resultados de la investigación y fomenta la colaboración interdisciplinaria en la búsqueda de soluciones para los problemas ambientales planteados como argumenta Espinoza et al. (2019).

La inclusión de estos eventos de sociabilización no solo contribuye a la promoción de prácticas más sostenibles y amigables con el medio ambiente en la comunidad local, sino que también establece un compromiso a nivel institucional. Además, al involucrar a jóvenes estudiantes, se cultiva un grupo potencial de futuros líderes y agentes de cambio en cuestiones ambientales, lo que fortalece la perspectiva a largo plazo de la investigación según R. Martínez (2010).

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La dispersión de aerosoles presenta una correlación directa con la velocidad del viento, manifestándose un aumento proporcional en la dispersión de bioaerosoles a medida que la velocidad del viento incrementa. Este fenómeno conlleva un riesgo potencial para los habitantes de zonas distantes. Es crucial recalcar que las condiciones meteorológicas, especialmente la dirección del viento, desempeñan un papel crítico en la ubicación estratégica de los puntos de monitoreo de bioaerosoles; la selección precisa de estos puntos es fundamental, ya que facilitará un análisis más detallado de la dispersión de partículas biológicas y su posible impacto en las zonas habitadas.
- Se evidencia una relación entre la presencia de bioaerosoles y la resistencia de microorganismos a antibióticos y metales pesados. Destaca que, entre los compuestos evaluados, los antibióticos influyen mínimamente en la resistencia microbiana. El tratamiento con Nitrato de Mercurio y Azitromicina (A2B1) exhibe el menor crecimiento de colonias, mientras que el Acetato de Plomo y Azitromicina (A1B1) presenta el mayor crecimiento, la entrada de la Laguna de Oxidación destaca como el punto con mayor prevalencia bacteriana.
- La sociabilización con diversas comunidades sobre el impacto ambiental y en la salud pública derivado de los bioaerosoles no solo impulsó la adopción de medidas de bioseguridad, sino que también catalizó un interés sustancial en futuras investigaciones colaborativas. En última instancia, la difusión activa durante eventos educativos demostró ser altamente eficaz para ampliar la conciencia sobre los riesgos vinculados con los bioaerosoles. Este enfoque no solo generó un mayor nivel de comprensión, sino también un

compromiso más profundo con prácticas sostenibles orientadas a preservar la salud humana y el entorno ambiental.

- La hipótesis inicial sugirió una asociación entre los bioaerosoles en las lagunas de oxidación de Bahía de Caráquez y la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados. Los resultados respaldan esta asociación, destacando que, de todos los compuestos evaluados, los antibióticos tuvieron el menor impacto en la presencia de microorganismos resistentes, posiblemente debido a una alta resistencia. Además, la interacción entre antibióticos y metales pesados potencia la eficacia de los antibióticos contra las bacterias resistentes. Aunque los datos relativos a los antibióticos no mostraron diferencias estadísticamente significativas, las interacciones específicas resaltaron la importancia de evaluar combinaciones de compuestos.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se sugiere llevar a cabo estudios exhaustivos para evaluar la exposición humana a bioaerosoles en las inmediaciones de las lagunas de oxidación. Asimismo, se recomienda realizar muestreos a lo largo del tiempo para abordar variaciones estacionales y climáticas que podrían influir en la dispersión de bioaerosoles. Estos estudios no solo proporcionarán información sobre los riesgos asociados con la exposición a bioaerosoles en estas áreas, sino que también respaldarán el desarrollo de estrategias de mitigación y prácticas de bioseguridad para proteger la salud pública y el entorno circundante.
- Se aconseja realizar una caracterización detallada de las bacterias presentes para determinar específicamente la relación de cada bacteria y evaluar su nivel de resistencia. Además, se recomienda ampliar la investigación hacia otros microorganismos, dando especial atención a los hongos

- Fomentar investigaciones adicionales, estudios de impactos y monitoreos continuos sobre los bioaerosoles de las lagunas de oxidación y otras fuentes significativas de bioaerosoles alrededor del territorio ecuatoriano. Esto permitirá una comprensión más profunda de la dinámica de la resistencia bacteriana en bioaerosoles y su impacto en la salud pública y el medio ambiente.
- Mejorar la colaboración interdisciplinaria de científicos de diferentes campos, como microbiología, ecología, epidemiología y salud pública, para abordar de manera integral los problemas relacionados con la resistencia bacteriana en bioaerosoles.
- Se recomienda promover que las entidades municipales consideren la inclusión de regulaciones específicas para controlar la liberación de bioaerosoles contaminados y la ubicación de poblados urbanos, así como mejorar los sistemas sanitarios en sus políticas de gestión ambiental.
- Se sugiere la implementación de programas educativos y de concienciación en colaboración con instituciones académicas. Estos programas deberían abordar los riesgos asociados con los bioaerosoles contaminados y la resistencia bacteriana, que a veces surge debido a la falta de conciencia ambiental en la población.

BIBLIOGRAFÍA

- Aktan, Y., Tan, S., y Içgen, B. (2013). Characterization of lead-resistant river isolate *Enterococcus faecalis* and assessment of its multiple metal and antibiotic resistance. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(6), 5285-5293. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2945-x>
- Alarcón, M., Zurita, F., Lara, J., y Vidal, G. (2018). Humedales de tratamiento: Alternativa de tratamiento de aguas residuales aplicable en América Latina. *Centro Eula*. <http://www.eula.cl/giba/wp-content/uploads/2018/06/humedales-de-tratamiento-alternativa-de-saneamiento-de-aguas-residuales-aplicables-en-Am%C3%A9rica-Latina.pdf>
- Almeida, A., Elian, S., y Nobre, J. (2008). Modificações e alternativas aos testes de Levene e de Brown e Forsythe para igualdade de variâncias e médias. *Revista Colombiana de Estadística*, 31(2), 241-260.
- Amat, J. (2016). *Análisis de normalidad: Gráficos y contrastes de hipótesis con R*. Cienciadedatos. https://www.cienciadedatos.net/documentos/8_analisis_normalidad
- Arispe Alburqueque, C. M. (2020). *La investigación científica*. Universidad Internacional del Ecuador, Guayaquil.
- Arteaga, G. (2022, agosto 13). *¿Qué es una revisión bibliográfica? | Estructura y guía*. Testsiteforme. <https://www.testsiteforme.com/que-es-una-revision-bibliografica/>
- Arya, S., Williams, A., Reina, S. V., Knapp, C. W., Kreft, J.-U., Hobman, J. L., y Stekel, D. J. (2021). Towards a general model for predicting minimal metal concentrations co-selecting for antibiotic resistance plasmids. *Environmental Pollution*, 275, 116602. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116602>

