



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



**“Determinación del nivel de riesgo biológico en el aire del Relleno Sanitario del
Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba (GADM
Riobamba)”**

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

Autores: Bélgica Susana Campaña Robayo

Gabriel Josué Navarrete Marcial

Tutor: Ing. MSc. Manolo Alexander Córdova Suárez

AMBATO - ECUADOR

Julio - 2018

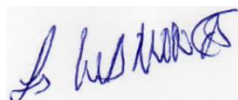
APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. MSc. Manolo Alexander Córdova Suárez

CERTIFICA:

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

Ambato, 12 de Junio de 2018.



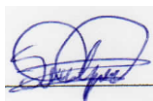
Ing. MSc. Manolo Alexander Córdova Suárez

C.I. 180284250-8

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

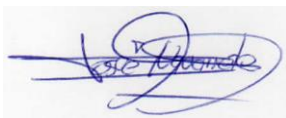
Nosotros, Bélgica Susana Campaña Robayo y Gabriel Josué Navarrete Marcial manifestamos que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, previo a la obtención del Título de Ingenieros Bioquímicos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



Bélgica Susana Campaña Robayo

C.I. 180508652-5

AUTOR



Gabriel Josué Navarrete Marcial

C.I. 180451317-2

AUTOR

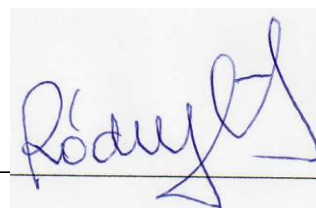
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

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

Para constancia firman:

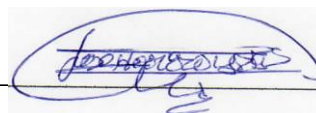


Presidente del Tribunal



PhD. Rodny David Peñafiel Ayala

C.I. 171228352-0



PhD. José Homero Vargas López

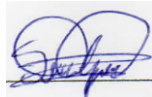
C.I. 180197804-8

Ambato, 05 de Julio del 2018.

DERECHOS DE AUTOR

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

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



Bélgica Susana Campaña Robayo

C.I. 180508652-5

AUTOR



Gabriel Josué Navarrete Marcial

C.I. 180451317-2

AUTOR

DEDICATORIA

A mi madre, Targelia quien ha sido mi principal inspiración para salir adelante quien a pesar de las dificultades me sacó adelante día a día para que pueda ser una profesional; quien a pesar de mis errores nunca me abandonó y siguió a mi lado dándome fuerzas para luchar por mi sueño, gracias a su esfuerzo y dedicación ahora puedo tener una carrera, para usted mami quien ha sido un ejemplo de lucha y perseverancia para mí gracias. Gracias por toda su ayuda y apoyo, por su amor para mí y mi hijo. Le amo mami.

A ti mi precioso hijo Emiliano que llegaste a alegrar mi mundo, a darme mil y un razones para seguir adelante y no decaer jamás, con tus abrazos y besos sacas lo mejor de mí; desde el día que supe que venías entendí que rendirme jamás sería una opción por ti debía ser alguien mejor. A ti que en mis peores días sacas lo mejor de mí. Te amo amorcito mío.

A mi esposo Diego quien me ayudó a salir adelante a pesar de todas las dificultades, gracias mi vida por estar siempre a mi lado y apoyarme en cada uno de mis sueños. Por enseñarme que cuando se ama todo es posible, que con perseverancia todo se alcanza. Tú has sido mi gran apoyo en todos estos años mi vida gracias. Te amo mi amor.

A mis primos Isabel y Segundo, y a cada miembro de su familia gracias por hacer de sus hogares el mío también, por estar a mi lado cuando más los necesitaba; por ser como mis segundos padres, por creer en mí y darme palabras de aliento para seguir adelante, porque son un gran ejemplo de superación. Los quiero.

Bélgica Susana Campaña Robayo

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado salud para alcanzar mis objetivos, quien supo guiarme por el buen camino, ser mi fortaleza para seguir siempre adelante y no desfallecer ante los problemas, además de su infinito amor.

A mi padre Fabián Navarrete por los ejemplos de perseverancia y constancia que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor. A mi madre Rocío Marcial por el apoyo brindado en todo momento, especialmente en las noches de desvelo, que sin ella hubieran sido mucho más complicadas, por sus consejos, su comprensión, su paciencia, su amor. Gracias a ellos que con su esfuerzo y a pesar de las dificultades me sacaron adelante día a día para alcanzar esta meta tan significativa en mi vida.

A mis hermanos Isaác y David por estar conmigo en los peores y mejores momentos, por su cariño, su apoyo incondicional y por ser la razón que me incita a seguir superándome.

A mi cuñada Silvana que ha sido como una hermana para mí, quien me supo escuchar y dar fortaleza en los días más difíciles.

A mis sobrinas Camila y Emily por ser la alegría de mi vida, quienes me sacan sonrisas cada día con sus ocurrencias y travesuras, algunas veces hasta de quicio, porque me han enseñado que todos llevamos un niño por dentro.

A toda mi familia y amigos que con sus palabras de aliento y un granito de arena me impulsaron a lo largo de mi vida.

Gabriel Josué Navarrete Marcial

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por ayudarnos a culminar esta etapa de nuestras vidas. A nuestros padres por el apoyo incondicional recibido día a día para alcanzar nuestros sueños.

A los docentes de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato por impartirnos sus conocimientos y ayudarnos en nuestra formación como bioquímicos.

Al Ing. Mg. Manolo Córdova por brindarnos el conocimiento y apoyo necesario para realizar el presente proyecto.

Al Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba (GADMR) por abrirnos las puertas y brindarnos el apoyo necesario para realizar nuestro proyecto de titulación en el relleno sanitario del Cantón.

A nuestros calificadores del proyecto PhD. Homero Vargas y PhD. Rodny Peñafiel, un agradecimiento especial por la colaboración y buena predisposición para la revisión del trabajo final.

Bélgica Susana Campaña Robayo & Gabriel Josué Navarrete Marcial

RESUMEN

Se determinó el nivel de riesgo biológico en el aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba (GADM Riobamba). El muestreo se realizó durante 20 días, de lunes a viernes en dos horarios: 10:00 y 15:00, en las dos zonas del Relleno Sanitario, área de desechos hospitalarios y área de desechos comunes. El aire se tomó con jeringuillas de 20 cm³ y se depositó en el caldo de cultivo Infusión Cerebro-Corazón, se realizó 50 aspiraciones por cada una de las muestras. Estas muestras se incubaron a 37°C durante 48 horas para obtener un crecimiento óptimo de las bacterias, con lo cual se sembró en dos medios de cultivo diferentes, siendo Tripteína Soya Agar y Agar MacConkey, en donde se evaluó el crecimiento bacteriano obteniendo 103 colonias morfológicamente diferentes. Por medio de las pruebas bioquímicas IMViC se determinaron bacterias patógenas gramnegativas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (enterobacterias) y grampositivas causantes de múltiples infecciones y enfermedades en el ser humano por el contacto con ellas. Se encontró 12 géneros diferentes de bacterias aisladas de los medios de cultivos: *Shigella*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Hafnia*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* y *Providencia*, muchas de las cuales son causantes de enfermedades gastrointestinales a los seres vivos considerándose peligroso el sitio de trabajo en el cual existen estas bacterias.

Palabras clave: riesgo biológico, Relleno Sanitario, Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba, bacterias patógenas gramnegativas, contaminación ambiental.

ABSTRACT

The level of biological risk in the air of the Landfill of the Riobamba Municipal Decentralized Autonomous Government (GADM Riobamba) was determined. The sampling was realized during 20 days, from Monday to Friday in two schedules: 10:00 and 15:00, and in the two areas of the Sanitary Landfill: hospital waste area and common waste area. The air was taken with syringes of 20 cm³ and it was deposited in infusion brain- heart, 50 aspirations were made for each sample. These samples were incubated at 37°C during 48 hours to obtain optimal growth of the bacterias, which was planted in two different culture media, being Triptein Soya Agar and MacConkey Agar, where bacterial growth was evaluated obtaining 103 colonies morphologically different. Trough IMViC biochemical tests, pathogenic gramnegative bacteria belonging to the family *Enterobacteriaceae* (enterobacteria) and grampositive bacteria that cause multiple infections and diseases in humans due to contact with them. We found 12 different genera of bacteria isolated from the culture media: *Shigella*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Hafnia*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Providencia*, many of them are causative of gastrointestinal diseases to humans considering the work place damage in which there is many these kind of bacteria.

Keywords: biological risk, Sanitary Landfill, Municipal Decentralized Autonomous Government of Riobamba, pathogenic gramnegative bacteria, environmental pollution.

INDICE GENERAL DE CONTENIDOS

CAPITULO I	1
EL PROBLEMA	1
1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	1
1.3. OBJETIVOS	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2. Objetivos Específicos	3
CAPITULO II	4
MARCO TEÓRICO	4
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	4
2.1.1. Contaminación del aire	5
2.1.2. Desechos	5
2.1.2.1. Desechos sólidos	6
2.1.2.2. Desechos hospitalarios	6
2.1.2.3. Desechos no peligrosos	6
2.1.2.4. Desechos peligrosos	7
2.1.3. Microorganismos Patógenos	7
2.1.3.1. <i>Citrobacter</i>	7
2.1.3.2. <i>Providencia</i>	8
2.1.3.3. <i>Proteus</i>	8
2.1.3.4. <i>Klebsiella</i>	9
2.1.3.5. <i>Enterobacter</i>	10
2.1.3.6. <i>Escherichia</i>	10
2.1.3.7. <i>Staphylococcus</i>	11
2.1.3.8. <i>Salmonella</i>	11
2.1.3.9. <i>Hafnia</i>	12
2.1.3.10. <i>Pantoea</i>	12
2.1.3.11. <i>Shigella</i>	13
2.1.3.12. <i>Enterococcus</i>	14
2.1.3.13. <i>Serratia</i>	14
2.1.3.14. <i>Yersinia</i>	14
2.1.4. Pruebas IMViC	15

2.1.4.1. Prueba de Indol	15
2.1.4.2. Prueba Rojo de Metilo	17
2.1.4.3. Prueba Voges-Proskauer	18
2.1.4.4. Prueba Utilización de Citrato	20
2.1.5. Cantidad de microorganismos (Turbidez)	21
2.1.6. Recuento en placa	22
2.2. HIPÓTESIS	24
2.2.1. Hipótesis de la Investigación	24
2.2.2. Hipótesis Estadística	25
2.2.2.1. Hipótesis Nula	25
2.2.2.2. Hipótesis Alternativa.....	25
2.3. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS	25
2.3.1. Variable Independiente	25
2.3.2. Variable Dependiente	25
CAPITULO III.....	26
MATERIALES Y MÉTODO	26
3.1. MATERIALES Y REACTIVOS	26
3.2. MÉTODO	29
3.2.1. Trabajo de campo.....	29
3.2.1.1. Toma de muestras	30
3.2.2. Trabajo de laboratorio.....	30
3.2.2.1. Presencia de bacterias	30
3.2.2.2. Cantidad de microorganismos (Turbidez).....	31
3.2.2.3. Cuantificación directa de UFC/ml	32
3.2.2.3.1. Recuento en placa.....	32
3.2.2.4. Pruebas IMViC	32
3.2.2.4.1. Prueba de Indol.....	33
3.2.2.4.2. Prueba Rojo de Metilo.....	33
3.2.2.4.3. Prueba Voges-Proskauer	33
3.2.2.4.4. Prueba Citrato de Simmons	33
3.2.2.5. Preservación de bacterias con glicerol	34
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	34
CAPÍTULO IV	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37

4.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	37
4.1.1. Crecimiento microbiano	37
4.1.1.1. Crecimiento bacteriano	37
4.1.2. Difusión en placa	37
4.1.2.1. Difusión en placa para bacterias	37
4.1.3. Aislamiento microbiano.....	38
4.1.3.1. Aislamiento bacteriano.....	38
4.1.4. Pruebas IMViC	39
4.1.5. Cantidad de microorganismos (Turbidez)	41
4.1.6. Cuantificación directa de UFC/ml	41
4.1.6.1. Recuento en placa	41
4.1.7. Método turbidimétrico (indirecto) y método de recuento en placa (directo)	41
4.1.8. Nivel de riesgo biológico.....	43
4.1.9. Diseño experimental	46
4.2. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	48
4.2.1. Hipótesis de la Investigación	48
4.2.2. Hipótesis Estadística	48
4.2.2.1. Hipótesis Nula.....	48
4.2.2.2. Hipótesis Alternativa.....	48
CAPÍTULO V.....	49
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
5.1. CONCLUSIONES.....	49
5.2. RECOMENDACIONES	50
ANEXOS	58
ANEXO A. REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO.....	59
Tabla A1: Infusión Cerebro Corazón	59
Tabla A2: Tripteína Soya Agar.....	59
Tabla A3: Agar MacConkey.....	59
Tabla A4: Medio RM-VP (Rojo de Metilo y Voges-Proskauer).....	59
Tabla A5: Agar Citrato de Simmons	59
ANEXO B. TABLAS DE RESULTADOS	61
Tabla B1: Curva de calibración de McFarland.....	61
Tabla B2: Código binario para crecimiento microbiano en medio Tripteína Soya Agar	61

Tabla B3: Código binario para crecimiento bacteriano en medio Agar MacConkey	61
Tabla B4: Código asignado a las colonias bacterianas aisladas en los medios de cultivo Tripteína Soya Agar y Agar MacConkey	62
Tabla B5: Resultados tipificados de las pruebas bioquímicas IMViC	64
Tabla B6: Resultados de pruebas bioquímicas IMViC en bacterias aisladas del Relleno Sanitario del GADM de Riobamba	64
Tabla B7: Número de microorganismos aislados según especie.....	66
Tabla B8: Concentración de microorganismos (UFC/ml) obtenidos por medio de turbidimetría.....	67
Tabla B9: Concentración de microorganismos obtenidos por el método de conteo en placa en medio de cultivo Tripteína Soya Agar	67
Tabla B10: Concentración de microorganismos obtenidos por el método de conteo en placa en medio de cultivo Agar MacConkey	70
ANEXO C. TABLAS DISEÑO EXPERIMENTAL.....	72
Tabla C1: ANOVA (Análisis de varianza).....	72
Tabla C2: Factor A (Zonas de muestreo) Prueba de Tukey	73
Tabla C3: Factor B (Horas de muestreo) Prueba de Tukey.....	73
Tabla C4: Factor C (Días de muestreo) Prueba de Tukey.....	73
Tabla C5: Interacción AxB Prueba de Tukey.....	73
Tabla C6: Interacción AxC Prueba de Tukey.....	73
Tabla C7: Interacción BxC Prueba de Tukey	74
Tabla C8: Interacción AxBxC Prueba de Tukey.....	74
ANEXO D. GRÁFICOS.....	75
Gráfico D1: Curva de calibración McFarland	75
Gráfico D2: Número de microorganismos aislados según especie	75
Gráfico D3: Factor A (Zonas de muestreo)	76
Gráfico D4: Factor B (Horas de muestreo).....	76
Gráfico D5: Factor C (Días de muestreo).....	76
Gráfico D6: Interacción AxB (Zonas de muestreo x Horas de muestreo).....	77
Gráfico D7: Interacción AxC (Zonas de muestreo x Días de muestreo).....	77
Gráfico D8: Interacción BxC (Horas de muestreo x Días de muestreo)	77
Gráfico D9: Interacción AxBxC (Zonas de muestreo x Horas de muestreo x Días de muestreo)	78
ANEXO E. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA	79

Figura E1: Zona de depósito de desechos hospitalarios del Relleno Sanitario - GADM Riobamba.....	79
Figura E2: Zona de depósito de desechos comunes del Relleno Sanitario - GADM Riobamba.....	79
Figura E3: Toma de muestras aerobiológicas	80
Figura E4: Izquierda, medio de cultivo BHI estéril; derecha, medio de cultivo BHI incubado	80
Figura E5: Crecimiento microbiano en medio Tripteína Soya Agar	80
Figura E6: Crecimiento microbiano en medio Agar MacConkey.....	81
Figura E7: Aislamiento microbiano en medio Tripteína Soya Agar.....	81
Figura E8: Prueba de Indol, a) izquierda resultado positivo (+), b) derecha resultado negativo (-).....	81
Figura E9: Prueba Rojo de Metilo, a) izquierda resultado negativo (-), b) derecha resultado positivo (+)	82
Figura E10: Prueba Voges-Proskauer, a) izquierda resultado positivo (+), b) derecha resultado negativo (-).....	82
Figura E11: Prueba Citrato de Simmons, a) izquierda resultado negativo (-), b) derecha resultado positivo (+)	82
ANEXO F. FUNDAMENTACIÓN LEGAL.....	83
Documento F1: Resolución de aprobación del trabajo de titulación, modalidad “Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención”	83
Documento F2: Carta compromiso para la realización del trabajo de titulación	84

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

“DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE RIESGO BIOLÓGICO EN EL AIRE DEL RELLENO SANITARIO DEL GOBIERNO AUTONOMO DESCENTRALIZADO MUNICIPAL DE RIOBAMBA (GADM RIOBAMBA)”

1.2. JUSTIFICACIÓN

El artículo 1 de la Ley de Prevención y Control de la Contaminación Ambiental prohíbe expeler hacia la atmósfera o descargar en ella, sin sujetarse a las correspondientes normas técnicas y regulaciones, contaminantes que, a juicio de los Ministerios de Salud y del Ambiente, en sus respectivas áreas de competencia, puedan perjudicar la salud y vida humana, la flora, la fauna y los recursos o bienes del estado o de particulares o constituir una molestia **(MAE, 2010)**.