- Constitución de la República del Ecuador, Decreto Legislativo 0, Registro Oficial 449 (2008). <https://www.cec-eqn.edu.ec/wp-content/uploads/2016/03/Constitucion.pdf>
- Avafia, T., y Cars, O. (2019, noviembre 20). *Antimicrobial resistance; an emerging crisis*. United Nations Development Programme. https://www.undp.org/blog/antimicrobial-resistance-emerging-crisis?utm_source=EN&utm_medium=GSR&utm_content=US_UNDP_PaidSearch_Brand_English&utm_campaign=CENTRAL&c_src=CENTRAL&c_src2=GSR&gclid=Cj0KCQjwwfiaBhC7ARIsAGvcPe5qzcngrkk_WD5TRhNxVk8y9nhh6_nskgwmBdCUGPL1eoXEoCoZ1TwaAovUEALw_wcB
- Bakkali, M. (2013). Could DNA uptake be a side effect of bacterial adhesion and twitching motility? *Archives of Microbiology*, 195(4), 279-289. <https://doi.org/10.1007/s00203-013-0870-1>
- Banchón, C., Borodulina, T., Diaz, L., y Yasuji, A. (2020). Aerobiología en hospitales de Guayaquil: Microorganismos resistentes a cobre. *Revista de Investigaciones en Energía, Medio Ambiente y Tecnología: RIEMAT ISSN: 2588-0721*, 4(2), 44. <https://doi.org/10.33936/riemat.v4i2.2195>
- Banchón, C., Vivas, T., Aveiga, A., y Diaz, L. (2021). Airborne Bacteria from Wastewater Treatment and their Antibiotic Resistance: A Meta-Analysis. *Journal of Ecological Engineering*, 22(10), 205-214. <https://doi.org/10.12911/22998993/142207>
- Baron, P. A. (2016). Factors Affecting Aerosol Sampling. *El Instituto Nacional Para La Seguridad y Salud Ocupacional [NIOSH]*, 5(1), 35.
- Bauer, L. (2022, diciembre 6). *Vientos en la escala de Beaufort*. Wind Turbine Models. <https://es.wind-turbine-models.com/winds>
- Baxendale, C., Buzai, G., Cacace, G., Caloni, N., Juárez, A., y Villanueva, M. (2015). *Sistemas de información geográfica en la investigación*

científica actual. https://www.ungs.edu.ar/wp-content/uploads/2018/03/668_SIG-Actual_FINAL_web.pdf

BBC News Mundo. (2022, enero 20). «*Pandemia silenciosa*»: Las infecciones por bacterias resistentes a antibióticos matan más personas que la malaria y el sida. BBC. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-60073805>

Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., y Larsson, D. G. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(1). <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>

Bhardwaj, P. (2019). Types of sampling in research. *Journal of the Practice of Cardiovascular Sciences*, 5(3), Article 3. https://doi.org/10.4103/jpcs.jpcs_62_19

Box, G. E., Hunter, J. S., y Hunter, W. G. (2008). *Estadística para investigadores*. Editorial Reverté.

Bravo, Z., Orruño, M., Parada, C., Kaberdin, V. R., Barcina, I., y Arana, I. (2016). The long-term survival of *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606T under nutrient-deprived conditions does not require the entry into the viable but non-culturable state. *Archives of Microbiology*, 198(5), 399-407. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1200-1>

Bruni, E., Simonetti, G., Bovone, B., Casagrande, C., Castellani, F., Riccardi, C., Pomata, D., Di Filippo, P., Federici, E., Buiarelli, F., y Uccelletti, D. (2019). Evaluation of Bioaerosol Bacterial Components of a Wastewater Treatment Plant Through an Integrate Approach and In Vivo Assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/ijerph17010273>

Buta, M., Korzeniewska, E., Harnisz, M., Hubeny, J., Zieliński, W., Rolbiecki, D., Bajkacz, S., Felis, E., y Kokoszka, K. (2021). Microbial and

chemical pollutants on the manure-crops pathway in the perspective of “One Health” holistic approach. *Science of The Total Environment*, 785, 147411. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147411>

Butler, E., Hung, Y.-T., Suleiman Al Ahmad, M., Yeh, R. Y.-L., Liu, R. L.-H., y Fu, Y.-P. (2017). Oxidation pond for municipal wastewater treatment. *Applied Water Science*, 7(1), 31-51. <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0285-z>

Byliński, H., Gębicki, J., y Namieśnik, J. (2019). Evaluation of Health Hazard Due to Emission of Volatile Organic Compounds from Various Processing Units of Wastewater Treatment Plant. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(10), 1712. <https://doi.org/10.3390/ijerph16101712>

Cabrera, M., Montenegro, L., y Jiménez, A. (2022). Análisis de un Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales de una Industria de Embutidos. *Revista Politécnica*, 49(2), Article 2. <https://doi.org/10.33333/rp.vol49n2.05>

Can-Güven, E. (2022). The current status and future needs of global bioaerosol research: A bibliometric analysis. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(8), 7857-7868. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03683-7>

Cárdenas, L. L. (2022, septiembre 10). *Aire y pandemia* [Periodismo]. El Universo. <https://www.eluniverso.com/opinion/cartas-al-director/aire-y-pandemia-nota/>

Carme, M., Alonso, R., y Constans, A. (2000). *NTP 571: Exposición a agentes biológicos: Equipos de protección individual*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. https://www.insst.es/documents/94886/327064/ntp_571.pdf/afa2c09a-4661-4972-8bb6-d2b5c8574c71

- Ceja, Z. (2019). *Tratamiento de aguas residuales*. Foro Consultivo Científico y Tecnológico. https://www.foroconsultivo.org.mx/INCYTU/documentos/Completa/INCYTU_19-028.pdf
- Cercenado, E., y Saavedra-Lozano, J. (2009). El antibiograma. Interpretación del antibiograma: Conceptos generales (I). *Anales de Pediatría Continuada*, 7(4), 214-217. [https://doi.org/10.1016/S1696-2818\(09\)71927-4](https://doi.org/10.1016/S1696-2818(09)71927-4)
- Chang, R., y Goldsby, K. A. (2013). *Química* (S. Sarmiento Ortega y E. Jasso Hernán, Trads.; Undécima edición). McGraw-Hill/Interamericana.
- Chapman, A., y Wieczorek, J. (2020). *Guía de buenas prácticas de georreferenciación*. Copenhague: Secretariado de GBIF. <https://docs.gbif.org/georeferencing-best-practices/1.0/es/>
- Cho, Y. S., Kim, H. R., Ko, H. S., Jeong, S. B., Chan Kim, B., y Jung, J. H. (2020). Continuous Surveillance of Bioaerosols On-Site Using an Automated Bioaerosol-Monitoring System. *ACS Sensors*, 5(2), 395-403. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b02001>
- Cohen, N., y Gómez Rojas, G. (2019). *Metodología de la investigación, ¿para qué?: La producción de los datos y los diseños*. Teseo.
- Coral, K., Rodríguez, M. A., y Oviedo, J. E. (2018). Riesgo biológico en el aire respirable de los minadores de basura en la Et2 Zámiza en Quito-Ecuador. *Ambiente y Desarrollo*, 21(41), 79-92. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.ayd21-41.rbar>
- Correa, J., Iral, R., y Rojas, L. (2006). Estudio de potencia de pruebas de homogeneidad de varianza. *Revista Colombiana de Estadística*, 29(1), 57-76.

- Dagnino, J. (2014). Análisis de Varianza. *Revista Chilena de Anestesia*, 43, 306-310.
- De la Rosa, M., Mosso, M., y Ullán, C. (2002). El aire: Hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*, 5, 375-402.
- Després, V. R., Huffman, J. A., Burrows, S. M., Hoose, C., Safatov, A. S., Buryak, G., Fröhlich-Nowoisky, J., Elbert, W., Andreae, M. O., Pöschl, U., y Jaenicke, R. (2012). Primary biological aerosol particles in the atmosphere: A review. *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*, 64(1), 15598. <https://doi.org/10.3402/tellusb.v64i0.15598>
- Diario La Hora. (2007, mayo 16). *Muerte de neonatos, condenada al olvido*. Diario La Hora. <https://www.lahora.com.ec/noticias/muerte-de-neonatos-condenada-al-olvido/>
- Díaz, E., Alavarado, A., y Camacho, K. (2012). *El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: El caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE)* (1). 14(1), Article 1.
- Dong, L., Qi, J., Shao, C., Zhong, X., Gao, D., Cao, W., Gao, J., Bai, R., Long, G., y Chu, C. (2016). Concentration and size distribution of total airborne microbes in hazy and foggy weather. *Science of The Total Environment*, 541, 1011-1018. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.001>
- Drew, G. H., Longhurst, Pollard, S. J., Smith, R., y Tyrrel, S. F. (2008). *Development of amenity risk assessments at organic waste treatment facilities*. Environment Agency. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/291680/scho0607bmtx-e-e.pdf
- El Comercio. (2022, agosto 22). *Expertos alertan de la «pandemia silenciosa»*. El Comercio.