En el Ecuador como en otros países del mundo, la contaminación ambiental está asociada con la extracción y transformación de los recursos naturales; además de otros factores antropogénicos, como actividades industriales, comerciales, agropecuarias, tráfico vehicular y residuos sólidos. Los esfuerzos para controlar la contaminación del aire constituyen una preocupación ambiental de carácter mundial; organismos internacionales como la OMS, OPS, a partir de los años 1957 (OMS) y 1965 (OPS), vienen desarrollando programas de investigación, con el objeto de colaborar con los gobiernos miembros en el desarrollo de políticas adecuadas de control, a fin de reducir la contaminación del aire a través de técnicas de control y manejo general de la calidad del aire **(Castro, 2009)**.

Debido a la acumulación diaria de basura en el Relleno Sanitario de Porlón, ubicado en el sector Cerro Negro, al sur de la ciudad de Riobamba, se debe tener en cuenta el bienestar de sus habitantes, los cuales resultan ser vulnerables a los microorganismos patógenos presentes en el aire de la zona de estudio **(Jimenez, 2012)**. Estos

microorganismos son expulsados por medio de chimeneas que comunican el interior del relleno sanitario con el exterior, es decir el medio ambiente; estas chimeneas se utilizan para expulsar gas metano y otros diferentes gases que se producen debido a la descomposición anaerobia de desechos (**Andache & Castillo, 2016**). Las partículas o microorganismos suspendidos en el aire del relleno sanitario son fácilmente inhalables por el ser humano, provocando enfermedades en el personal que labora en el lugar.

Los aerosoles biológicos son partículas microscópicas que se encuentran suspendidas en el aire, siendo de origen natural o antropogénico los cuales pueden afectar la salud del ser humano, ocasionando principalmente alergias, toxicidad o infecciones (**Pereira, Jiménez, De La Cruz, & Caicedo, 2009**).

Las normas básicas de prevención establecen como prioridad para reducir la emisión de aerosoles biológicos, la eliminación de focos emisores o la minimización de la generación de aerosoles. En los casos en que no sea posible su eliminación, los posibles receptores deben ser alejados del foco emisor, mediante el aislamiento de éstos en recintos cerrados, equipados con sistemas de extracción de aire y dotar a los operarios de la planta o industria con equipos de protección individual (**Pereira et al., 2009**).

Este estudio permitirá conocer la calidad del aire en el relleno sanitario de Riobamba, permitiendo así identificar con mayor seguridad los factores de riesgo en la salud de los trabajadores de este sitio.

Se precautelará la salud de los trabajadores debido a que en el transporte, descarga, cobertura de residuos sólidos en los rellenos sanitarios se generan aerosoles biológicos los cuales perjudicarían la salud de estas personas.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

- Determinar el nivel de riesgo biológico en el aire del relleno sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba (GADM Riobamba).

1.3.2. Objetivos Específicos

- Realizar la toma de muestras aerobiológicas en las zonas establecidas del Relleno Sanitario del GAD Municipal de Riobamba para la determinación de la cantidad de UFC/ml mediante una curva de McFarland.
- Comparar la cantidad de UFC/ml mediante un método indirecto (curva de McFarland) y un método directo (Recuento en placa).
- Aislar microorganismos en diferentes tipos de medios de cultivo Agar MacConkey y Tripteína Soya Agar.
- Identificar la presencia de microorganismos patógenos presentes en el Relleno Sanitario del GAD Municipal de Riobamba mediante pruebas bioquímicas.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Semanalmente se produce 58829 toneladas de residuos sólidos en el Ecuador, de los cuales solamente el 20% de estos se los dispone adecuadamente; el 80% restante se almacena en botaderos a cielo abierto, botaderos controlados, incineradores y ríos. Los municipios prefieren los recicladores informales, que bordea el 45,5%. Y solo el 14% realiza reciclaje formal e informal (Solíz, 2015).

Las investigaciones realizadas por: **Andache y Castillo (2016)** en el relleno sanitario manejado por la Empresa Pública Municipal Gestión Integral de Desechos Sólidos del Cantón Ambato (GIDSA) determinaron microorganismos patógenos como *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Klebsiella* entre los más representativos, los cuales llegan a ocasionar riesgo para la salud del personal. Según **Muso y Acosta (2017)** en el sitio de disposición final de residuos sólidos de la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL) determinaron seis especies de enterobacterias *Shigella sonnei*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *Escherichia coli* y tres géneros adicionales *Salmonella*, *Enterobacter* y *Providencia*, siendo la causa principal de enfermedades gastrointestinales tanto de trabajadores como de las poblaciones aledañas debido a sus altas concentraciones en el aire. De acuerdo a **Solís y Vásquez (2017)** en el Relleno Sanitario del Cantón Salcedo encontraron bacterias patogénicas gramnegativas como *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* las cuales pertenecen al grupo 3 de la clasificación establecida por el Real Decreto 664/1997, indicando que estos microorganismos son capaces de producir graves patologías por lo que representan un riesgo alto para la salud del trabajador y la colectividad ya que tienen la posibilidad de propagarse. Por otro lado, en la investigación realizada en el botadero La Muyuna en Perú por **Vargas (2011)** obtuvo como resultado la presencia de microorganismos patógenos gramnegativos. Estas investigaciones muestran la factibilidad del estudio a realizarse en el Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba, ya que estos estudios tienen una

metodología similar para la determinación de microorganismos patógenos en el aire. Se ha realizado estudios de aerobiología en los botaderos de basura de México por **Velázquez (1997)** que dio como resultado la presencia de bacterias gramnegativas causando enfermedades por inflamación de las mucosas, acarreado enfermedades a los trabajadores de estas instituciones.

2.1.1. Contaminación del aire

Se puede encontrar en la atmósfera una extensa variedad de partículas de origen biológico como son: granos de polen, hongos, bacterias, insectos y virus. Estas partículas se encuentran en las zonas bajas de la atmósfera, por lo cual su transporte se realiza de forma rápida en forma de aerosoles biológicos por acción del viento y provocando enfermedades en los seres vivos (**Vélez-Pereira & Camargo, 2009**).

La contaminación se produce por la intromisión de energía o materia, la cual puede ser orgánica o inorgánica, viva o no viva. Según el agente contaminante se puede encontrar diferentes tipos de contaminación física (calor, radiación y ruido); contaminación química (metales, plaguicidas, hidrocarburos, etc.); y contaminación biológica (virus, bacterias, hongos, parásitos, etc.) (**Vargas, 2011**).

En abril del 2010, el Gobierno Nacional del Ecuador crea el “Programa Nacional para la Gestión Integral de Desechos Sólidos (PNGIDS)”, por medio del Ministerio del Ambiente, teniendo como objetivo principal la disminución de la contaminación medioambiental, además de mejorar la calidad de vida de los seres humanos; conservando los ecosistemas por medio de planes, estrategias, capacitaciones y sensibilización a los diferentes partícipes. Este programa procura eliminar totalmente los botaderos a cielo abierto en el país (**Ministerio del Ambiente, 2014**).

2.1.2. Desechos

Los desechos son sustancias que pueden ser sólidas, líquidas, gaseosas o semi-sólidas; o materiales compuestos resultantes de procesos de producción, reciclaje, transformación o consumo; los cuales para ser eliminados se rige a la Legislación

Ambiental Nacional e Internacional aplicable (**Ministerio del Ambiente, 2015**). Los desechos pueden clasificarse en:

2.1.2.1. Desechos sólidos

Los desechos sólidos son desechos no peligrosos que pueden o no ser degradables. En esta misma definición se encuentran los desperdicios, cenizas, elementos del barrido de calles, desechos industriales, plazas de mercado, playas, ferias populares, de establecimientos hospitalarios no contaminantes, escombros, entre otros (**Ministerio del Ambiente, 2017**).

2.1.2.2. Desechos hospitalarios

Estos desechos son generados por prácticas como intervenciones quirúrgicas, curaciones, por análisis e investigación en laboratorios. Se considera a estos desechos como desechos patógenos por lo que tienen un tratamiento especial tanto en la recolección como en el relleno sanitario según las normas del Ministerio de Ambiente (**Ministerio del Ambiente, 2017**).

2.1.2.3. Desechos no peligrosos

Son materiales que pueden ser de origen orgánico o inorgánico, que pueden ser biodegradables o no. Estos desechos se originan de las actividades domésticas, industriales, comerciales. Se puede clasificar estos desechos según las actividades que los producen como son: agropecuarios forestales, industriales, mineros, y urbanos. Estos desechos tienen las mismas características en cuanto a reciclaje y recuperación, a excepción de los desechos mineros, que son diferentes tanto en sus cantidades, composición y localización (**Ministerio del Ambiente, 2015**).

2.1.2.4. Desechos peligrosos

Son desechos que por sus características físico-químicas, tóxicas, corrosivas, explosivas, inflamables, reactivas, biológico-infecciosas, presentan riesgos para la salud de los seres vivos, los recursos naturales y el ambiente; por lo que se debe controlar y limitar su uso y exposición de acuerdo a disposiciones legales (**Ministerio del Ambiente, 2015**).

2.1.3. Microorganismos Patógenos

Los microorganismos se encuentran distribuidos en el suelo, aire, agua, plantas y animales, siendo uno de los grupos más abundantes en el ambiente. Las aerobacterias son microorganismos suspendidos en el aire, introducidos por fuentes naturales y antropogénicas como: acción del viento y la lluvia, actividades agrícolas, vertido de residuos comunes, etc. La mayoría de las aerobacterias son patógenas para el ser humano, las cuales causan enfermedades o infecciones dependiendo de la vía de exposición, dichas bacterias pueden ser grampositivas o gramnegativas (**González & Campo, 2016**).

2.1.3.1. *Citrobacter*

Son bacilos móviles que tienen la capacidad de utilizar citrato, producir H₂S y fermentar lactosa lentamente o no hacerlo en absoluto. *Citrobacter* puede causar infecciones en el tracto urinario, la vesícula biliar, el oído medio y las meninges, dado que es un habitante intestinal normal (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

Citrobacter consta de al menos 11 especies aisladas de muestras clínicas, de las cuales 3 especies han sido aisladas con mayor frecuencia: *C. freundii*, *C. koseri* y *C. amalonaticus*. Estos microorganismos son considerados habitantes del tracto gastrointestinal y asociados con infecciones urinarias adquiridas en el hospital. *C. freundii* causa enfermedades infecciosas tales como: infecciones del tracto urinario, neumonías y abscesos intraabdominales, además de endocarditis en drogadictos por vía intravenosa. *C. koseri* es un patógeno oportunista secundario responsable de la meningitis neonatal y abscesos cerebrales. *C. amalonaticus* se encuentra presente en

las heces, pero no es agente causante de la diarrea (**Mahon, Lehman, & Manuselis, 2015**).

2.1.3.2. *Providencia*

Este tipo de microorganismos son bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, quimiorganotrofos, tienen metabolismo respiratorio y oxidativo, y además poseen movilidad gracias a sus flagelos peritricos. Están distribuidos considerablemente en la naturaleza, siendo posible obtenerlos del intestino de diversos animales, el tracto gastrointestinal humano y fuentes contaminadas como aguas servidas (**Lopardo, Predari, & Vay, 2016**). El género *Providencia* se compone de cinco especies: *P. alcalifaciens*, *P. heimbachae*, *P. rettgeri*, *P. rustigianii* y *P. stuartii* (**O'Hara, Brenner, & Miller, 2000**).

P. rettgeri y *P. stuartii* son patógenos del tracto urinario y se vinculan a infecciones urinarias especialmente en pacientes con catéteres vesicales, estas cepas causan infección nosocomial de vías urinarias, heridas, quemaduras y sangre (**Ausina & Moreno, 2006**). *P. alcalifaciens* habitualmente se ha encontrado en heces de niños con diarrea; sin embargo, su causa no ha sido comprobada. *P. rustigianii* no ha sido aislada con frecuencia y su patogenicidad tampoco se ha demostrado, mientras que *P. heimbachae* ya ha sido aislada de algunas muestras clínicas (**Mahon et al., 2015**).

2.1.3.3. *Proteus*

Gustav Hauser en 1885 describió estas bacterias, el nombre *Proteus* hace referencia al personaje Proteo de la obra “La Odisea” de Homero, debido a la capacidad de asumir diferentes formas para evitar su captura. Generalmente son bacilos, aunque también se pueden encontrar como cocobacilos o en cadenas, otras en cambio pueden ser filamentosas (**Lopardo et al., 2016**).

Proteus se distribuye a lo largo de la naturaleza, localizándose en el suelo, agua, aguas servidas, materia animal en descomposición, heces humanas y animales, tracto intestinal del hombre, y áreas húmedas de la piel. Es un género importante respecto a la descomposición de cadáveres (**Merino & Lösch, 2005**).

El género *Proteus* abarca al menos cuatro especies, no obstante, *P. mirabilis* y *P. vulgaris* son los patógenos humanos más reconocidos y estudiados, aislados de la orina, heridas e infecciones de oído y bacteriemia. Infechan los túbulos renales proximales causando glomerulonefritis aguda, principalmente en pacientes que tienen defectos del tracto urinario o cateterismo. Estos patógenos poseen la capacidad de producir la enzima ureasa, encargada de hidrolizar la urea (muy abundante en la orina) en amoníaco y dióxido de carbono. La actividad ureasa de *P. mirabilis* puede conducir a cálculos renales de estruvita (**Mahon et al., 2015**).