<https://www.elcomercio.com/tendencias/ciencia/expertos-alerta-pandemia-silenciosa-bacterias.html>

El Universo. (2006, mayo 21). *Son 29 bebés los muertos por errores en hospital.* El Universo. <https://www.eluniverso.com/2006/05/21/0001/12/0905E9C4A2504AC19512EA0BBE150AB2.html/>

Environmental Systems Research Institute [ESRI]. (2019). *Normal QQ plot and general QQ plot.* Data distribution and transformation: ArcGis Desktop. <https://desktop.arcgis.com/es/arcmap/latest/extensions/geostatistical-analyst/normal-qq-plot-and-general-qq-plot.htm>

Espejel, A., Flores, A., y Castillo, I. (2012). La educación ambiental en el bachillerato: El caso de los docentes que imparten la materia de ecología, Puebla-Tlaxcala (México). *Profesorado. Revista de Currículum y Formación de Profesorado*, 16(3), 331-339.

Espinoza, C., Custodio, M., y Uribe, M. (2019). *Carácter interdisciplinar de proyectos de investigación y la solución de problemas ambientales y sociales (23-24).* 40(23-24), Article 23-24.

Fan, X.-Y., Gao, J.-F., Pan, K.-L., Li, D.-C., Dai, H.-H., y Li, X. (2019). More obvious air pollution impacts on variations in bacteria than fungi and their co-occurrences with ammonia-oxidizing microorganisms in PM_{2.5}. *Environmental Pollution*, 251, 668-680. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.004>

Federación de Científicos Europeos de Osteopatía. (2014). *Las pruebas estadísticas.* Scientific European Federation Osteopaths. <https://www.scientific-european-federation-osteopaths.org/las-pruebas-estadisticas/>

Feria, J., y Martínez, L. (2014). Tratamiento de Lodos de Fondo de Lagunas Facultativas con Estabilización en Condiciones de Laboratorio.

Revista Escuela de Ingeniería de Antioquia, 11(21), 113-122.
<http://dx.doi.org/10.14508/reia.2014.11.21.113-122>

Fernández, A., García, C., Saéz, J., y Valdezate, S. (2010). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. SEIMC.
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

Flores Muñoz, P. J. (2018). El riesgo de pre-testear el supuesto de homocedasticidad en las pruebas de comparación de medias. Estudio para casos balanceados. *Revista Perspectiva*, 19(1), 55-67.

Flores, P., Ocaña, J., y Sánchez, T. (2018). Verificación de supuestos en las pruebas de comparación de medias. Una revisión. *Ciencia Digital*, 2(4.1.), 5-22. <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v2i4.1..187>

Flores-Ruiz, E., Miranda-Novales, M. G., y Villasís-Keever, M. Á. (2017). El protocolo de investigación VI: Cómo elegir la prueba estadística adecuada. Estadística inferencial. *Revista Alergia México*, 64(3), 364-370. <https://doi.org/10.29262/ram.v64i3.304>

Fragoso-Castilla, P. J., Rubiano, L. A., y Kerguelen, J. J. (2021). Análisis de variables físico-químicas en el proceso de remoción de coliformes en el sistema de lagunas de oxidación, Salguero, Valledupar (Colombia). *Información Tecnológica*, 32(1), Article 1. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642021000100113>

Fuller, R., Landrigan, P. J., Balakrishnan, K., Bathan, G., Bose-O'Reilly, S., Brauer, M., Caravanos, J., Chiles, T., Cohen, A., Corra, L., Cropper, M., Ferraro, G., Hanna, J., Hanrahan, D., Hu, H., Hunter, D., Janata, G., Kupka, R., Lanphear, B., ... Yan, C. (2022). Pollution and health: A progress update. *The Lancet Planetary Health*, 6(6), e535-e547. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(22\)00090-0](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(22)00090-0)

Galán, D., Ruíz, F., y Díaz, G. (2018). *Metodología para la toma de muestra de microorganismos altamente patógenos en las matrices*

ambientales aire, agua y suelo/sedi.
<http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=25/01/2019-f06e501959>

Gallo, M. (2011, febrero 19). *Se halló bacteria en 5 bebés muertos y en 3 que aún están en Neonatología.* El Universo. <https://www.eluniverso.com/2011/02/19/1/1445/hallo-bacteria-5-bebes-muertos-3-aun-estan-neonatologia.html>

García, J., Cantón, R., García Sánchez, J. E., Gómez-Lus, M. L., Martínez Martínez, L., Rodríguez-Avial, C., y Vila, J. (2000). *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos* (J. Picazo, Ed.). <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

Ghosh, B., Lal, H., y Srivastava, A. (2015). Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environment International*, 85, 254-272. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.09.018>

Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Morfín-Otero, M. D. R., Torres-López, F. J., y Alcántar-Curiel, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta Médica de México*, 156(2), Article 2. <https://doi.org/10.24875/GMM.20005624>

Gómez, G., y Batista, C. (2006). *Optimización de medios de cultivos para microorganismos, una valiosa estrategia para la producción de biopreparados de interés agrícola* (3). 27(3), Article 3.

González, P. (2015). *Levantamiento mediante GPS.* Universidad Politécnica de Cartagena. <https://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/4651/pfc5890.pdf>

- Govin-Sanjudo, A., Reyes-Palmero, M., Guerra-Quintana, M., y Sánchez-López, M. (2020). Caracterización de bacterias resistentes a metales pesados aisladas de un residual minero cubano. *Minería y Geología*, 36(2), 188-203.
- Guo, X., Wu, P., Ding, W., Zhang, W., y Li, L. (2014). Reduction and characterization of bioaerosols in a wastewater treatment station via ventilation. *Journal of Environmental Sciences*, 26(8), Article 8. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.06.001>
- Haas, D., Galler, H., Luxner, J., Zarfel, G., Buzina, W., Friedl, H., Marth, E., Habib, J., y Reinthaler, F. F. (2013). The concentrations of culturable microorganisms in relation to particulate matter in urban air. *Atmospheric Environment*, 65, 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.10.031>
- Herrera, M. L. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: Metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 34, 33-41.
- Herrera-Araya, D. (2022). Perspectivas e investigación reciente sobre retroalimentación en el aula: Consideraciones para un enfoque pedagógico y dialógico. *Revista Electrónica Educare*, 27(1), Article 1. <https://doi.org/10.15359/ree.27-1.14547>
- Hong, B., Qin, H., Jiang, R., Xu, M., y Niu, J. (2018). How Outdoor Trees Affect Indoor Particulate Matter Dispersion: CFD Simulations in a Naturally Ventilated Auditorium. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/ijerph15122862>
- Humbal, C., Gautam, S., y Trivedi, U. (2018). A review on recent progress in observations, and health effects of bioaerosols. *Environment International*, 118, 189-193. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.053>

- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2013). *Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y Conservación de Muestras*. <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2169-AGUA.-CALIDAD-DEL-AGUA.-MUESTREO.-MANEJO-Y-CONSERVACION-DE-MUESTRAS.pdf?x42051#:~:text=1.1%20Esta%20norma%20establece%20las,biol%C3%B3gicos%20pero%20no%20an%C3%A1lisis%20microbiol%C3%B3gicos>
- Iwu, C. D., Korsten, L., y Okoh, A. I. (2020). The incidence of antibiotic resistance within and beyond the agricultural ecosystem: A concern for public health. *MicrobiologyOpen*, 9(9). <https://doi.org/10.1002/mbo3.1035>
- Izzeddin, N., Medina, L., y Rojas, T. (2011). Evaluación de bioaerosoles en ambientes de centros de salud de la ciudad de Valencia, Venezuela.pdf. *Kasmera*, 39(1), : 59-67.
- Ji, J. H., Bae, G.-N., Yun, S. H., Jung, J. H., Noh, H. S., y Kim, S. S. (2007). Evaluation of a Silver Nanoparticle Generator Using a Small Ceramic Heater for Inactivation of *S. epidermidis* Bioaerosols. *Aerosol Science and Technology*, 41(8), 786-793. <https://doi.org/10.1080/02786820701459932>
- Juaréz, A. (2018). *Metodología para la elaboración digital de mapas: Caso Volcán Nevado de Toluca* (2). 2, Article 2.
- Kim, T. K. (2015). T test as a parametric statistic. *Korean Journal of Anesthesiology*, 68(6), Article 6. <https://doi.org/10.4097/kjae.2015.68.6.540>
- King, M. D., Lacey, R. E., Pak, H., Fearing, A., Ramos, G., Baig, T., Smith, B., y Koustova, A. (2020). Assays and enumeration of bioaerosols-traditional approaches to modern practices. *Aerosol Science and*

Technology, 54(5), 611-633.
<https://doi.org/10.1080/02786826.2020.1723789>

Kumar, S. (2020, julio 30). *How to Verify the Distribution of Data using Q-Q Plots? Understand Q-Q plots and implement it in Python*. Towards Data Science. <https://towardsdatascience.com/how-to-verify-the-distribution-of-data-using-q-q-plots-acdb7ca2d576>

Larsson, D. G. J., y Flach, C.-F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257-269.
<https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>

Lee, G., y Yoo, K. (2022). A review of the emergence of antibiotic resistance in bioaerosols and its monitoring methods. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 21(3), Article 3.
<https://doi.org/10.1007/s11157-022-09622-3>

Li, J., Zhou, L., Zhang, X., Xu, C., Dong, L., y Yao, M. (2016). Bioaerosol emissions and detection of airborne antibiotic resistance genes from a wastewater treatment plant. *Atmospheric Environment*, 124, 404-412. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.06.030>

Li, M., Wang, L., Qi, W., Liu, Y., y Lin, J. (2021). Challenges and Perspectives for Biosensing of Bioaerosol Containing Pathogenic Microorganisms. *Micromachines*, 12(7), 798.
<https://doi.org/10.3390/mi12070798>

Limón, J. (2013). *Los lodos de las plantas de tratamiento de aguas residuales, ¿Problema o Recurso?*
https://sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/LIM%C3%93N%202013.%20Los%20lodos%20de%20las%20plantas%20de%20tratamiento%20de%20aguas.pdf

Lindsley, W. G., Green, B. J., Blachere, F. M., Martin, S. B., Jensen, P. A., y Schafer, M. P. (2017). Sampling and characterization of

bioaerosols. *El Instituto Nacional Para La Seguridad y Salud Ocupacional [NIOSH]*, 5(1), 115.

Llop Hernández, A., Valdés-Dapena Vivanco, M., y Zuazo Silva, J. (2001). *Microbiología y parasitología médicas*. Editorial Ciencias Médicas. https://www.researchgate.net/publication/288670374_Cultivo_y_creCIMIENTO_de_los_microorganismos

López, P. L. (2004). Población, Muestra y Muestreo. *Punto Cero*, 9(8), 69-74.

Madhwal, S., Prabhu, V., Sundriyal, S., y Shridhar, V. (2020). Ambient bioaerosol distribution and associated health risks at a high traffic density junction at Dehradun city, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(3), 196. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8158-9>

Malbrán, C. (2012). Método de Determinación de Sensibilidad Antimicrobiana por Dilución. *MIC testing*, 32(2). <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>

Maldonado-Vega, M., Peña-Cabriales, J. J., Castellanos-Arévalo, A. P., Camarena-Pozos, D., Arévalo-Rivas, B., y Valdés-Santiago, L. (2014). Bioaerosoles y evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios ubicados en León, Guanaguato, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(4), 351-363.

Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., y Biondo, C. (2021). Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>

Mao, D., Yu, S., Rysz, M., Luo, Y., Yang, F., Li, F., Hou, J., Mu, Q., y Alvarez, P. J. J. (2015). Prevalence and proliferation of antibiotic resistance

- genes in two municipal wastewater treatment plants. *Water Research*, 85, 458-466. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.010>
- Martín, S. G., y Lafuente, V. (2017). Referencias bibliográficas: Indicadores para su evaluación en trabajos científicos. *Investigación Bibliotecológica. Archivonomía, Bibliotecología e Información*, 31(71), Article 71. <https://doi.org/10.22201/iibi.0187358xp.2017.71.57814>
- Martínez, A., Cruz, M., Veranes, O., Caballo, M. E., Salgado, I., Olivares, S., Lima, L., y Rodríguez, D. (2010). Resistencia a antibióticos y a metales pesados en bacterias aisladas del río Almondarés. *Revista Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ciencias Biológicas*, 41(2010), 1-10.
- Martínez, R. (2010). *La importancia de la educación ambiental ante la problemática actual*. XIV, 97-111.
- Martínez Salinas, F. J. (2023). La conciencia ambiental en los estudiantes de educación primaria pública. *Horizontes. Revista de Investigación en Ciencias de la Educación*, 7(28), Article 28. <https://doi.org/10.33996/revistahorizontes.v7i28.555>
- Masindi, V., y Muedi, K. L. (2018). Environmental Contamination by Heavy Metals. En H. E.-D. M. Saleh y R. F. Aglan (Eds.), *Heavy Metals*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76082>
- Matos, F., Contreras, F., y Oyala, J. (2020). *Estadística Descriptiva y Probabilidad para las Ciencias de la Información con el uso del SPSS*. Asociación de Bibliotecólogos del Perú. <http://eprints.rclis.org/40470/1/ESTADISTICA%20DESCRIPTIVA.pdf>
- Maurandi-López, A., Del Río Alonso, L., González-Vidal, A., Ferre Jaén, M. E., y Hernández Vicente, Á. (2019). *Fundamentos Estadísticos para*

Investigación. Introducción a R y Modelos.
<https://doi.org/10.5281/ZENODO.2628915>

MedlinePlus. (2020, noviembre 19). *Prueba de sensibilidad a los antibióticos* [Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.)]. MedlinePlus en español. <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/prueba-de-sensibilidad-a-los-antibioticos/#:~:text=La%20prueba%20de%20sensibilidad%20a%20los%20antibi%C3%B3ticos%20se%20usa%20para,contra%20ciertas%20infecciones%20por%20hongos.>

Mendenhall, W., Beaver, R. J., y Beaver, B. M. (2020). *Introduction to probability and statistics* (15th Edition). Cengage.