2.1.3.4. Klebsiella

Klebsiella son microorganismos capsulados, inmóviles, fermentadores de lactosa y se encuentran muy extendidos en la tierra, agua, polvo, leche, alimentos. Son considerados como organismos saprófitos de las vías respiratorias y tracto digestivo de los seres vivos (**Merino & Lösch, 2005**).

Este género está constituido por *K. pneumoniae* que es el patógeno principal, *K. oxytoca* y *K. granulomatis*, *K. ozaenae* y *K. rhinoscleromatis* subespecies de *K. pneumoniae*, no fermentadoras, asociadas a enfermedades como rinoscleroma y rinitis atrófica crónica respectivamente (**A. García & Rodríguez, 2010**).

K. pneumoniae forma parte de la flora intestinal y la cavidad oral, capaz de causar infección del tracto urinario (ITU) y neumonía en las personas, infecciones que se adquieren en su mayoría en el hospital u ocurren en pacientes debilitados por otras enfermedades. La mortalidad causada por este microorganismo es alta y se presenta como neumonía lobar, en la que casi todos los pacientes presentan bronconeumonía o bronquitis, con frecuencia adquiridas en el hospital donde llega a representar el 7-8% de las neumonías nosocomiales (**A. García & Rodríguez, 2010**).

Las infecciones causadas por *Klebsiella* ocupa el segundo lugar en ocurrencia, solo después de *E. coli*. Esta bacteria es resistente a antibióticos como carbenicilina y ampicilina. *K. oxytoca* se diferencia de *K. pneumoniae* por la capacidad de producir indol a partir de triptófano. Asimismo, puede ser resistente a múltiples antibióticos (**A. García & Rodríguez, 2010**).

2.1.3.5. *Enterobacter*

Enterobacter son bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, no formadores de esporas, fermentan la lactosa, presentan movilidad y cápsula (**Davin-Regli & Pagès, 2015**). Anteriormente conocido como *Aerobacter*, este género se distribuye ampliamente en la naturaleza: agua, aguas residuales, suelo, insectos y verduras. Forman parte del aparato gastrointestinal de humanos y animales, a las cuales se asocia diferentes infecciones oportunistas que afectan las vías urinarias y respiratorias, heridas cutáneas y quemaduras, produciendo en ocasiones septicemia y meningitis. También se los pueden hallar raramente en la orina, pus y otros materiales patológicos. Este género presenta dos especies de importancia clínica: *Enterobacter cloacae* y *Enterobacter aerogenes* (**Koneman et al., 2006**).

E. aerogenes ha sido aislado de muestras clínicas humanas de vías respiratoria, urinaria, sanguínea o gastrointestinal, involucrada en infecciones nosocomiales. *E. cloacae* se encuentra expandida en ambientes acuáticos y terrestres, así como también existe en la microflora del tracto intestinal de humanos y animales. Es un patógeno nosocomial que causa bacteriemia, artritis séptica, endocarditis, osteomielitis e infecciones de piel/tejidos blandos, infecciones del tracto respiratorio e intraabdominales. Puede contaminar diversos dispositivos médicos, intravenosos y hospitalarios. Estas especies mencionadas son resistentes a muchos antibióticos, incluida la ampicilina y las cefalosporinas (**Davin-Regli & Pagès, 2015**).

2.1.3.6. *Escherichia*

A *Escherichia coli* se le considera el microorganismo mejor estudiado. Se las puede encontrar como bacterias móviles en la mayoría de casos, y como inmóviles. Son fermentadoras de lactosa. Producen indol utilizando triptófano. *E. coli* está dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, es decir es una bacteria entérica, además es un bacilo gramnegativo. Se lo puede encontrar en el intestino delgado de humanos y animales, pero existen algunas cepas patógenas que pueden producir enfermedades diarreicas. Se las puede clasificar en diferentes grupos debido a que cada una infecta de manera distinta, utilizando diversos mecanismos para provocar la enfermedad. Este grupo de bacterias se encuentra constituido por las siguientes cepas: *E. coli enterotoxigénica*

(*ETEC*), *E. coli enteropatógena (EPEC)*, *E. coli enterohemorrágica (EHEC)*, *E. coli enteroinvasiva (EIEC)*, *E. coli enteroagregativa (EAEC)*, *E. coli enteroadherente difusa (DAEC)*. Las 4 primeras cepas se encuentran en su mayoría en agua y alimentos (**Camacho et al., 2009**).

2.1.3.7. *Staphylococcus*

Los miembros del género *Staphylococcus* son cocos grampositivos y tienen tendencia a agruparse en racimos. Son esféricos y su diámetro es de alrededor de una micra (**Machado, Pardo, & Seija, 2006**).

Staphylococcus aureus es un microorganismo que se encuentra en todo el medio ambiente, puede encontrarse en el hombre, polvo, animales de granja, alimentos, entre otros productos donde la contaminación se debe principalmente a los manipuladores. Es capaz de producir una enterotoxina termoestable y otras toxinas. Estas toxinas son resistentes a la temperatura, actúan en los receptores intestinales cuyos estímulos llegan al centro del vómito del cerebro, por lo que son considerados como neurotoxinas, además resisten radiación y enzimas proteolíticas (**Cano, 2016**).

2.1.3.8. *Salmonella*

Los microorganismos que forman parte del género *Salmonella* son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**). Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, estando presentes en el tracto gastrointestinal tanto de animales domésticos como salvajes: mamíferos (mascotas, vacunos, ovinos, porcinos), reptiles, aves (aves de corral) y peces. Las salmonelas parasitan los intestinos de los animales e infectan a los seres humanos provocando salmonelosis (enfermedades causadas por salmonelas), que incluye: tifoidea, gastroenteritis, intoxicaciones alimentarias, septicemia, diarrea aguda, artritis, meningitis y osteomielitis, debido principalmente por la ingesta de alimentos, leche o agua contaminados (**Prado, 1975**).

Salmonella abarca alrededor de 2000 especies potencialmente patógenas, donde *Salmonella typhi* es la bacteria causante de la fiebre tifoidea, considerada la más

importante de esta familia. Este género se puede clasificar en dos grupos: (1) grupo de la fiebre entérica, consta de bacilos tifoideos y paratifoideos que son especialmente parásitos humanos; y (2) grupo de intoxicación alimentaria, son parásitos animales que pueden infectar seres humanos, causando septicemia, gastroenteritis, e infecciones localizadas (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

2.1.3.9. *Hafnia*

Hafnia alvei es un bacilo gramnegativo aerobio, anaerobio facultativo, móvil, no fermentador de lactosa, única especie reconocida del género *Hafnia*, responsable de infecciones en humanos. Se halla en heces humanas y animales (aves), asimismo en muestras de suelo y aguas residuales (**Ausina & Moreno, 2006**).

H. alvei posee la capacidad de fermentar la glucosa, arabinosa y ramnosa, pero no fermenta los siguientes carbohidratos: lactosa, sacarosa, rafinosa, melibiosa, sorbitol, adonitol, inositol y ducitol. Este patógeno emite un potente olor a heces humanas. Se halla en pacientes con cáncer, cirugía, trauma, enfermedad pulmonar aguda o crónica, cirrosis, hepatitis y pancreatitis. El aislamiento de este microorganismo ha sido posible a partir de heridas, esputo, abscesos, sangre, orina, tejidos, catéteres y otros sitios (**Koneman et al., 2006**).

Esta bacteria es capaz de desarrollarse en el tracto orofaríngeo y gastrointestinal del ser humano, siendo el agente causal de infecciones en pacientes pediátricos e inmunodeprimidos; aunque durante mucho tiempo no se ha considerado altamente patógeno. Numerosos casos son relacionados a gastroenteritis; sin embargo, también provoca infecciones nosocomiales como bacteriemias, neumonías, endocarditis, infecciones cutáneas, meningitis, infecciones urinarias y peritonitis primarias y secundarias. Son sensibles a la gentamicina y resistentes a la penicilina y amoxicilina (**Redondo et al., 2005**).

2.1.3.10. *Pantoea*

Son bacterias gramnegativas en forma de bastones rectos, anaerobios facultativos y móviles. Pueden descomponer algunos hidratos de carbono como: arabinosa,

galactosa, maltosa, manitol, manosa, ramnosa, trealosa y xilosa. *Pantoea* incluye 13 especies, de las cuales *Pantoea agglomerans* se ha logrado aislar con mayor frecuencia de plantas, frutas, vegetales, semillas, agua, suelo, así como de fluidos animales y humanos, sangre, orina, heridas y órganos internos (**Zeny, 2007**).

P. agglomerans es un patógeno oportunista en pacientes inmunodeprimidos. Produce infecciones intravenosas, meningitis neonatal y artritis séptica, regularmente diagnosticado en recién nacidos, niños y jóvenes, debido a la punzadura con espinas de plantas (palmeras, rosales, cactus, etc.) las cuales portan dicho microorganismo (**Decuadro, Ruiz, Martino, Sala, & Benech, 2015**).

2.1.3.11. *Shigella*

El género *Shigella*, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, está formado por bacilos gramnegativos, no esporulantes e inmóviles que son aerobios facultativos. No fermentan lactosa. Su clasificación se basa en antígenos, ya que este es una de sus características principales. Sus antígenos son comunes a otros bacilos entéricos como *E. coli*. Existen 4 diferentes especies: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

La variación de temperatura en *Shigella* puede afectar considerablemente sus funciones al contrario del pH, ya que son resistentes a pH bajos, con lo que logran soportar la acidez del estómago, colonizando el tracto digestivo, puesto que poseen un gen de resistencia a los ácidos (**Red Nacional de Protección de Alimentos, 2015**).

Una vez que *Shigella* llega al colon, comienza a invadir la mucosa, penetrando, replicando y extendiéndose entre las células epiteliales de la mucosa. Este comportamiento y la posterior respuesta inflamatoria del huésped destruyen la capa epitelial colónica generando los síntomas clínicos de la shigelosis (**Red Nacional de Protección de Alimentos, 2015**).

2.1.3.12. *Enterococcus*

El género *Enterococcus* son cocos grampositivos y anaerobios facultativos, dispuestos en parejas o cadenas cortas. Se hallan en la tierra, alimentos, agua y en el tracto gastrointestinal de humanos y animales, también se pueden localizar en el tracto genitourinario y en la saliva. Son patógenos oportunistas para el ser humano, ya que provocan diferentes enfermedades como infecciones del tracto urinario, del sistema nervioso central, intraabdominal y pélvica; además septicemias, endocarditis y bacteriemias enterocócicas (**Díaz, Rodríguez, & Zhurbenko, 2010**).

E. faecalis es el microorganismo frecuentemente aislado de muestras clínicas, se encuentra en el colon en concentraciones altas, mientras que en el intestino delgado y en la boca en bajas concentraciones. Se puede identificar por la capacidad que tiene para fermentar sacarosa, manitol, esculina y sorbitol; además produce una toxina denominada citolisina (**Paniker & Ananthanarayan, 2005**).

2.1.3.13. *Serratia*

Son bacterias móviles, oportunistas, fermentan la lactosa con lentitud o no la fermentan. *Serratia marcescens* es el microorganismo que causa enfermedades con mayor frecuencia. Pocos son los casos de enfermedades causadas por *Serratia liquifaciens*, *Serratia raubidaea* y *Serratia odorifera*. *Serratia* provoca enfermedades nosocomiales, aproximadamente el 4% de las bacteriemias e infecciones del tracto respiratorio inferior; el 2% de infecciones de vías urinarias, piel y heridas quirúrgicas. Tienen resistencia a múltiples antibióticos (**A. García & Rodríguez, 2010**).

2.1.3.14. *Yersinia*

Son cocobacilos gramnegativos con bordes redondeados, aerobios y anaerobios facultativos, móviles, forma pilis y fimbrias. Este género está ampliamente distribuido en la naturaleza: animales, agua, suelo, alimentos (**Romero, 2007**). Dentro del género *Yersinia* se encuentran 17 especies, sin embargo, únicamente 3 de ellas son patógenas para humanos y animales de sangre caliente: *Y. pestis*, *Y.*

pseudotuberculosis y *Y. enterocolítica* (Lopardo et al., 2016). Se trata de yersiniosis, una zoonosis que frecuentemente afecta a cerdos, roedores, animales pequeños y aves, siendo huéspedes accidentales los humanos (Romero, 2007).

Yersinia pestis es el microorganismo causante de la peste bubónica (una zoonosis), enfermedad que se transmite a los humanos por medio de pulgas presentes en roedores (ratas) (Merino & Lösch, 2005). *Y. enterocolítica* y *Y. pseudotuberculosis* producen gastroenteritis y adenitis mesentérica, afecciones que suelen confundirse con una apendicitis debido a que presentan síntomas semejantes. Estas bacterias causan infecciones urinarias, infecciones de heridas y artritis séptica. Además pueden provocar complicaciones no infecciosas como glomerulonefritis, artritis reactiva y eritema nodoso. Los pacientes con septicemia causado por *Y. enterocolítica* deben recibir antibioterapia, no obstante, la mortalidad es elevada a pesar del tratamiento (50%). Las enfermedades por *Y. pseudotuberculosis* es la yersiniosis más rara (Lopardo et al., 2016).

2.1.4. Pruebas IMViC

Las pruebas IMViC son un método utilizado en Microbiología para diferenciar bacterias entéricas gramnegativas mediante caracterización bioquímica, estas pruebas son: Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer y Utilización de Citrato. Los resultados se obtienen como positivos (+) o negativos (-) a través del cual se puede reconocer al posible microorganismo en estudio (Musó & Acosta, 2017).

2.1.4.1. Prueba de Indol

La prueba de indol detecta la capacidad de un organismo para degradar el aminoácido triptófano y producir indol. Se utiliza para distinguir entre los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (Vashist, Sharma, & Gupta, 2013).

El indol es uno de los productos de degradación del metabolismo del aminoácido triptófano. Las bacterias que tienen la enzima triptofanasa son capaces de oxidar el triptófano y producir indol, ácido pirúvico y amoníaco. El indol que se produce puede detectarse al agregar el reactivo de Kovac's o Ehrlich (soluciones que

contienen p-dimetilaminobenzaldehído) observando el desarrollo de un anillo de color rojo (Koneman et al., 2006).

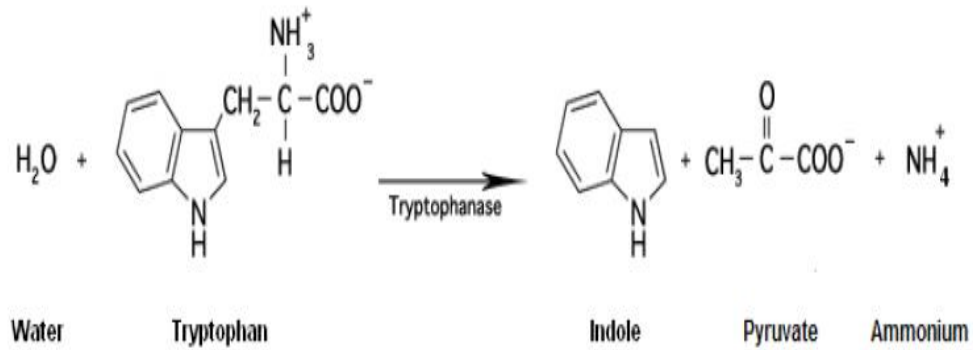


Figura 1. Desaminación del triptófano

Fuente: (Vashist et al., 2013).