Ministerio del Ambiente. (2010). *Propuesta de lineamiento para la vigilancia sanitaria y ambiental del impacto de los olores ofensivos en la salud y calidad de vida de las comunidades expuestas en áreas urbanas.* Agencia Suiza Para el Desarrollo y la Cooperación [COSUDE]; PDF. <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/libro-calidad-aire-1-final.pdf>

Código Orgánico del Ambiente, Pub. L. No. Ley 0, Registro Oficial Suplemento 983 (2017). <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/09/Codigo-Organico-del-Ambiente.pdf>

Mondragón, V. A., Llamas-Pérez, D. F., González-Guzmán, G. E., Márquez-González, A. R., Padilla-Noriega, R., Durán-Avelar, Ma. de J., y Franco, B. (2011). Identification of *Enterococcus faecalis* bacteria resistant to heavy metals and antibiotics in surface waters of the Mololoa River in Tepic, Nayarit, Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*, 183(1-4), 329-340. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-1924-y>

- Montgomery, D. C. (2017). *Design and analysis of experiments* (Ninth edition). John Wiley y Sons, Inc.
- Moore, D. S., McCabe, G. P., y Craig, B. A. (2017). *Introduction to the practice of statistics* (Ninth edition). W.H. Freeman, Macmillan Learning.
- Moreno, E. (2008). *Manual de Uso de SPSS* (Instituto Uiversitario de Educación a Distancia). http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:500727/Guia_SPSS.pdf
- Muñoz, D. (2005). *Sistema de tratamiento de aguas residuales de matadero: Para una población menor 2000 habitantes* (1). 3(1), Article 1. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6117975>
- Nair, A. T. (2021). Bioaerosols in the landfill environment: An overview of microbial diversity and potential health hazards. *Aerobiologia*. <https://doi.org/10.1007/s10453-021-09693-9>
- Navarro, A., Sanseverino, I., Cappelli, F., Lahm, A., Niegowska, M., Fabbri, M., Paracchini, V., Petrillo, M., Skejo, H., Valsecchi, S., Pedraccini, R., Guglielmetti, S., Frattini, S., Villani, G., y Lettieri, T. (2022). Study of antibiotic resistance in freshwater ecosystems with low anthropogenic impact. *Science of The Total Environment*, 857, 159378. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159378>
- Nguyen, C. C., Hugie, C. N., Kile, M. L., y Navab-Daneshmand, T. (2019). Association between heavy metals and antibiotic-resistant human pathogens in environmental reservoirs: A review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 13(3), Article 3. <https://doi.org/10.1007/s11783-019-1129-0>
- O'Malley, K., McNamara, P., y McDonald, W. (2021). Antibiotic resistance genes in an urban stream before and after a state fair. *Journal of Water and Health*, 19(6), 885-894. <https://doi.org/10.2166/wh.2021.151>

- Ordóñez, J., Lopez, E., y Aránguez, E. (2008). Propuestas para el Plan Nacional de Salud y Medio Ambiente. *Revista De Salud Ambiental*, 8(2), 81-88.
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (2022, mayo 24). *Objetivos de Desarrollo Sostenibles*. ONU. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2016). *Cada año mueren 12,6 millones de personas a causa de la insalubridad del medio ambiente*. World Health Organization. <https://www.who.int/es/news/item/15-03-2016-an-estimated-12-6-million-deaths-each-year-are-attributable-to-unhealthy-environments>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2020, octubre 13). *Antimicrobial resistance*. World Health Organization. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2021). *Air pollution*. World Health Organization. https://www.who.int/health-topics/air-pollution#tab=tab_1
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2022, julio 27). *Contaminación del aire doméstico y salud*. World Health Organization. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/household-air-pollution-and-health>
- Organización Panamericana de la Salud [PAHO]. (2016). *Resistencia Antimicrobiana en Producción Animal*. PAHO. <https://www.paho.org/es/panaftosa/resistencia-antimicrobiana-produccion-animal>
- Organización Panamericana de la Salud [PAHO]. (2021, noviembre 17). *Aumentan las infecciones resistentes a los medicamentos en las Américas debido al mal uso de los antimicrobianos durante la*

pandemia—OPS/OMS. PAHO. <https://www.paho.org/es/noticias/17-11-2021-aumentan-infecciones-resistentes-medicamentos-americas-debido-al-mal-uso>

- Osińska, A., Korzeniewska, E., Harnisz, M., Felis, E., Bajkacz, S., Jachimowicz, P., Niestępski, S., y Konopka, I. (2020). Small-scale wastewater treatment plants as a source of the dissemination of antibiotic resistance genes in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 381, 121221. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121221>
- Palomino Rojas, R. J., Nima Olaya, M. C., Huailapuma Santa Cruz, L. M., y Sifuentes Pinto, N. (2022). La conciencia ambiental como ética del buen vivir. *Horizontes. Revista de Investigación en Ciencias de la Educación*, 6(26), Article 26. <https://doi.org/10.33996/revistahorizontes.v6i26.480>
- Pardo, A., Garrido, J., Ruiz, M., y San Martín, R. (2007). La interacción entre factores en el análisis de varianza: Errores de interpretación. *Psicothema*, 19(2), 343.349.
- Peña, C. (2005). Legislación ecuatoriana y biotecnología. *Revista de derecho - Universidad Andina Simón Bolívar*, 4(1). <https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/foro/article/download/291/290>
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., y Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, 109(7), Article 7. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
- Quinn, G. P., y Keough, M. J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press.
- Ramírez, J., Medina, Y., y Uscanga, I. (2018). *Manual de Laboratorio de Microbiología*. Universidad Veracruzana. <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Microbiologia.pdf>

- Ramírez-Alán, O. (2017). *Correlación y Regresión Lineal*. RPubS. <https://rpubs.com/osoramirez/316691>
- Ramos, R., y Meza, V. (2017). Efectos de algunos factores meteorológicos sobre la concentración de esporas de hongos en la Plaza San Martín de Lima. *Ecología Aplicada*, 16(2), 143-149.
- Reygaert, W. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3), Article 3. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
- Roberto, A. A., Van Gray, J. B., Engohang-Ndong, J., y Leff, L. G. (2019). Distribution and co-occurrence of antibiotic and metal resistance genes in biofilms of an anthropogenically impacted stream. *Science of The Total Environment*, 688, 437-449. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.053>
- Rodrigo, J. A. (2016, enero). *Test Kruskal-Wallis*. Cienciadedatos. https://www.cienciadedatos.net/documentos/20_kruskal-wallis_test
- Rodríguez-Benavides, G., y Blanco-Sáenz, R. (2001). Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17 025 en laboratorios clínicos y químicos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 22(1), 83-97.
- Rojas, J. G. (2023, mayo 4). *Comprobación de la adecuación del modelo*. RPubS. <https://rpubs.com/Jairo182004/1036120>
- Román, V. (2022, octubre 30). *Descubren cómo fue el aumento de superbacterias resistentes a los antibióticos en América Latina durante la pandemia*. infobae. <https://www.infobae.com/america/ciencia-america/2022/10/30/descubren-como-fue-el-aumento-de-superbacterias-resistentes-a-los-antibioticos-en-america-latina-durante-la-pandemia/>