La elección entre los reactivos de Ehrlich y de Kovac's depende de la preferencia personal. El reactivo de Ehrlich evalúa bacilos no fermentadores o anaerobios con mínima producción de indol. Debido a que el indol es soluble en compuestos orgánicos, se debe agregar xileno o cloroformo al medio antes de agregar el reactivo de Ehrlich. Para el reactivo de Kovac's este paso de extracción es menos crítico ya que utiliza alcohol amílico como diluyente en lugar de alcohol etílico que utiliza el reactivo de Ehrlich (Koneman et al., 2006).

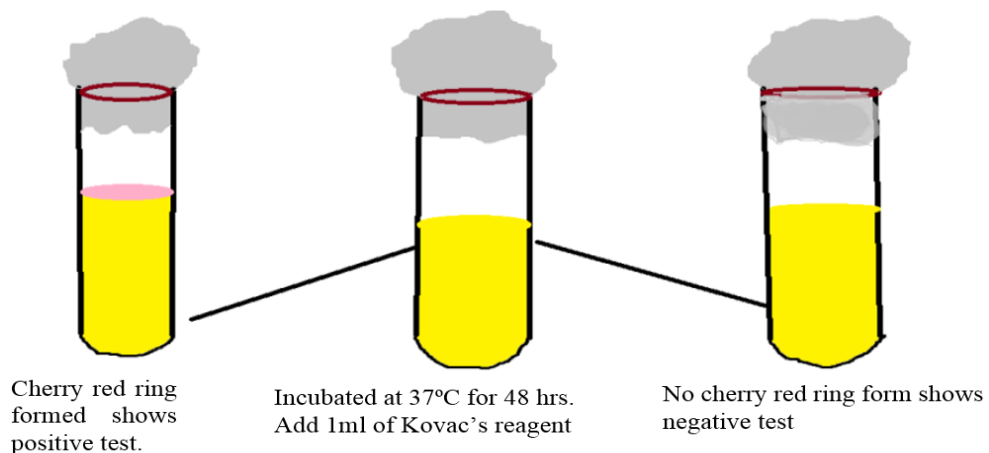


Figura 2. Resultados de la prueba de indol

Fuente: (Vashist et al., 2013).

2.1.4.2. Prueba Rojo de Metilo

Esta prueba mide la acidez final de un cultivo en medio tamponado que contiene glucosa y peptona, pero el valor de pH registrado en el momento de la prueba no es necesariamente el valor más bajo alcanzado durante el crecimiento. En la etapa inicial de la fermentación de glucosa, tanto *E. coli* como *Enterobacter aerogenes* producen suficiente ácido para convertir el rojo de metilo en naranja y rojo (+), pero en una incubación adicional *Enterobacter aerogenes* descompone el ácido pirúvico y otros ácidos, y produce una reversión en la reacción del cultivo hacia la neutralidad; el rojo de metilo se vuelve amarillo (-) (Vashist et al., 2013).

Algunas bacterias realizan una fermentación ácida mixta. Los subproductos son mezclas de grandes cantidades de ácidos estables. Otros organismos fermentativos producen cantidades más pequeñas de ácidos menos estables (Vashist et al., 2013).

La prueba de rojo de metilo analiza la capacidad de realizar la fermentación ácida mixta. El caldo MR-VP contiene glucosa, peptona y un tampón de fosfato. Los organismos que realizan la fermentación ácida mixta producen suficiente ácido para superar la capacidad de amortiguación del caldo, lo que se produce una disminución del pH. Los organismos que realizan otros tipos de fermentación no pueden superar la capacidad de amortiguación del caldo (Koneman et al., 2006).

Después de la incubación, se agrega el indicador de pH rojo de metilo al caldo. El rojo de metilo es rojo a pH inferior a 4,4 (resultado positivo) y amarillo a pH superior a 6,0 (resultado negativo). Un color naranja indica un pH intermedio y se consideraría un resultado negativo (Vashist et al., 2013).

Esta prueba se encuentra entre un conjunto de pruebas (indol, rojo de metilo, Vogues-Proskauer y citrato) que son utilizadas para diferenciar entre bacilos gramnegativos de la familia *Enterobacteriaceae* (Vashist et al., 2013).

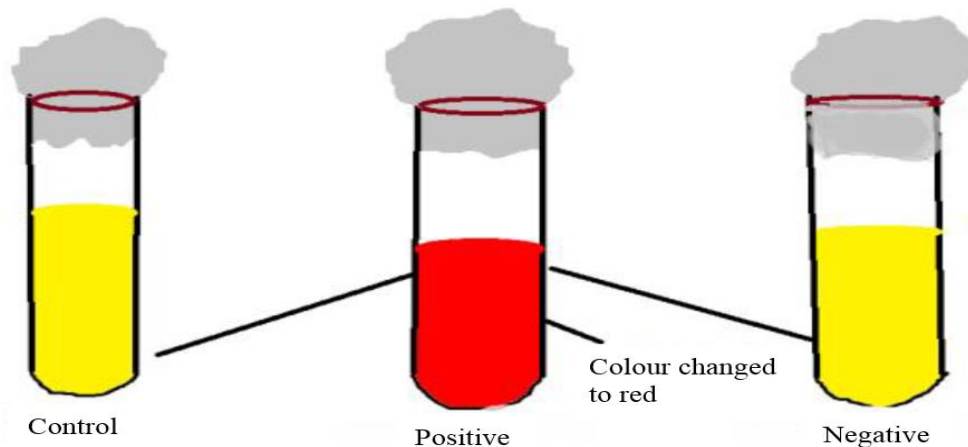


Figura 3. Resultados de la prueba rojo de metilo

Fuente: (Vashist et al., 2013).

2.1.4.3. Prueba Voges-Proskauer

La reacción de Voges-Proskauer (VP) basa su fundamento en la detección de acetoina (acetilmetilcarbinol), un producto final neutro derivado de la degradación de glucosa en bacterias. Esta reacción se utiliza para separar *E. coli* de los grupos *Klebsiella-Enterobacter*. La familia *Enterobacteriaceae* se puede clasificar en dos grupos: fermentadoras de 2,3-butanodiol y fermentadores de ácidos mixtos. La fermentación de la glucosa produce además productos terminales ácidos: ácido fórmico, ácido acético, ácido succínico, alcohol etílico, hidrógeno y anhídrido carbónico (MacFaddin, 2003).

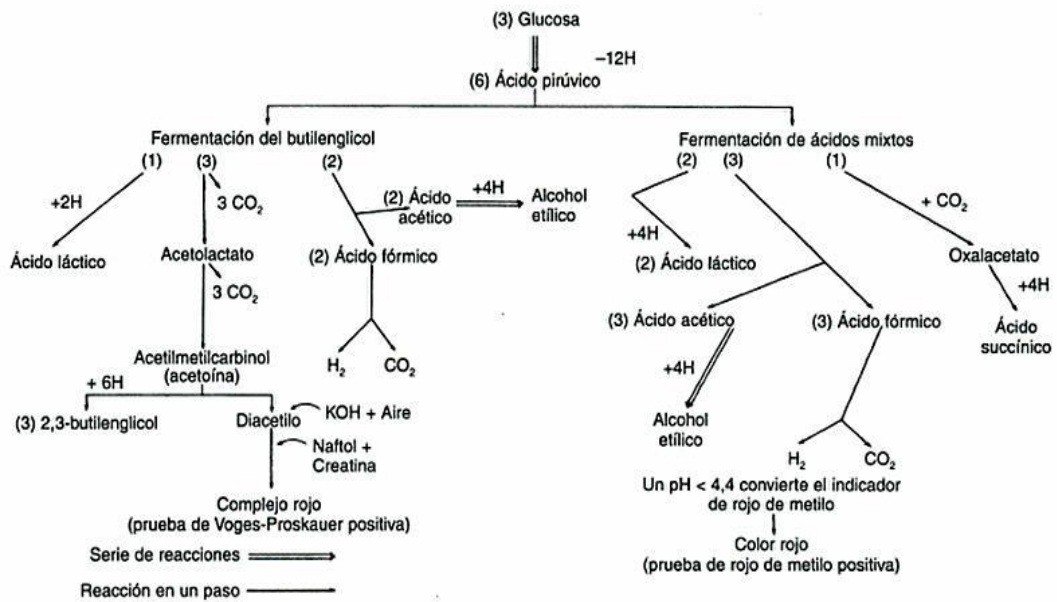


Figura 4. Fermentación de ácidos mixtos y butilenglicol

Fuente: (Koneman et al., 2006).

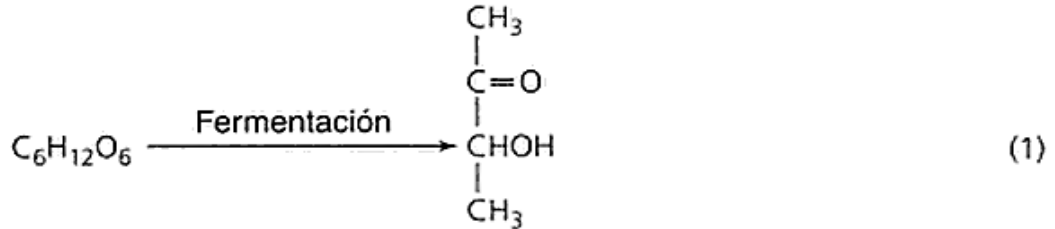
Mediante el reactivo alfa-naftol se detecta la presencia del acetilmetilcarbinol o acetoína que es precursor en la formación de 2,3-butanodiol, seguido de una oxidación a diacetilo por intervención de hidróxido de potasio (KOH al 40%) en presencia de oxígeno atmosférico. El diacetilo origina una coloración roja al reaccionar con los restos guanidínicos de ciertos aminoácidos presentes en la peptona utilizada en el medio de cultivo (INEN, 2015).



Figura 5. Resultados de la prueba Voges-Proskauer

Fuente: (Vashist et al., 2013).

Los microorganismos VP positivos incluyen *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Vibrio damsela* y *Vibrio alginolyticus* (Vashist et al., 2013).



Glucosa

Acetoína
(acetilmetilcarbinol, AMC)

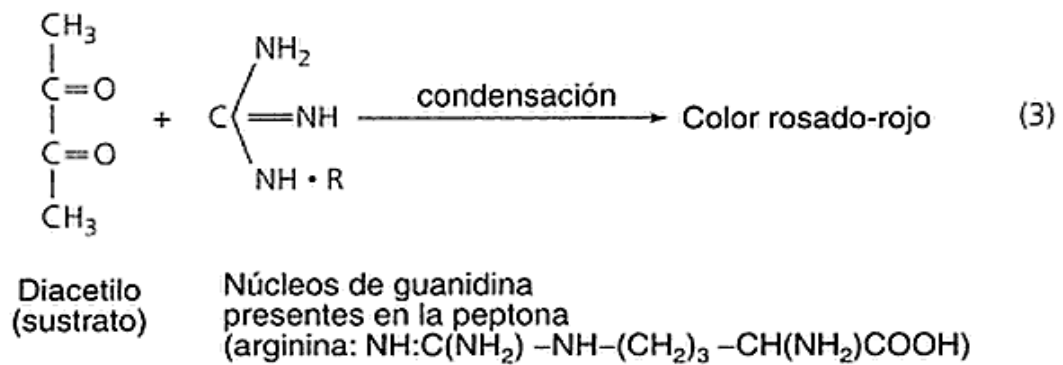
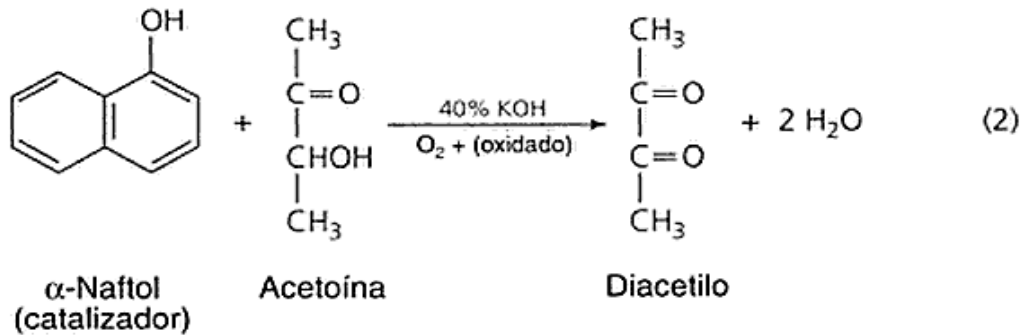


Figura 6. Reacción de Voges-Proskauer

Fuente: (MacFaddin, 2003).

2.1.4.4. Prueba Utilización de Citrato

Esta prueba es utilizada para diferenciar ciertos microorganismos que poseen la capacidad de suministrar energía en ausencia de fermentación o producción de ácido láctico empleando citrato como fuente de carbono única (MacFaddin, 2003).

Para la prueba de utilización de citrato se necesita la presencia de la enzima citrato permeasa, que es producida por el microorganismo, la cual facilita el transporte del citrato hacia el interior de la célula (Vashist et al., 2013). La formulación del medio citrato de Simmons incluye: citrato de sodio como fuente de carbono, fosfato de amonio como fuente de nitrógeno y el indicador de pH azul de bromotimol. El agar se vierte en un tubo de ensayo e inclina hasta que se solidifique. Se inocula ligeramente en estría un pequeño inóculo de una colonia y se incuba a 35-37°C (Goldman & Green, 2015). El azul de bromotimol se utiliza como indicador cuando se metaboliza el citrato de sodio generando dióxido de carbono, que al reaccionar con agua y sodio produce carbonato de sodio (producto alcalino), generando una prueba positiva por medio del cambio de color de verde a azul. Las especies de *E. coli* y *Shigella* son negativas para la prueba de citrato, mientras que muchas otras *Enterobacteriaceae* son positivas (Garg, Garg, & Mukerji, 2010).



Figura 7. Resultados de la prueba de citrato

Fuente: (Vashist et al., 2013).

2.1.5. Cantidad de microorganismos (Turbidez)

La determinación de la turbidez (turbidimetría) es un método práctico para controlar el crecimiento bacteriano de un medio líquido inoculado adecuadamente con un microorganismo dado, dicho medio se torna turbio o nebuloso cuando las bacterias se multiplican. El método se fundamenta en la relación existente entre la turbidez y los cambios en la concentración de células microbianas. La turbidimetría se puede utilizar para estimar el número de microorganismos viables o para determinar el

tamaño de inóculo de una suspensión bacteriana específica utilizando un instrumento turbidimétrico. El instrumento utilizado para medir la turbidez es un espectrofotómetro (o colorímetro) (Goldman & Green, 2015).

El método turbidimétrico más utilizado para estimar la concentración microbiana en una suspensión es el de los estándares de McFarland que representa concentraciones específicas de UFC/ml (Sutton, 2011). Estos estándares se preparan combinando volúmenes específicos de una solución de cloruro de bario al 1,175% con ácido sulfúrico al 1%, obteniendo un precipitado blanco de sulfato de bario (BaSO₄). Para realizar las mediciones de conteo microbiano se utiliza una longitud de onda de 600 nanómetros (L. García, 2010).

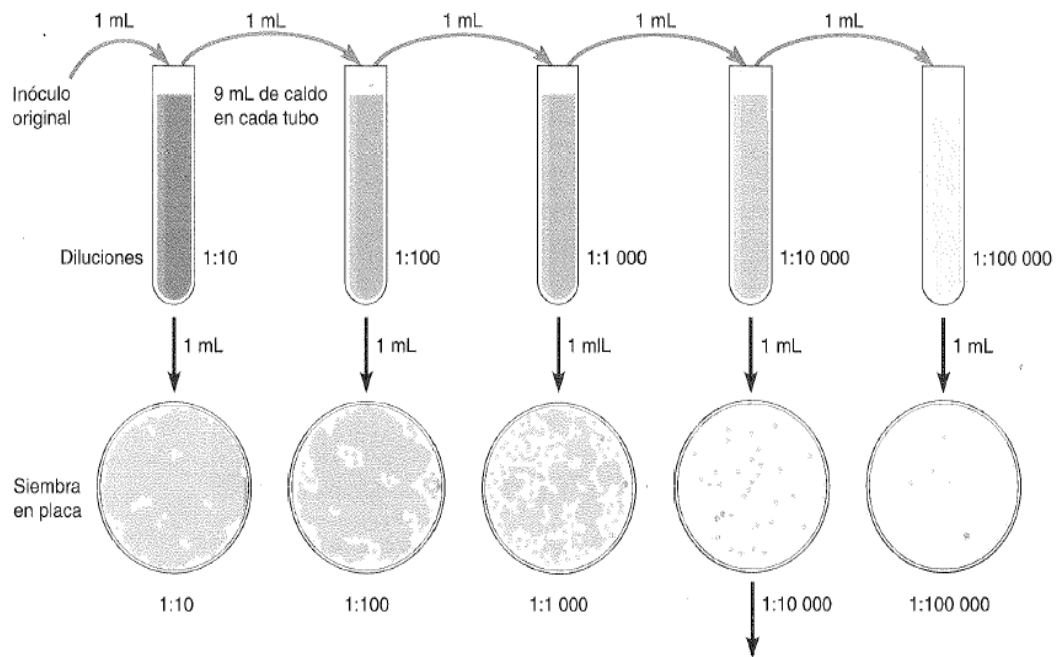
Tabla 1: Estándares McFarland

Estándar McFarland	Cloruro de Bario al 1,175% (ml)	Ácido sulfúrico al 1% (ml)	Concentración bacteriana (UFC/ml)
1	0.1	9.9	3x10 ⁸
2	0.2	9.8	6x10 ⁸
3	0.3	9.7	9x10 ⁸
4	0.4	9.6	12x10 ⁸
5	0.5	9.5	15x10 ⁸
6	0.6	9.4	18x10 ⁸
7	0.7	9.3	21x10 ⁸
8	0.8	9.2	24x10 ⁸
9	0.9	9.1	27x10 ⁸
10	1.0	9.0	30x10 ⁸

Fuente: (Perilla et al., 2004).

2.1.6. Recuento en placa

El método de recuento en placa es muy utilizado para la enumeración de poblaciones microbianas, especialmente bacterias. Este método mide el número de células viables, y se lleva a cabo diluyendo la muestra original en una serie de tubos (fig. 8), seguido del esparcimiento de alícuotas de las diluciones seriadas en placas de agar (método de extensión en placa), o la suspensión de la muestra al mezclarse con el agar justo antes de verter el agar sobre la placa (método de vertido en placa) (Goldman & Green, 2015).



Cálculo: número de colonias en la placa x inversa de la dilución de la muestra = número de bacterias/mL.
 (Por ejemplo, si se observan 32 colonias en la placa correspondiente a la dilución 1/10 000, el recuento es $32 \times 10\ 000 = 320\ 000$ bacterias/mL de muestra.)

Figura 8: Recuentos en placa y diluciones seriadas

Fuente: (Tortora, Funke, & Case, 2007).

Estas placas de agar son incubadas de manera óptima, y las colonias observadas se cuentan como Unidades Formadoras de Colonias (UFC). El recuento de UFC asume que cada colonia está separada por una única célula microbiana viable. El total de colonias contadas en las placas de agar incubadas y el respectivo factor de dilución utilizado se pueden combinar para calcular el número original de microorganismos en una muestra por ml. Los rangos típicos de conteo son 25-250 colonias o 30-300 colonias por placa de agar (Tortora et al., 2007).

En la técnica de recuento en placa hay que tener en cuenta ciertas consideraciones importantes, como son: la composición del medio, las condiciones de incubación y el período de incubación. Evidentemente, los diferentes medios deben ajustarse a los requerimientos nutritivos de cada tipo de microorganismo, por ejemplo factores de crecimiento. Los medios pueden diseñarse para que sean selectivos o diferenciales. Los medios selectivos favorecen el crecimiento de un grupo específico de microorganismos, debido a que la composición y las condiciones de incubación impiden el desarrollo de otros grupos. Los medios diferenciales no impiden el

crecimiento de otros microorganismos, pero permiten la detección de un grupo deseado por diversas características diferenciales. Estos medios pueden diseñarse según diferentes aspectos, algunos reactivos se añaden para permitir la inmediata diferenciación visual de las bacterias, mientras que otros se añaden con el mismo fin tras la incubación (**Atlas & Bartha, 2002**).

Tripteína Soya Agar (TSA) es un medio de uso general para el crecimiento de una amplia diversidad de microorganismos. Este medio contiene tripteína y peptona de soya, los cuales brindan nutrientes ricos en péptidos, bases púricas y pirimídicas, aminoácidos libres, vitaminas y minerales, además de cloruro de sodio y agar. En TSA pueden crecer algunos microorganismos como ciertas especies de *Brucella*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Neisseria* y *Vibrio* (**Vorquímica, 1981**).

Agar MacConkey incluye peptonas digeridas, sales biliares, lactosa, rojo neutro y cristal violeta. Este medio puede ser selectivo y diferencial. Se trata de un agar selectivo para el crecimiento de bacterias gramnegativas en donde las sales biliares y el cristal violeta inhiben las bacterias grampositivas, y diferencial para distinguir las bacterias capaces de fermentar lactosa (*E. coli*, *Klebsiella*, etc.) y las que no (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Proteus*), mediante la producción de ácidos que precipitan las sales biliares y provocan un color rojo del indicador rojo neutro (**Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2016**).

2.2. HIPÓTESIS

2.2.1. Hipótesis de la Investigación

La realización de un estudio aerobiológico en el Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba permitirá identificar microorganismos patógenos y a su vez determinar el nivel de riesgo biológico al cual están expuestos los trabajadores de este sitio.

2.2.2. Hipótesis Estadística

2.2.2.1. Hipótesis Nula

El aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba **NO** presenta riesgo biológico para la salud de los trabajadores.

2.2.2.2. Hipótesis Alternativa

El aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba **SI** presenta riesgo biológico para la salud de los trabajadores.

2.3. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

2.3.1. Variable Independiente

Aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba.

2.3.2. Variable Dependiente

Determinación del nivel de riesgo biológico.

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODO

3.1. MATERIALES Y REACTIVOS

Para el desarrollo del presente trabajo de Intervención en el Relleno Sanitario del GADM Riobamba, se ha empleado un variado tipo de materiales, reactivos y equipos, tanto en la toma de muestras, como en el desarrollo de las diferentes pruebas con el objeto de identificar a los microorganismos en estudio y obtener resultados confiables; para lo cual se consideró que sean de fácil adquisición, haciendo factible la realización del proyecto.

Tabla 2: Materiales utilizados

MATERIALES		
Descripción	Unidad	Cantidad
Cajas Mono-Petri de plástico	Manga x10	40
Cajas Tri-Petri de plástico	Manga x10	15
Matraz Erlenmeyer 250ml	Unidad	12
Jeringuillas estériles 20cc	Unidad	40
Cooler de espuma flex	Unidad	2
Botellas de tapa azul 100ml	Unidad	3
Botellas de tapa azul 500ml	Unidad	3
Mascarillas 3M	Unidad	2
Mascarillas	Caja x50	1
Guantes	Caja x100	2
Marcador permanente	Unidad	2
Cinta adhesiva masking	Unidad	4
Agua destilada	Galón	6
Papel absorbente “teresitas”	Rollo	1

Asa de ojal	Unidad	2
Asa de punta redonda	Unidad	2
Asa Digralsky	Unidad	2
Espátula	Unidad	2
Papel aluminio	Rollo	1
Papel plástico	Rollo	1
Micropipeta calibrable 1000ml	Unidad	2
Puntas para micropipeta 1ml	Caja x50	2
Tubos de dilución	Manga x25	4
Mechero de alcohol	Unidad	2
Varilla de agitación	Unidad	2

Tabla 3: Reactivos utilizados

REACTIVOS
Descripción
Medio de Cultivo Infusión Cerebro-Corazón
Medio de Cultivo Agar MacConkey
Medio de Cultivo Tripteína-Soya Agar
Medio de Cultivo Citrato de Simmons Agar
Ácido Sulfúrico (H ₂ SO ₄)
Cloruro de Bario (BaCl ₂)
Peptona
Cloruro de Sodio (NaCl)
Polipeptona
Dextrosa
Fosfato Ácido Dipotasico (K ₂ HPO ₄)
ρ-dimetilaminobenzaldehído

Alcohol Isoamílico Puro
Ácido Clorhídrico (HCl)
α -naftol
Alcohol Etilico Absoluto
Hidróxido de Potasio (KOH)
Glicerol
Alcohol Industrial
Alcohol Potable
Agua Desionizada

Tabla 4: Equipos utilizados

EQUIPOS
Descripción
Incubadora
Cámara de flujo laminar vertical
Autoclave
Contador de colonias
Vortex
Refrigeradora
Espectrofotómetro UV-VIS
Balanza analítica
Cocineta
Sorbona
Estufa

3.2. MÉTODO

Esta investigación se desarrolló siguiendo el método aerobiológico propuesto por (Herrera et al., 2012) y la norma (INEN, 2015).

3.2.1. Trabajo de campo

El relleno sanitario posee una extensión de 4 hectáreas que consta de dos zonas: desechos hospitalarios y desechos comunes. Ver (Anexo E: Figura E1 y Figura E2).

Las coordenadas geográficas son: 1°38'33" de latitud sur y 78°38'49" de longitud oeste con altura promedio de 2750 msnm. Se encuentra ubicado al sur este de la ciudad de Riobamba aproximadamente a treinta minutos de la Av. Circunvalación, limita al Norte con Cerro Negro, al Sur con el caserío Vargas, al oriente con San Clemente de Aguisacte y al occidente también la elevación Cerro Negro.

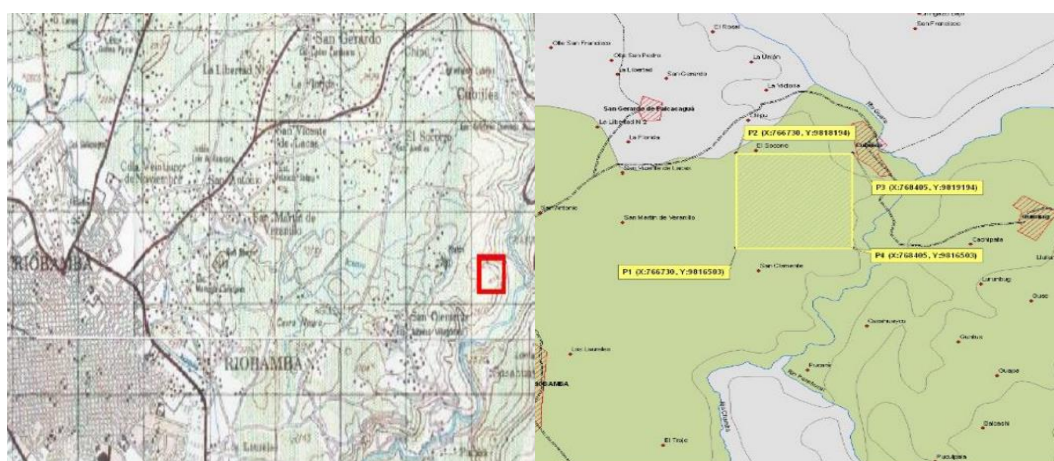


Figura 8: Ubicación Relleno Sanitario de Riobamba

Fuente: Cartografía GADM Riobamba, IGM, SEMPLADES

En las instalaciones del relleno sanitario se tomaron 40 muestras de aire, 2 muestreos por día durante 20 días, 10 días en la zona de desechos hospitalarios y 10 días en la zona de desechos comunes, mismos que se realizaron en puntos diferentes donde existe mayor probabilidad de contaminación biológica procedente de los desechos.

3.2.1.1. Toma de muestras

Para el proceso de muestreo se utilizaron trajes impermeables industriales, botas de caucho con planta adecuada para evitar objetos corto punzantes, guantes, mascarilla y cofia, para así cuidar la salud de los investigadores durante el muestreo. Ver (Anexo E: Figura E3)

Para la toma de muestras de aire se utilizaron jeringuillas de 20 centímetros cúbicos estériles, sin aguja, por cada toma de muestra y zona de estudio, se realizaron 50 aspiraciones de aire. Estas aspiraciones se depositaron en matraces de vidrio que contenían caldo de cultivo Infusión Cerebro-Corazón (BHI-Brain Hearth Infusion).

Los matraces utilizados para la recolección de muestras se encontraban sellados con papel aluminio y únicamente fueron abiertos para depositar las muestras, evitando que la jeringuilla tope el caldo de cultivo. Cada 10 aspiraciones se agitó el matraz para que exista interacción del aire con el medio de cultivo.

Estos matraces se transportaron, almacenaron e incubaron a 37°C durante 48 horas permitiendo el crecimiento de microorganismos fácilmente observables por la presencia de turbidez del caldo de cultivo (**Vargas, 2011**).

3.2.2. Trabajo de laboratorio

3.2.2.1. Presencia de bacterias

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de 48 horas se realizó el aislamiento bacteriano en una cámara de flujo laminar vertical, para lo cual se prepararon diluciones en caldo peptona al 1%; en Tripteína Soya Agar se hicieron diluciones 10^4 , 10^5 , 10^6 , y para Agar MacConkey se hicieron diluciones 10^1 , 10^2 , 10^3 . Mediante el uso de una micropipeta y puntas estériles se inoculó 100µl sobre Cajas Petri con medio sólido Tripteína Soya Agar y Agar MacConkey para cada día, zona y hora de muestreo, realizando difusión en placa con el asa Digralsky. Finalmente las Cajas Petri se llevaron a incubación durante 48 horas a 37°C.

Al finalizar el tiempo de incubación se evaluaron ambos medios de cultivo; para el Agar MacConkey la presencia de bacterias fermentadoras y no fermentadoras de

lactosa, dichas bacterias con características macroscópicas diferentes fueron aisladas mediante estría simple con ayuda de una asa de punta redonda en cajas tri-petri, en el mismo medio de cultivo del que fueron extraídas, posteriormente se llevó a incubación durante 48 horas a 37°C.

En el caso de Tripteína Soya Agar se evaluó el crecimiento de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y estrictos, para ello se utilizó cajas tri-petri con el mismo medio de cultivo del cual fueron extraídos dichos microorganismos. Se realizó el aislamiento mediante estría simple e incubó a 37°C por un período de 48 horas.