- Romero López, T. de J., y Castillo Torres, Y. C. (2018). Actualización del estado de las lagunas de estabilización de la provincia Mayabeque.pdf. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 39(2), 72-85.
- Rumky, J., Kruglova, A., y Repo, E. (2022). Fate of antibiotic resistance genes (ARGs) in wastewater treatment plant: Preliminary study on identification before and after ultrasonication. *Environmental Research*, 215, 114281. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114281>
- Sadigh, A., Fataei, E., Arzanloo, M., y Imani, A. A. (2021). Bacteria bioaerosol in the indoor air of educational microenvironments: Measuring exposures and assessing health effects. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 19(2), Article 2. <https://doi.org/10.1007/s40201-021-00719-5>
- Sáez, E. (2017). *Análisis de la calidad del aire interior en función de la tipología de ventilación*. Universitat de València. https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/85368/memoria_53760460.pdf?sequence=1
- Salavarría, O., Eastmond, A., Ayala, M., Isaac-Márquez, R., Arteaga, M., Isaac-Márquez, A., Sandoval, J., y Manzanero, L. (2011). Cultura ambiental en estudiantes de bachillerato. Estudio de caso de la educación ambiental en el nivel medio superior de Campeche. *Revista electrónica de investigación educativa*, 13(2), 83-99.
- Samreen, Ahmad, I., Malak, H. A., y Abulreesh, H. H. (2021). Environmental antimicrobial resistance and its drivers: A potential threat to public health. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 27, 101-111. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.001>
- Sánchez, E., Núñez, D., Cruz, R., Torres, M., y Herrera, E. (2017). Simulación y Conteo de Unidades Formadoras de Colonias. *Revista*

electrónica de Computación, Informática, Biomédica y Electrónica, 6(1), 97-111.

Secretaría Nacional de Planificación. (2021). *Plan de Creación de Oportunidades 2021-2025*.
https://observatorioplanificacion.cepal.org/sites/default/files/plan/files/Plan-de-Creaci%C3%B3n-de-Oportunidades-2021-2025-Aprobado_compressed.pdf

Código Ecuatoriano de la Construcción, Parte IX, Obras Sanitarias, Pub. L. No. Registro Oficial N° 6 1992-08-18, 10.07-601 Normas para el estudio y diseño de sistemas de agua potable y disposición de aguas residuales para poblaciones mayores a 1000 habitantes. 420 (1992).
<https://inmobiliariadja.files.wordpress.com/2016/09/norma-co-10-7-602-poblacion-mayor-a-1000-habitantes.pdf>

Serra Valdés, M. Á. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(3), 402-419.

Serwecińska, L. (2020). Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health. *Water*, 12(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/w12123313>

Shammi, M., Rahman, M. M., y Tareq, S. M. (2021). Distribution of Bioaerosols in Association With Particulate Matter: A Review on Emerging Public Health Threat in Asian Megacities. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 698215.
<https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.698215>

Singh, A. (2021). An Introduction to Experimental and Exploratory Research. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3789360>

- Smith, B., y Reiser, B. (2005). Explaining Behavior Through Observational Investigation and Theory Articulation. *The Journal of the Learning Sciences*, 14(3), 315-360.
- Smyth, C., O'Flaherty, A., Walsh, F., y Do, T. T. (2020). Antibiotic resistant and extended-spectrum β -lactamase producing faecal coliforms in wastewater treatment plant effluent. *Environmental Pollution*, 262, 114244. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114244>
- Soares, G. M. S., Teles, F., Starr, J. R., Feres, M., Patel, M., Martin, L., y Teles, R. (2015). Effects of Azithromycin, Metronidazole, Amoxicillin, and Metronidazole plus Amoxicillin on an *In Vitro* Polymicrobial Subgingival Biofilm Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(5), Article 5. <https://doi.org/10.1128/AAC.04974-14>
- Statology. (2021). *How to Use Q-Q Plots to Check Normality*. How to Use Q-Q Plots to Check Normality. Statology. <https://www.statology.org/q-q-plot-normality/>
- Tchounwou, P., Yedjou, C., Patlolla, A., y Sutton, D. (2012). *Toxicidad de los metales pesados y el medio ambiente* (Vol. 101). Springer. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Thomas, G. R., Corso, A., Pasterán, F., Shal, J., Sosa, A., Pillionetto, M., de Souza Peral, R. T., Hormazábal, J. C., Araya, P., Saavedra, S. Y., Ovalle, M. V., Jiménez Pearson, M. A., Chacón, G. C., Carbon, E., Mazariegos Herrera, C. J., Velásquez, S. del C. G., Satan-Salazar, C., Villavicencio, F., Touchet, N. M., ... Melano, R. G. (2022). Increased Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacterales Bacteria in Latin America and the Caribbean during the COVID-19 Pandemic. *Emerging Infectious Diseases*, 28(11), 1-8. <https://doi.org/10.3201/eid2811.220415>
- Tulio, J., y Prado, D. (2005). *Microbiología: Lo esencial y lo práctico* (Primera). Universidad Francisco Marroquín.

https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51601/MicrobiologiaPractico_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, Md. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, Md. J., y Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), Article 12. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>

Unidad de Diseño Urbano Post-terremoto Ecuador 2016 #2 [UD2]. (2016). *Plan Indicativo de Desarrollo Urbano—Bahía de Caráquez* (p. 85). Ministerio de Desarrollo Urbano y Vivienda [MIDUVI]. <https://docplayer.es/114715020-Plan-indicativo-de-desarrollo-urbano-bahia-de-caraquez.html>

Vásquez, F. (2016). Lagunas de estabilización. *Revistas UNNE*. <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/eitt/article/download/3004/2672>

Vazquez-Pertejo, M. T. (2022). *Métodos de identificación de las enfermedades infecciosas no basados en los ácidos nucleicos—Enfermedades infecciosas—Manual MSD versión para profesionales*. MSD Manuals. <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/m%C3%A9todos-de-identificaci%C3%B3n-de-las-enfermedades-infecciosas-no-basados-en-los-%C3%A1cidos-nucleicos>

Veranes, O. (2013). Evaluación de la resistencia a antibióticos y a metales pesados en aislados bacterianos del río almendares. *Revista Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ciencias Biológicas*, 44(3), Article 3.

- Verch, T., Campa, C., Chéry, C. C., Frenkel, R., Graul, T., Jaya, N., Nakhle, B., Springall, J., Starkey, J., Wypych, J., y Ranheim, T. (2022). Analytical Quality by Design, Life Cycle Management, and Method Control. *The AAPS Journal*, 24(1), Article 1. <https://doi.org/10.1208/s12248-022-00685-2>
- Villamandos De La Torre, F., Gomera Martínez, A., y Antúnez López, M. (2019). Conciencia ambiental y sostenibilización curricular, dos herramientas en el camino hacia la sostenibilidad de la Universidad de Córdoba. *REVISTA DE EDUCACIÓN AMBIENTAL Y SOSTENIBILIDAD*, 1(1), Article 1. https://doi.org/10.25267/Rev_educ_ambient_sostenibilidad.2019.v1.i1.1301
- Villas, M. V., Macedo-Soares, T. D. L. van A. de, y Russo, G. M. (2008). Bibliographical research method for business administration studies: A model based on scientific journal ranking. *BAR - Brazilian Administration Review*, 5(2), Article 2. <https://doi.org/10.1590/S1807-76922008000200005>
- Watson, K. (1990). Microbial Stress Proteins. En *Advances in Microbial Physiology* (Vol. 31, pp. 183-223). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(08\)60122-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(08)60122-8)
- Welle, D. (2022, junio 16). *Superbacterias en Latinoamérica: ‘Si no actuamos, tras la multirresistencia vendrá la panresistencia’*. El Universo. <https://www.eluniverso.com/larevista/salud/superbacterias-en-latinoamerica-si-no-actuamos-tras-la-multirresistencia-vendra-la-panresistencia-nota/>
- Witte, R. S., y Witte, J. S. (2017). *Statistics* (Eleventh edition). Wiley.