Al cabo de las 48 horas de incubación del aislamiento bacteriano, se procedió a la verificación de posibles contaminaciones, se realizó la purificación en caso de ser necesario y se almacenó para su posterior empleo en las pruebas IMViC (**Vargas, 2011**).

3.2.2.2. Cantidad de microorganismos (Turbidez)

El recuento de microorganismos viables se efectuó mediante el método turbidimétrico, con el que primeramente se elaboró una curva estándar denominada curva estándar de McFarland por medio de reacciones químicas que simulan el crecimiento bacteriano en un medio líquido. Para la elaboración de la curva estándar de McFarland se utilizó como estándares diferentes volúmenes de ácido sulfúrico al 1% y cloruro de bario al 1,175%. (Ver Tabla 1)

Mediante el espectrofotómetro DR 5000 UV-Vis y tomando como blanco de medición el medio de cultivo BHI preparado y estéril, se midió la turbiedad de los 40 muestreos aerobiológicos realizados en el Relleno Sanitario del GADM de Riobamba y a una longitud de onda de 600nm., obteniendo el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml).

3.2.2.3. Cuantificación directa de UFC/ml

3.2.2.3.1. Recuento en placa

Transcurrido el tiempo de incubación de 48 horas de las muestras aerobiológicas se prepararon diluciones seriadas al décimo en caldo peptona al 1%:

- dil.(-1) 0,1 ml muestra + 0,9 ml solución fisiológica
- dil.(-2) 0,1 ml dil.(-1) + 0,9 ml solución fisiológica
- dil.(-6) 0,1 ml dil.(-5) + 0,9 ml dilución fisiológica

A continuación se inoculó 0,1 ml (100µl) de las diluciones -1, -2, -3 sobre Cajas Petri con medio sólido Agar MacConkey y las diluciones -4, -5, -6 en Tripteína Soya Agar realizando difusión en placa con el asa Digrafsky. Las placas fueron incubadas 48 horas a 37°C. Se contaron las colonias obtenidas en cada Caja Petri y de aquellas que tenían entre 30 y 300 colonias se calcularon las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml), según la fórmula:

$$UFC/ml = \frac{N * FD}{V}$$

donde:

- **UFC:** unidades formadoras de colonias
- **N:** número promedio de colonias obtenidas para una dilución dada
- **V:** volumen inoculado
- **FD:** factor de dilución (**Universidad de Buenos Aires, 2010**).

3.2.2.4. Pruebas IMViC

Los microorganismos aislados fueron sometidos a pruebas bioquímicas para determinar su capacidad enzimática y poder identificarlas bibliográficamente como patógenas o no patógenas. Se emplearon 4 pruebas bioquímicas entre las que se encuentran: Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer y Citrato de Simmons. Los resultados se representan como positivos (+) o negativos (-) (**INEN, 2015**).

3.2.2.4.1. Prueba de Indol

Se inoculó cada una de las bacterias aisladas con un asa de punta redonda en tubos de ensayo que contenían 5 mililitros de caldo de peptona al 1%, e incubó a 37°C durante 48 horas. Una vez finalizado el período de incubación se añadió 3 gotas del reactivo de Kovac's a cada tubo de ensayo, en la cual en caso de ser una reacción positiva se forma un anillo en la superficie del medio de color rojo oscuro (+) y en su defecto formación de color amarillo (-) (**MacFaddin, 2003**).

3.2.2.4.2. Prueba Rojo de Metilo

Se colocó 5 mililitros de medio de cultivo líquido RM-VP (Rojo de Metilo y Voges-Proskauer) en tubos de ensayo, donde se inoculó cada una de las bacterias aisladas y posteriormente se incubó a 37°C durante 48 horas. Una vez finalizado el período de incubación se añadió 3 gotas de solución de rojo de metilo al 0,2%, en la cual el caldo de cultivo se torna de color rojo si es un resultado positivo (+), caso contrario el caldo se torna de color amarillo si es un resultado negativo (-) (**INEN, 2015**).

3.2.2.4.3. Prueba Voges-Proskauer

Se utilizaron tubos de ensayo con 5 mililitros de medio de cultivo líquido RM-VP, posteriormente se inoculó cada una de las bacterias aisladas e incubó a 37°C durante 48 horas. Finalizado el período de incubación se añadió 2 gotas de solución de hidróxido de potasio (KOH) al 40% y 3 gotas de α -naftol al 6%, se agitaron y se dejó reposar durante 5 minutos. Esta prueba se evaluó mediante la formación de una capa en la superficie del medio de color rojizo, la cual se tomó como resultado positivo (+) (**INEN, 2015**).

3.2.2.4.4. Prueba Citrato de Simmons

Para esta prueba se emplearon tubos microbiológicos de tapa rosca en los cuales se esterilizó medio de cultivo sólido Simmons Citrate y se dejó enfriar en posición inclinada. Con un asa de punta redonda se realizó estrías de todas las bacterias

aisladas previamente y se incubaron durante 48 horas a 37°C. En caso de ser un resultado positivo (+) se evidencia el color azul de bromotimol en el medio (INEN, 2015).

3.2.2.5. Preservación de bacterias con glicerol

Las bacterias aisladas fueron transferidas a caldo TSA (Tripteína Soya Agar) que contenía 15% de glicerol y se almacenó a -80°C.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Según lo planificado en la metodología del proceso, se realizó un diseño experimental del tipo AxBxC en el cual se consideró tres factores; factor A: sectores de muestreo, factor B: horas de muestreo y factor C: días de muestreo. La toma de muestras se realizó durante cuatro semanas de lunes a viernes distribuido en dos partes: la primera parte para el área de desechos hospitalarios y la segunda parte para el área de desechos comunes.

Factor A: Sectores de muestreo

a1: Zona 1 (Área de Desechos Hospitalarios)

a2: Zona 2 (Área de Desechos Comunes)

Factor B: Horas de muestreo

b1: 10h00

b2: 15h00

Factor C: Días de muestreo

c1: Lunes

c2: Martes

c3: Miércoles

c4: Jueves

c5: Viernes

Tabla 5: Tratamientos resultantes de la combinación de los factores de estudio

Tratamientos	A: Sectores	B: Horas	C: Días	Fecha
a1b1c1	Área de Desechos Hospitalarios	10h00	Lunes	23/10/2017
a1b1c2	Área de Desechos Hospitalarios	10h00	Martes	24/10/2017
a1b1c3	Área de Desechos Hospitalarios	10h00	Miércoles	25/10/2017
a1b1c4	Área de Desechos Hospitalarios	10h00	Jueves	26/10/2017
a1b1c5	Área de Desechos Hospitalarios	10h00	Viernes	27/10/2017
a1b2c1	Área de Desechos Hospitalarios	15h00	Lunes	30/10/2017
a1b2c2	Área de Desechos Hospitalarios	15h00	Martes	31/10/2017
a1b2c3	Área de Desechos Hospitalarios	15h00	Miércoles	01/11/2017
a1b2c4	Área de Desechos Hospitalarios	15h00	Jueves	02/11/2017
a1b2c5	Área de Desechos Hospitalarios	15h00	Viernes	03/11/2017
a2b1c1	Área de Desechos Comunes	10h00	Lunes	06/11/2017
a2b1c2	Área de Desechos Comunes	10h00	Martes	07/11/2017
a2b1c3	Área de Desechos Comunes	10h00	Miércoles	08/11/2017
a2b1c4	Área de Desechos Comunes	10h00	Jueves	09/11/2017
a2b1c5	Área de Desechos Comunes	10h00	Viernes	10/11/2017
a2b2c1	Área de Desechos Comunes	15h00	Lunes	13/11/2017
a2b2c2	Área de Desechos Comunes	15h00	Martes	14/11/2017
a2b2c3	Área de Desechos Comunes	15h00	Miércoles	15/11/2017
a2b2c4	Área de Desechos Comunes	15h00	Jueves	16/11/2017
a2b2c5	Área de Desechos Comunes	15h00	Viernes	17/11/2017

Tabla 6: ANOVA (Análisis de varianza)

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Replicaciones	$(r-1)$
Factor A	$(a-1)$
Factor B	$(b-1)$
Factor C	$(c-1)$
Factor AB	$(a-1)(b-1)$
Factor AC	$(a-1)(c-1)$
Factor BC	$(b-1)(c-1)$
Factor ABC	$(a-1)(b-1)(c-1)$
Residuo	$(abc-1)-[(r-1)+(a-1)+(b-1)+(c-1)+(a-1)(b-1)+(a-1)(c-1)+(b-1)(c-1)+(a-1)(b-1)(c-1)]$
Total	$abc-1$

Nota: Se emplearon dos réplicas y sus interacciones dobles y triples serán analizadas con el paquete estadístico Infostat estudiantil, con un grado de confianza del 95%.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1.1. Crecimiento microbiano

4.1.1.1. Crecimiento bacteriano

El crecimiento bacteriano se evidenció por el método de turbidez, el mismo que se identificó por el cambio de coloración de ámbar brillante transparente a un color opaco turbio. Además, la formación de nata en la superficie del medio de cultivo, corroboró la existencia de colonias bacterianas. Estos cambios en los medios de cultivo se produjeron luego del periodo de incubación, mencionado en la metodología. Ver (Anexo E: Figura E4, E5, E6)

4.1.2. Difusión en placa

4.1.2.1. Difusión en placa para bacterias

La siembra de las 40 muestras (tratamientos) realizadas correspondientes al periodo de muestreo, fue realizado por el método de difusión en placa en los medios de cultivo Agar MacConkey con diluciones 10^1 , 10^2 , 10^3 , donde el crecimiento fue minoritario y Tripteína Soya Agar con diluciones 10^4 , 10^5 , 10^6 , en el cual se evidenció un crecimiento favorable.

En el medio de cultivo Agar MacConkey se realizaron diluciones 10^1 , 10^2 , 10^3 , para el área de desechos hospitalarios y desechos comunes, determinándose que en el área de depósito de desechos comunes existió mayor concentración de microorganismos y en el área de depósito de desechos hospitalarios no presentó crecimiento. En este medio no hubo crecimiento en muestras provenientes del área de desechos

hospitalarios en virtud de que es un medio selectivo diferencial, en el cual se puede encontrar bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gramnegativos, que presumiblemente son los tipos de microorganismos que se aislaron del área de desechos comunes (**Bowen, Mardones, & Velasquez, 2014**). Ver (Anexo B: Tabla B3 & Anexo E: Figura E5)

En el medio de cultivo Tripteína Soya Agar se realizaron diluciones 10^4 , 10^5 , 10^6 , para el área de desechos hospitalarios y desechos comunes, se evidenció que en la mayoría de las muestras existió crecimiento bacteriano, esto se debe a que el medio de cultivo utilizado no es selectivo, favoreciendo el crecimiento de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y estrictos (**Aravanlabs, 2017**). Ver (Anexo B: Tabla B2 & Anexo E: Figura E4)

4.1.3. Aislamiento microbiano

4.1.3.1. Aislamiento bacteriano

Se aislaron 103 colonias macroscópicamente diferentes por medio de la técnica de estría simple, del total de estas colonias 94 fueron aisladas en medio de cultivo Tripteína Soya Agar y 9 en medio de cultivo Agar MacConkey.

Las colonias aisladas fueron codificadas adecuadamente con el fin de facilitar su identificación en el proceso de aislamiento. Cada colonia respectivamente codificada fue aislada en cajas tri-petri con el mismo medio de cultivo del que procedía, lo que permitió que las funciones metabólicas de las bacterias no fueran alteradas por el cambio de nutrientes del medio. Ver (Anexo B: Tabla B4)

Se identificó que en la totalidad de las cajas tri-petri con las colonias aisladas luego de las 48 horas de incubación hubo crecimiento bacteriano prolifero. Este crecimiento de colonias bacterianas fue idóneo para su posterior empleo en las pruebas IMViC, especificadas en la metodología. Con el fin de obtener el resultado deseado, se purificó nuevamente aquellas colonias que presentaron contaminación. Ver (Anexo E: Figura E6)

4.1.4. Pruebas IMViC

Las pruebas IMViC se realizaron en 103 bacterias macroscópicamente diferentes aisladas de las muestras analizadas del aire de las zonas de desechos hospitalarios y desechos comunes del Relleno Sanitario del GADM de Riobamba.

Entre las pruebas realizadas estuvieron: Indol, Rojo de Metilo, Voges Proskauer y Citrato de Simmons. Dichas pruebas IMViC fueron de análisis cualitativo, utilizando un criterio de resultados positivos (+) o negativos (-). (Ver Anexo B: Tabla B5 y B6)

En el Gráfico 1 se puede observar el porcentaje de repetitividad de cada especie de microorganismo, a partir de las 103 bacterias aisladas. Los microorganismos con mayor presencia fueron *Shigella flexneri* / *Enterococcus faecalis* con 35 repeticiones, lo que corresponde a un porcentaje de 33,98% del total de bacterias aisladas. Las especies de microorganismos con el segundo porcentaje más alto fueron *Enterobacter cloacae* Tipo II, con 15,53% correspondiente a 16 repeticiones; seguido por *Pantoea agglomerans* con 14,56%, equivalente a 15 repeticiones. La especie de *Hafnia alvei* presentó una frecuencia de incidencia del 7,77%, correspondiente a 8 repeticiones; las especies de *Salmonella typhi* / *Citrobacter freundii* y *Staphylococcus aureus*, con 7 repeticiones cada una, representaron el 6,80% del total de bacterias aisladas respectivamente. La especie *Escherichia coli* presentó el 5,83% el cual corresponde a 6 repeticiones; *Klebsiella pneumoniae* / *Enterobacter aerogenes* representó el 4,85% con 5 repeticiones; *Proteus mirabilis* con 2 repeticiones correspondiente al 1,94% de presencia bacteriana y finalmente *Citrobacter koseri* / *Providencia* con 0,97% y 1 repetición, siendo estas dos últimas especies los porcentajes más bajos de repetitividad. Además, también un 0,97% del total, correspondió a una bacteria que no se pudo identificar, a causa de que no existen resultados normalizados.

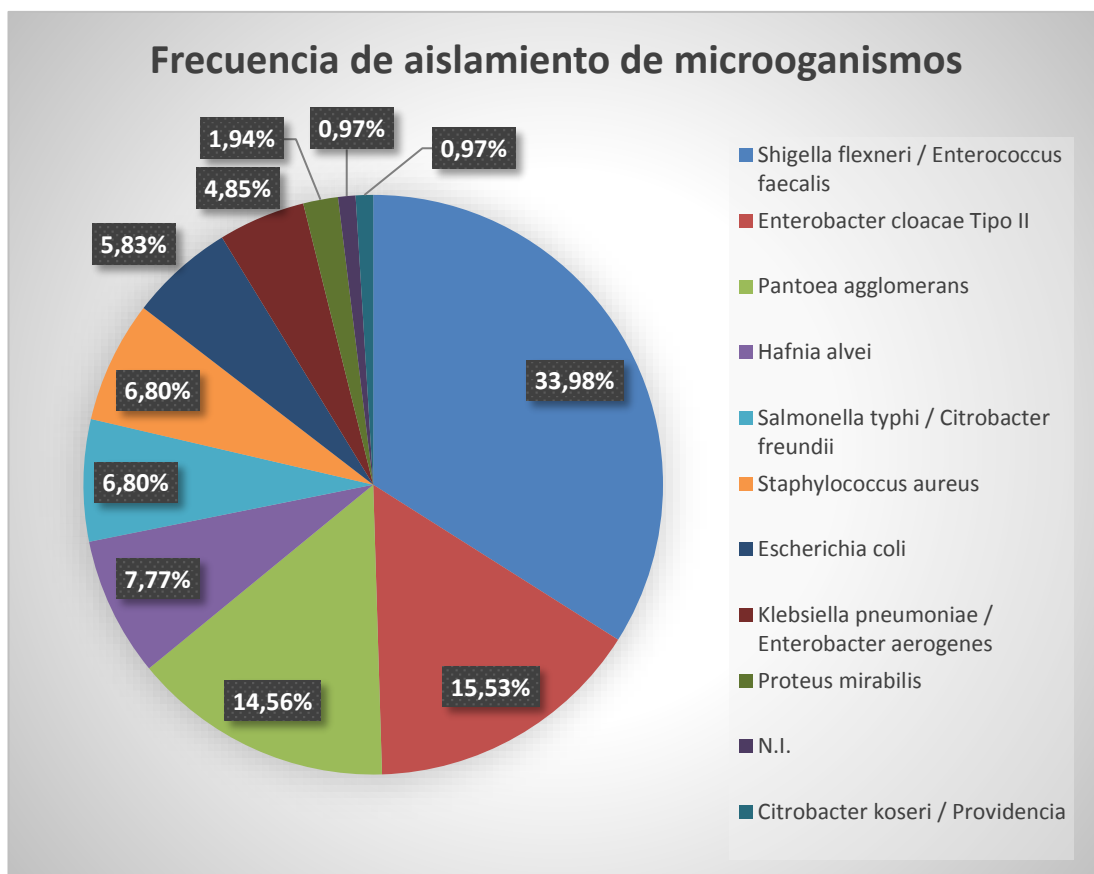


Gráfico 1: Frecuencia de aislamiento de microorganismos en la etapa experimental del proyecto.

Los resultados indican que la mayor variedad de microorganismos se presentó en el tratamiento a1b2c3, este tratamiento correspondió al área de desechos hospitalarios del día miércoles a las 15:00. Las bacterias que se identificaron bajo estas condiciones fueron: *Enterobacter cloacae* Tipo II, *Shigella flexneri*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Pantoea agglomerans*, *Salmonella typhi*, *Citrobacter freundii*. Sin embargo, para el caso de desechos comunes el tratamiento que mayor variedad presentó fue el tratamiento a2b2c3 del día miércoles a las 15:00. En este tratamiento se evidenció el crecimiento de *Shigella flexneri*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae* Tipo II. Esto se debe a que previo a la toma de muestras tanto los desechos hospitalarios como los desechos comunes fueron vertidos, lo que incremento la concentración de microorganismos del aire, lo cual provoca riesgos en la salud del personal que se encuentra expuesto.

4.1.5. Cantidad de microorganismos (Turbidez)

El método de turbidez es un estudio cuantitativo de concentración microbiana, para el cual se requirió el empleo de la curva estándar de crecimiento microbiano, conocida como escala de McFarland, la cual brindó los parámetros necesarios por medio de reacciones químicas para conocer un valor estimado de microorganismos por métodos turbidimétricos y espectrofotométricos. Ver (Anexo B: Tabla B8 y Anexo D: Gráfico D1)

La curva de McFarland se realiza con el fin de proporcionar una turbidez comparable con la de una suspensión bacteriana, ya que esta indica la absorbancia a la cual se puede encontrar la cantidad de microorganismos al mezclar las soluciones de cloruro de bario y ácido sulfúrico (Mahon et al., 2015). La importancia de realizar dicha curva es determinar los valores estimados para un inóculo de bacterias obtenidas mediante el muestreo en el caldo BHI (Infusión Cerebro-Corazón).

4.1.6. Cuantificación directa de UFC/ml

4.1.6.1. Recuento en placa

El recuento en placa fue utilizado para determinar la concentración bacteriana de la muestra. El recuento de microorganismos, se basó en el conteo de colonias visibles, en un rango de 30 a 300 colonias. Sin embargo, la muestra no fue totalmente homogénea con respecto a su composición microbiológica, es decir, presentó muchos errores al definir la concentración microbiana. Posterior al conteo de colonias visibles, se consideró que la colonia estaba compuesta por unidades formadoras de colonia (UFC) y se determinó la concentración microbiana aplicando la ecuación expuesta en la metodología. Ver (Anexo B: Tabla B9 y B10)

4.1.7. Método turbidimétrico (indirecto) y método de recuento en placa (directo)

Para determinación el número de microorganismos aerotransportables se utilizaron dos métodos los cuales fueron, recuento en placa, que es un método directo y se basa

en que cada microorganismo desarrollará una colonia visible, pero, debido a que la muestra no es totalmente homogénea con respecto a su composición microbiológica, es posible que una colonia se origine de un microorganismo o de cientos de ellos, por ello al darse una colonia por cientos de microorganismos se tendrá un conteo menor al real. En el medio de cultivo que se sembró las diluciones elegidas se obtendrá un crecimiento óptimo luego de un determinado período de tiempo a una temperatura a la cual los microorganismos se van a desarrollar correctamente, para sembrar la muestra se realiza diluciones evitando que exista una superpoblación de microorganismos en la caja Petri y facilitar el conteo y determinar el número de Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/ml) (**López & Torres, 2006**); y el método turbidimétrico en el cual se utiliza la curva de McFarland, es un método indirecto que determina el crecimiento microbiano, mediante la medición de las absorbancias de las muestras que contienen los microorganismos deseados ya incubados (**Mahon et al., 2015**); este método es mucho más fácil y menos costoso, utiliza un espectrofotómetro para la medición de las absorbancias, con lo cual se procede a calcular la cantidad de UFC/ml; este método es muy utilizado por su fácil acceso y mucho más rápido debido a que la medición se realiza del caldo cultivo en el que se tomó las muestras, mientras que en el recuento en placa se debe transferir a cajas Petri con medio sólido para que exista crecimiento microbiano y así poder contar las colonias que se evidenciaran luego de 48 horas. En estos métodos las células no viables no van a ser contabilizadas puesto que en el recuento en placa no va a existir crecimiento, y en el método turbidimétrico el medio se vuelve translúcido, por lo que deja pasar la luz y no existirá una medida de esos microorganismos. Además la curva de McFarland es sumamente práctica dado que determina un estimado de la concentración microbiana.

La curva de McFarland se utiliza para medir la turbidez de un medio líquido inoculado con microorganismos. Este método es muy útil cuando se necesita enumerar una gran cantidad de microorganismos o se requiere determinar el tamaño del inóculo de una suspensión bacteriana específica, tiene una relación entre la turbidez y el cambio de concentración microbiana (**Goldman & Green, 2015**). Al realizar la curva se obtuvo una ecuación lineal con la cual se determinó la

concentración microbiana en todos los tratamientos utilizados en este ensayo, además se obtuvo un coeficiente de determinación del 99,35% que indica el grado de relación lineal que existe entre la concentración de microorganismos y la absorbancia a 600 nm.

La curva de McFarland determina bacterias suspendidas, esto es gracias a que simula ópticamente suspensiones bacterianas utilizando patrones mediante precipitación química; este método tiene la ventaja de que los estándares son químicos y no necesitan incubación ni otros instrumentos que no sean ópticos para poder ser comparados (Turgeon, 2011). Mientras que el método de recuento en placa determina el número de microorganismos presentes en una muestra por medio de colonias que se forman en la placa inoculada con microorganismos, para esto se utiliza diluciones seriadas con el fin de que cada colonia formada provenga de un único microorganismo, no obstante, muchas de las veces existe un error en el conteo por lo que se tendrá un número diferente al real, se toma como idóneo las placas Petri incubadas que tengan un número total de colonias entre 30 y 300 colonias.

4.1.8. Nivel de riesgo biológico

Se realizó la identificación de microorganismos patógenos debido al proceso que se lleva al manipular desechos hospitalarios y comunes en el Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba (GADM Riobamba), así como la determinación de la concentración en la cual se encuentran presentes en el aire. Ver (Anexo B: Tabla B8)

Para la evaluación del nivel de riesgo biológico asociado al Relleno Sanitario del GADM de Riobamba, se procedió a la clasificación de todas las especies bacterianas identificadas mediante las pruebas IMViC en base a los grupos de riesgo mencionado por el Real Decreto 664/1997, el cual manifiesta los criterios para la clasificación de agentes biológicos en cuatro grupos de acuerdo al riesgo de infección, patogenicidad, peligro para trabajadores, la propagación y la existencia de tratamiento. (Ver Tabla 7)

Tabla 7: Evaluación de peligrosidad de agentes biológicos según el R.D. 664/1997 en las áreas de depósito de desechos hospitalarios y desechos comunes.

Clasificación de Peligrosidad de los Agentes Biológicos	
Nombre de la bacteria	Grupo
<i>Shigella flexneri</i>	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	2
<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II	2
<i>Pantoea agglomerans</i>	N.I
<i>Hafnia alvei</i>	N.I
<i>Salmonella typhi</i>	3
<i>Citrobacter freundii</i>	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2
<i>Proteus mirabilis</i>	2
<i>Citrobacter koseri</i>	N.I
<i>Providencia</i>	2

Nota: N.I. indica agentes biológicos no identificados por el Real Decreto

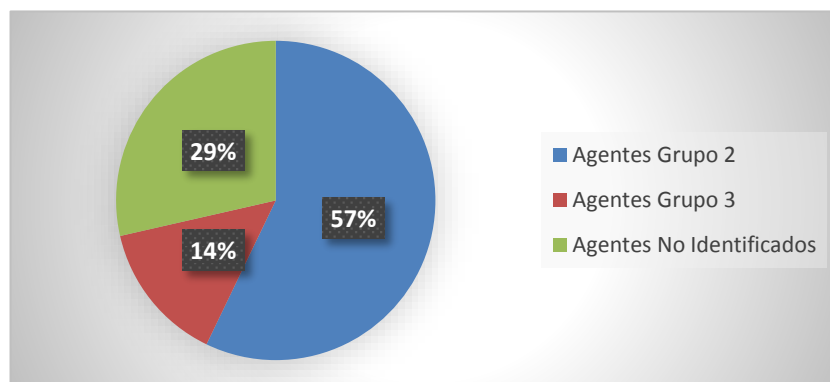


Gráfico 2: Clasificación de agentes biológicos obtenidos en el Relleno Sanitario del GADM de Riobamba, según el R.D. 664/1997.

En el Gráfico 2, se puede analizar que el 57% representa que 8 del total de 14 especies bacterianas encontradas pertenecen al grupo 2, según lo dispuesto por el Real Decreto 664/1997 estos agentes pueden causar enfermedad y presentan peligro para los trabajadores, la tendencia a propagarse es poco probable y además existe tratamiento eficaz para combatirlos. Además se puede observar que el 29% indica que 2 del total de 14 especies bacterianas encontradas corresponden al grupo 3, estos agentes son definidos como aquellos que pueden causar patologías graves y representan un serio riesgo para los trabajadores, con alta probabilidad de propagación, también existe tratamiento eficaz para combatirlos. Finalmente el 14% restante señala que 4 del total de 14 especies bacterianas encontradas pertenece al grupo N.I como agentes no identificados por el Real Decreto. Esto indica que la mayor parte de bacterias aerotransportables pertenecen al grupo 2 y 3, lo cual representa un problema serio para el personal que ejerce las labores de manipulación de desechos dentro del relleno sanitario, estando más expuestos a bioaerosoles patógenos, que las personas que trabajan en los alrededores del relleno o en la recolección de basura (**Kaźmierczuk & Bojanowicz, 2014**).

Algunos autores y organismos como la ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), la AIHA (American Industrial Hygiene Association), la OMS (Organización Mundial de la Salud), el HSE (Health and Safety Executive), etc. han intentado establecer límites de exposición ambiental para agentes biológicos y sus productos basándose en los efectos en la salud. Dichos organismos mencionan que si la concentración supera las 10000 UFC/m³ (unidades formadoras de colonias por metro cúbico) tanto en bacterias grampositivas como en bacterias gramnegativas, se debe aplicar inmediatamente medidas correctivas. Mientras que si la concentración es inferior a 10000 UFC/m³, se sugiere identificar los agentes biológicos y aplicar medidas correctivas si alguno de ellos excede las 500 UFC/m³ (**Miron, 2008**).

En general, la emisión de partículas aerotransportables fue alta y se podría llegar a la conclusión que el aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba está moderadamente contaminado. La presencia de patógenos bacterianos pueden ser la causa de problemas de salud teniendo que tomar medidas preventivas y correctivas. Para la reducción del riesgo, los trabajadores

están en la obligación de usar controles como: cambio de ropa, buena higiene personal y tareas de rotación. Las propuestas Internacionales indican que existe peligro aun cuando las concentraciones estén por debajo de los límites referenciales.

4.1.9. Diseño experimental

El paquete estadístico Infostat estudiantil, fue la herramienta de análisis estadístico seleccionado para la investigación, se desarrolló un diseño experimental del tipo $A \times B \times C$, y su respectiva prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95% de los datos obtenidos por el método de turbidez. En total se obtuvo 40 muestras, un coeficiente de correlación del 77% y un coeficiente de variación del 37.52%, por consiguiente, los resultados obtenidos entre muestras y réplicas no presentaron variabilidad respecto a la zona de muestreo.

Con la finalidad de determinar el objetivo planteado en el estudio, en el Gráfico 2 se puede apreciar los resultados de la interacción de los tres factores: A: zonas de muestreo, B: horas de muestreo y C: días de muestreo en relación al valor de las medias de concentración de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) del medio de cultivo BHI mostraron que el tratamiento a1b1c5, fue el tratamiento que mayor concentración y riesgo biológico presentó. Dicho tratamiento correspondió al muestreo realizado en la zona de desechos hospitalarios, a las 10:00 am del día viernes. La concentración alta de microorganismo en el aire puede ser el causante de posibles enfermedades por exposición a los trabajadores del Relleno Sanitario del GADM de Riobamba.

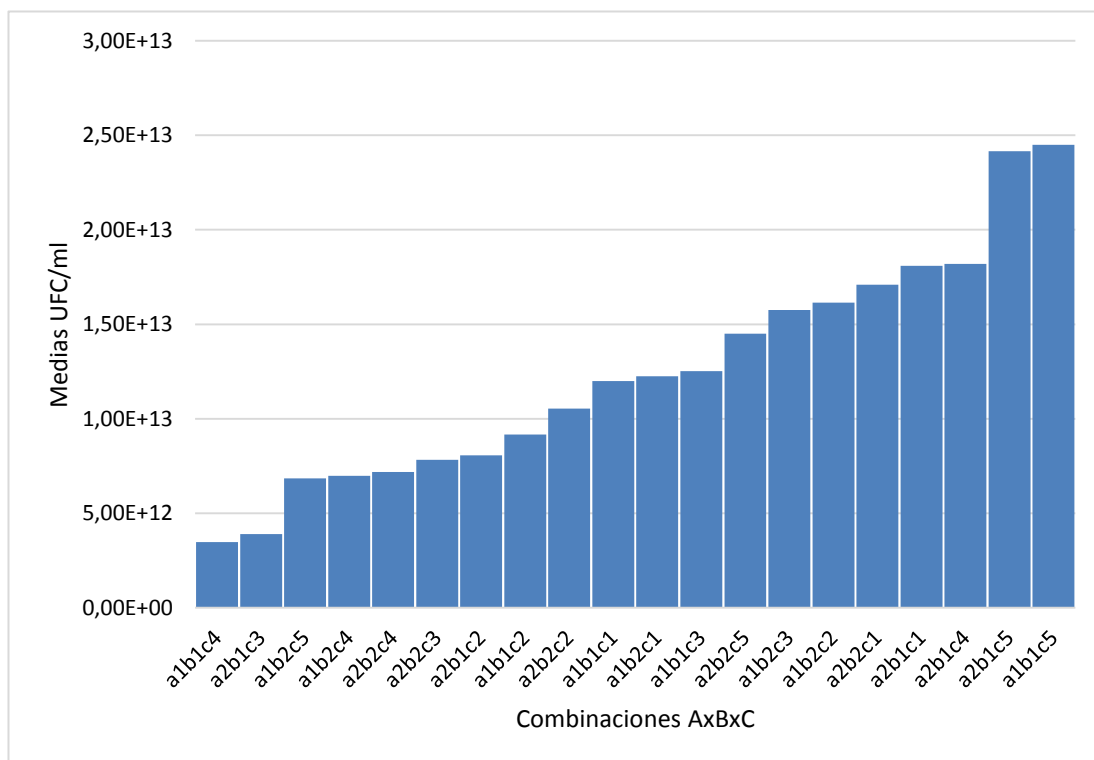


Gráfico 3: Concentración de microorganismos (UFC/ml) obtenidos por el método turbidimétrico de la combinación de los factores AxBxC.