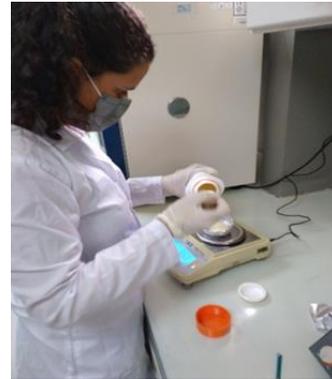
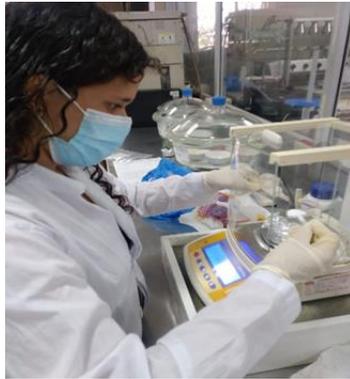
- Wright, G. D. (2007). The antibiotic resistome: The nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Reviews Microbiology*, 5(3), 175-186. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1614>
- Xunta de Galicia. (2022, febrero 24). *La Escala Beaufort*. MeteoGalicia. https://www.meteogalicia.gal/web/informacion/glosario/beaufort.action?request_locale=es
- Yang, T., Han, Y., Zhang, M., Xue, S., Li, L., Liu, J., y Qiu, Z. (2019). Characteristics and exposure risks of potential pathogens and toxic metal(loid)s in aerosols from wastewater treatment plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 183, 109543. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109543>
- Yin, K., Wang, Q., Lv, M., y Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. *Chemical Engineering Journal*, 360, 1553-1563. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.10.226>
- Yunda, J. (2012, marzo 20). *Otro proceso por muerte de neonatos | Ecuador | Noticias. El Universo*. <https://www.eluniverso.com/2012/03/20/1/1447/proceso-muerte-neonatos.html/>
- Zhou, Y., Xu, Y.-B., Xu, J.-X., Zhang, X.-H., Xu, S.-H., y Du, Q.-P. (2015). Combined Toxic Effects of Heavy Metals and Antibiotics on a *Pseudomonas fluorescens* Strain ZY2 Isolated from Swine Wastewater. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/ijms16022839>
- Zieliński, W., Hubeny, J., Buta-Hubeny, M., Rolbiecki, D., Harnisz, M., Paukzto, Ł., y Korzeniewska, E. (2022). Small-scale wastewater treatment plants as a source of the dissemination of antibiotic resistance genes in the aquatic environment. *Science of The Total Environment*, 827, 154354. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154354>

Zieliński, W., Korzeniewska, E., Harnisz, M., Hubeny, J., Buta, M., y Rolbiecki, D. (2020). The prevalence of drug-resistant and virulent *Staphylococcus* spp. In a municipal wastewater treatment plant and their spread in the environment. *Environment International*, 143, 105914. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105914>

ANEXOS

ANEXO 1. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Anexo 1-A. Pesaje del medio de cultivo con los tratamientos



Anexo 1-B. Mezcla del medio de cultivo con los tratamientos



Anexo 1-C. Vertido de medio de cultivo y tratamiento en cajas Petri

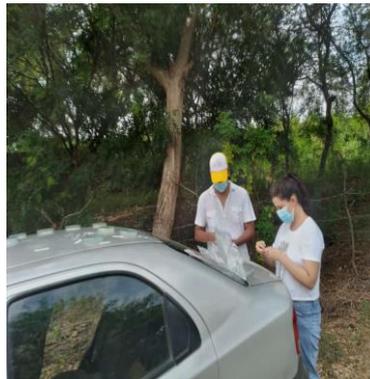


Anexo 1-D. Almacenamiento de cajas Petri previo al monitoreo.



ANEXO 2. TOMA DE MUESTRAS DE BIOAEROSLES EN FUNCIÓN DE CONDICIONES METEOROLÓGICAS.

Anexo 2-A. Recolección de bioaerosoles en puntos cercanos a las lagunas de oxidación.



Anexo 2-B. Incubación de muestras de bioaerosoles provenientes de las lagunas de oxidación.

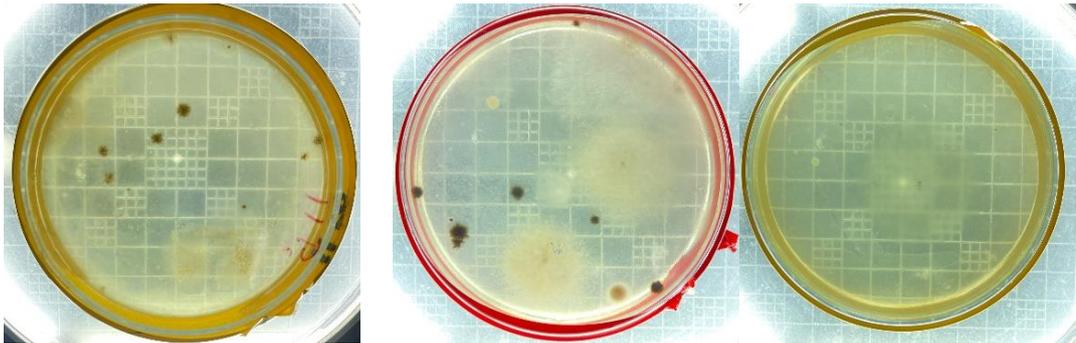


ANEXO 3. CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS

Anexo 3-A. Uso de la cámara Neubauer de campo oscuro.



Anexo 3-B. Crecimiento bacteriano post-incubación



Anexo 3-C. Observación microscópica de colonias resistentes.



ANEXO 4. SOCIABILIZACIÓN DE LOS RESULTADOS

Anexo 4-A. 4ta Jornada Académica "AMBIENTALISTAS"



Anexo 4-B. Feria de Emprendimiento Institucional



Anexo 4-C. XI Jornada Científica Estudiantil



Anexo 4-D. VI Congreso Internacional: Industria y Desarrollo Sostenible



ANEXO 5. MATERIAL DE APOYO EN LA DIVULGACIÓN Y SOCIABILIZACIÓN

Anexo 5-A. Póster informático utilizado en socializaciones en la 4ta Jornada Académica "AMBIENTALISTAS" y la Feria de Emprendimiento Institucional



EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE BIOAEROSLES PROVENIENTES DE LAGUNAS DE OXIDACIÓN

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF BIOAEROSOLS FROM OXIDATION LAGOONS

Oscar Fabián Solórzano Intriago¹, Génesis Valentina Zambrano Alcívar¹, Carlos Luis Banchón Bajaña¹

Carrera de Ingeniería Ambiental, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus politécnico el Limón, Km 2,7 vía Calceta-Morro- el Limón

Contacto: genesis.zambrano@espam.edu.ec; oscar.solorzano@espam.edu.ec

RESUMEN

Varios estudios han demostrado la presencia de genes de resistencia microbiana en afluentes y bioaerosoles en las plantas de tratamiento de aguas residuales, promoviendo el desarrollo de bacterias con resistencia a los antibióticos y metales pesados; generando riesgos inherentes a la salud humana. El propósito del trabajo es evaluar la presencia de microorganismos que son resistentes a los antibióticos y metales pesados en los bioaerosoles, que se generan en la laguna de oxidación para obtener información relevante para la salud humana y medioambiental; beneficiando a la sociedad. La investigación se ejecuta el presente año (2023), en la laguna de oxidación de Bahía Caráquez, cantón Sucre. Se ejecuta mediante una investigación experimental apoyado en métodos bibliográficos y analíticos; con técnicas de observación, muestreo y estadístico. Se está efectuando en tres fases: Establecimiento de los puntos de muestreo circundantes a la laguna de oxidación de Bahía de Caráquez para la eficiente obtención de muestras de bioaerosoles; Determinación de la presencia de microorganismos en bioaerosoles para la comprobación de su resistencia a antibióticos y metales pesados; y Socialización con las comunidades sobre el impacto al medio ambiente y la salud pública que generan los bioaerosoles. Actualmente, se ha llevado a cabo un muestreo en los vecindarios cerca de la laguna de oxidación y posteriormente se llevó a cabo una incubación de colonias por 24 horas evidenciando crecimiento bacteriano en presencia de concentraciones citotóxicas de metales pesados (Nitrato de mercurio y Acetato de plomo); y de antibióticos (Cloranfenicol y Azitromicina).

Palabras clave: bioaerosoles, resistencia microbiana, metales pesados, antibióticos.

ABSTRACT

Several studies have demonstrated the presence of genes of microbial resistance in effluents and bioaerosols in wastewater treatment plants, promoting the development of bacteria with resistance to antibiotics and heavy metals; generating risks inherent to human health. The purpose of the work is to assess the presence of microorganisms that are resistant to antibiotics and heavy metals in bioaerosols, which are generated in the oxidation lagoon to obtain information relevant to human and environmental health; benefiting society. The research is carried out this year (2023), in the oxidation lagoon of Bahía Caráquez, Canton Sucre. It is carried out through experimental research supported by bibliographic and analytical methods; with observation, sampling and statistical techniques. It is being carried out in three phases: Establishment of the sampling points surrounding the oxidation lagoon of Bahía de Caráquez for the efficient collection of samples of bioaerosols; Determination of the presence of microorganisms in bioaerosols for the verification of their resistance to antibiotics and heavy metals; and Socialization with communities on the impact on the environment and public health generated by bioaerosols. Currently, a sampling has been carried out in neighborhoods near the oxidation lagoon and subsequently an incubation of colonies for 24 hours evidencing bacterial growth in the presence of cytotoxic concentrations of heavy metals (mercury nitrate and lead acetate); and antibiotics (Chloramphenicol and Azithromycin).

Key words: bioaerosols, microbial resistance, heavy metals, antibiotics.



Anexo 5-B. Póster informático utilizado en socialización XI Jornada Científica Estudiantil

RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE BIOAEROSOLES EN LAGUNAS DE OXIDACIÓN

Oscar Solórzano, Génesis Zambrano, Carlos Banchón

Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Calceta, Manabí

INTRODUCCIÓN

- **Bioaerosoles** = Partículas biológicas microscópicas suspendidas en el aire
- **Genes** de microorganismos, polen y fragmentos celulares
- **Origen:** actividades humanas, plantas y cuerpos de agua residual
- **Dispersión** de enfermedades = patógenos, virus y bacterias, transportados en partículas suspendidas

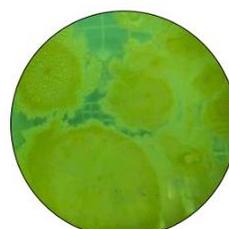


Laguna de oxidación

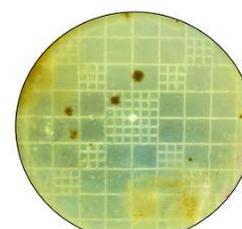
METODOLOGÍA



RESULTADOS



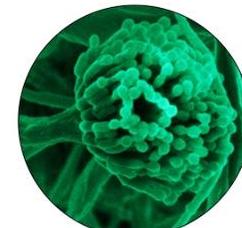
Azitromicina + Hg



Cloranfenicol + Pb



Cepas microbianas con resistencia antibiótica



Hongos resistentes a metales pesados



XI JORNADA CIENTÍFICA

Anexo 5-C. Diapositivas utilizada en socialización XI Jornada Científica Estudiantil



Resistencia Bacteriana a antibióticos y metales pesados en bioaerosoles – Lagunas de oxidación de Bahía de Caráquez

Valentina Zambrano, Oscar Solórzano, Carlos Banchón

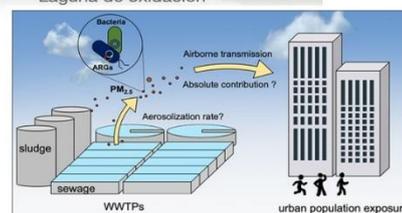
INTRODUCCIÓN



- **Bioaerosoles** = Partículas biológicas microscópicas suspendidas en el aire
- **Genes** de microorganismos, polen y fragmentos celulares
- **Origen:** actividades humanas, plantas y cuerpos de agua residual
- **Dispersión** de enfermedades = patógenos, virus y bacterias, transportados en partículas suspendidas



Laguna de oxidación



VI Congreso Internacional: Industria y Desarrollo Sostenible (CIDS)

- Simposio 1. Medio ambiente, posibles efectos del fenómeno El Niño y otros riesgos naturales.
 Simposio 2. Tecnología de procesamiento, conservación e inocuidad de alimentos.

METODOLOGÍA

Se empleó un diseño experimental factorial 2^2 , apropiado para un Diseño Bifactorial de Bloques Completamente al Azar (DBCA), utilizando metales pesados y antibióticos a una concentración de 150 ppm



FACTOR A



FACTOR B

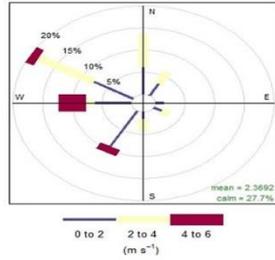


VI Congreso Internacional: Industria y Desarrollo Sostenible (CIDS)

- Simposio 1. Medio ambiente, posibles efectos del fenómeno El Niño y otros riesgos naturales.
 Simposio 2. Tecnología de procesamiento, conservación e inocuidad de alimentos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para poder determinar los puntos de monitoreo adecuados, se consideraron parámetros claves como la velocidad y dirección del viento.

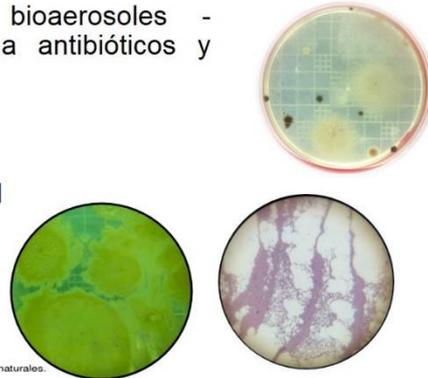


VI Congreso Internacional: Industria y Desarrollo Sostenible (CIIDS)

- Simposio 1. Medio ambiente, posibles efectos del fenómeno El Niño y otros riesgos naturales.
- Simposio 2. Tecnología de procesamiento, conservación e inocuidad de alimentos.

CONCLUSIONES

- Correlación presencia de bioaerosoles - microorganismos resistentes a antibióticos y metales pesados.
- Condiciones meteorológicas.
- La divulgación en la comunidad



VI Congreso Internacional: Industria y Desarrollo Sostenible (CIIDS)

- Simposio 1. Medio ambiente, posibles efectos del fenómeno El Niño y otros riesgos naturales.
- Simposio 2. Tecnología de procesamiento, conservación e inocuidad de alimentos.