En este estudio se identificó microorganismos mesófilos los cuales se desarrollan óptimamente a una temperatura que oscila entre 25-40°C. La disponibilidad de nutrientes presente en la materia orgánica influye de manera proporcional en el crecimiento microbiano, es decir a mayor cantidad de nutrientes mayor desarrollo de microorganismos, por lo que alcanzaran un crecimiento óptimo teniendo alta proliferación de bacterias. Se debe tener en cuenta los factores externos como temperatura, humedad relativa y sustratos utilizados como nutrientes. La humedad relativa también es un factor influyente en el crecimiento de bacterias en un ambiente libre como los rellenos sanitarios, puesto que las bacterias crecen en humedades mayores a 35%, estos lugares no deben ser extremadamente húmedos debido a que el exceso de agua daña las células y ocasiona la muerte de los microorganismos. Al realizar una comparación de los resultados obtenidos en la presente investigación en relación a estudios previamente realizados en los cantones Ambato, Latacunga y Salcedo se puede observar que las diferentes concentraciones de microorganismos en el aire de sus respectivos rellenos fue mayor en la ciudad de Ambato con 5,87E+12

UFC/ml para desechos hospitalarios y $5,10E+12$ UFC/ml para desechos comunes, esto puede darse porque la temperatura promedio es de $17,5^{\circ}\text{C}$ siendo la más cercana a la temperatura óptima de crecimiento microbiano. Además se encontró similitud de bacterias en cada uno de los rellenos sanitarios como son: *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae* Tipo II, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri*.

4.2. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

4.2.1. Hipótesis de la Investigación

La realización de un estudio aerobiológico en el Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba permitirá identificar microorganismos patógenos y a su vez determinar el nivel de riesgo biológico al cual están expuestos los trabajadores de este sitio.

4.2.2. Hipótesis Estadística

4.2.2.1. Hipótesis Nula

El aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba **NO** presenta riesgo biológico para la salud de los trabajadores.

4.2.2.2. Hipótesis Alternativa

El aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba **SI** presenta riesgo biológico para la salud de los trabajadores.

En base a los resultados obtenidos en la investigación se acepta la hipótesis alternativa, rechazando la hipótesis nula, ya que mediante el estudio realizado se obtuvo la presencia de enterobacterias las cuales presentan un riesgo para la salud de los trabajadores del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Por medio del estudio realizado se identificó que los microorganismos suspendidos en el aire del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba (GADM Riobamba) en su mayoría son bacterias gramnegativas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (enterobacterias), identificando también bacterias grampositivas; de las cuales algunas son de alta peligrosidad con niveles de riesgo de 2 y 3 según el Real Decreto 664/1997; ocasionando enfermedades e infecciones al ser humano; estas bacterias se desarrollan adecuadamente a temperaturas entre 25 y 40°C por lo que son microorganismos mesófilos.
- Se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonia por mililitro de aire (UFC/ml) a través de la turbidez utilizando una curva de calibración denominada McFarland cuyo coeficiente de determinación fue 99.35%, se obtuvieron concentraciones entre $1.95 \times 10^{+8}$ UFC/ml y $2.78 \times 10^{+9}$ UFC/ml, dichas concentraciones no pueden ser evaluadas bajo criterios debido a que no se ha establecido normativas en nuestro país, estas concentraciones se dieron bajo las siguientes condiciones, temperatura de 16°C, humedad relativa del 60%, materia orgánica de 55% presente en el relleno.
- Se comparó dos métodos cuantitativos de determinación del crecimiento microbiano, un método indirecto de turbidimetría que utiliza la curva estándar de McFarland por medio de las absorbancias para estimar la cantidad de UFC/ml presentes en el medio, el cual muestra la presencia de microorganismos vivos y muertos sin poder distinguirlos; y un método directo de recuento en placa que muestra la presencia de microorganismos vivos permitiendo estimar las UFC/ml a través de una ecuación.

- Para el crecimiento de los microorganismos se utilizó dos medios de cultivo: Agar MacConkey que permite el crecimiento de bacterias gramnegativas e inhibe bacterias grampositivas debido a las sales biliares contenidas en el medio; y Tripteína Soya Agar (TSA) que es un medio no diferencial el cual por sus nutrientes es utilizado para el crecimiento de todo tipo de microorganismos.
- Se identificó la presencia de 103 bacterias patógenas, y por medio de las pruebas IMViC se determinaron que fueron grampositivas y gramnegativas; *Shigella flexneri* fue la bacteria que se aisló con mayor frecuencia en los medios de cultivo catalogada de alta peligrosidad por el Real Decreto 664/1997 con un nivel de riesgo de tipo 2, provocando enfermedades en los trabajadores o personas expuestas a esta, con la posibilidad de tratamiento; la bacteria *Shigella flexneri* soporta temperaturas de 7 a 45°C, por lo que es peligrosa para la salud humana ya que su crecimiento óptimo es a la temperatura corporal.

5.2. RECOMENDACIONES

- Elaborar un instructivo de seguridad para los trabajadores y personal del Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Riobamba (GADM Riobamba), para prevenir riesgos en la salud de los mismos, ya que las bacterias presentes en el aire del relleno tienen alta peligrosidad con un nivel de riesgo dos.
- Implementar mejores equipos de protección para los trabajadores del relleno y exigir el uso de los mismos en el área de trabajo, para evitar posibles complicaciones en la salud de los trabajadores.
- Realizar un análisis más minucioso mediante el secuenciamiento del gen 16s rDNA para la identificación específica de las bacterias encontradas en el Relleno Sanitario del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba, debido a que este gen se encuentra presente en todas las bacterias

y la conservación de algunas regiones es universal. Permite el diseño de pares de primers capaces de amplificar regiones específicas de prácticamente todos los genes 16s bacterianos.

BIBLIOGRAFÍA

Andache, E., & Castillo, P. (2016). *Elaboración de instructivos de seguridad industrial para puestos de trabajo basados en un estudio aerobiológico del Relleno sanitario de la Empresa Pública Municipal Gestión Integral de Desechos Sólidos Ambato*. (Tesis de pregrado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

Aravanlabs. (2017). Placas de Petri Tripton Soja Agar. Recuperado el 29 de marzo de 2018. Disponible en: <http://aravanlabs.com.uy/wp-content/uploads/2015/12/especificaciones-placas-de-petri-triptona-soja-agar.pdf>

Atlas, R., & Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y Microbiología ambiental* (Segunda ed.). Madrid, España: Pearson Education S.A. .

Ausina, V., & Moreno, S. (2006). *Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Bowen, C., Mardones, M., & Velasquez, L. (2014). Guia de laboratorio de microbiología. Recuperado el 15 de enero de 2018. Disponible en: <ftp://ftp.puce.edu.ec/Facultades/Medicina/CEAACES/PLAN%20CURRICULAR/C3.2%20PRACTICAS%20Y%20CORRESPONDENCIA%20CURRICULAR/GU%3%8DAS%20DE%20PRACTICA%20DE%20LAB/GUIA%20DE%20LABORATORIO%20DE%20MICROBIOLOG%3%8DA.pdf>

Camacho, A., Giles, M., Ortigón, A., Palao, M., Serrano, B., & Velázquez, O. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos* (Segunda ed.). México: Facultad de Química, UNAM.

Cano, S. (5 de abril de 2016). Métodos de análisis microbiológico. Normas ISO. UNE... Recuperado el 04 de abril de 2018. Disponible en: Analiza Calidad <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi148anmic.pdf>

Castro, C. (2009). *Evaluación aeromicológica en la calidad del aire de la zona aledaña al relleno sanitario Portillo Grande en el otoño del 2009*. (Tesis de postgrado), Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Disponible en:

http://www.lamolina.edu.pe/postgrado/cienciambientales/Tesis_Maestr%C3%ADa_Clara.%20Summary.%20pdf.pdf

Davin-Regli, A., & Pagès, J.-M. (2015). Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*, 6, 392. doi: Disponible en: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00392>

Decuadro, A., Ruiz, N., Martino, P., Sala, T., & Benech, A. (2015). Neumonía en gato causada por Enterobacter (Pantoea) agglomerans, reporte de un caso clínico. *SMVU*, 51(198), 26-31.

Díaz, M., Rodríguez, C., & Zhurbenko, C. (2010). Aspectos fundamentales sobre el género Enterococcus como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 48(2), 147-161.

García, A., & Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426-3431.

García, L. (2010). *Clinical Microbiology Procedures Handbook* (Tercera ed.). Washington, DC: ASM Press.

Garg, N., Garg, K., & Mukerji, K. (2010). *Laboratory Manual of Food Microbiology*. New Dehli, India: I. K. International Publishing House Pvt. Ltd.

Goldman, E., & Green, L. H. (2015). *Practical Handbook of Microbiology* (3 ed.). New York, Estados Unidos: Taylor & Francis Group.

González, E., & Campo, M. (2016). *Evaluación de bioaerosoles desde un relleno sanitario en el departamento del Atlántico*. (Tesis de pregrado), Universidad de la Costa, Barranquilla, Colombia. Disponible en: <http://repositorio.cuc.edu.co/xmlui/bitstream/handle/11323/945/1140864876%20-%201140870541%20%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Herrera, K., Cobar, O., De León, J., Rodas, A., Boburg, S., Quan, J., . . . Gudiel, H. (2012). Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la ciudad de Guatemala y Bárcenas, Villa Nueva. *Revista Científica - IIQB – Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas – Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 22(1), 30-38.

INEN. (2015). *Control microbiológico de los alimentos. Detección y recuento de Escherichia coli presuntiva por la técnica del número más probable*. Quito-Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización Disponible en: http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_1529-8.pdf

Jimenez, A. (2012). *Propuesta para el manejo de lixiviados generados en el relleno sanitario del cantón salcedo, provincia de Cotopaxi*. (Tesis de pregrado), Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/582>

Każmierczuk, M., & Bojanowicz, A. (2014). Bioaerosol concentration in the air surrounding municipal solid waste landfill. *Environmental Protection and Natural Resources*, 25(2), 17-25. doi: 10.2478/oszn-2014-0015

Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., Woods, G. L., Winn, W. C., Allen, S. D., & Janda, W. M. (2006). *Koneman Diagnostico Microbiologico* (6 ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Lopardo, H., Predari, S., & Vay, C. (2016). *Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: enterobacterias*. Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Microbiología.

López, L., & Torres, C. (2006). *Estudio cuantitativo de bacterias*. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste

MacFaddin, J. F. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* (3 ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Machado, V., Pardo, L., & Seija, V. (2006). Staphylococcus. In V. Seija (Ed.), *Temas de Bacteriología y Virología Médica* (pp. 257-271). Montevideo, Uruguay: Oficina del Libro FEFMUR.

MAE. (2010). *Plan Nacional de la Calidad del Aire*. Quito, Ecuador.

Mahon, C. R., Lehman, D. C., & Manuselis, G. (2015). *Textbook of Diagnostic Microbiology* (5 ed.). Missouri, Estados Unidos: Elsevier.

Merino, L., & Lösch, L. (2005). *Familia Enterobacteriaceae*. Corrientes, Argentina: Universidad Nacional del Nordeste - Facultad de Medicina - Microbiología e Inmunología

Ministerio del Ambiente. (11 de febrero de 2014). Programa 'PNGIDS' Ecuador. Recuperado el 07 de mayo de 2018. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/#>

Ministerio del Ambiente. (2015). Reforma del libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria. Recuperado el 02 de abril de 2018. Disponible en: <http://suia.ambiente.gob.ec/documents/10179/185880/ACUERDO+061+REFORMA+LIBRO+VI+TULSMA+-+R.O.316+04+DE+MAYO+2015.pdf/3c02e9cb-0074-4fb0-afbe-0626370fa108>

Ministerio del Ambiente. (2017). Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente libro VI. Recuperado el 02 de abril de 2018. Disponible en: <http://www.competencias.gob.ec/wp-content/uploads/2017/06/01NOR2003-TULSMA.pdf>

Miron, A. (2008). *Directrices para evaluar el riesgo biológico*. España: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT).

Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2016). *Microbiología médica*. Barcelona, España: Elsevier.

Muso, E., & Acosta, C. (2017). *Evaluación de bioaerosoles asociados en el sitio de disposición final de residuos sólidos en la Empresa Pública de Aseo y Gestión Ambiental del Cantón Latacunga (EPAGAL)*. (Tesis de pregrado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

O'Hara, C. M., Brenner, F. W., & Miller, J. M. (2000). Classification, Identification, and Clinical Significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4), 534-546.

Paniker, J., & Ananthanarayan, R. (2005). *Textbook of Microbiology* (7 ed.). Hyderabad, India: Orient Blackswan Pvt. Ltd.

- Pereira, A. M. V., Jiménez, M. R. M., De La Cruz, Y. P. S., & Caicedo, Y. C. (2009). Emisiones Atmosféricas de Origen Biológico: Generalidades, impactos asociados y medidas de control de aerosoles Fungi. *Revista Retakvn*, 2(1), 2027-2162.
- Perilla, M. J., Ajello, G., Bopp, C., Elliot, J., Facklam, R., Knapp, J. S., . . . Scott, D. (2004). Manual de Laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la Salud Pública en el mundo en desarrollo. *Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Salmonella serotipo Typhi y Vibrio cholerae*. Atlanta, Georgia: OMS, 49-67.
- Prado, V. (1975). Salmonellosis, aspectos clinicos y epidemiologicos *Revista Chilena de Pediatría*, 46(3), 264-267.
- Red Nacional de Protección de Alimentos. (2015). Enfermedades transmitidas por alimentos Ficha Técnica N°6: Shigelosis. Recuperado el 16 de febrero de 2018. Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Publicaciones/Shigelosis.pdf>
- Redondo, J., Maseda, E., Riquelme, A., Alday, E., Uña, E., & Criado, A. (2005). Hafnia alvei: una causa infrecuente de neumonía grave en la Unidad de Reanimación. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*, 52(6), 359-362.
- Romero, R. (2007). *Microbiología y parasitología humana* Ciudad de México, Mexico: Editorial Médica Panamericana.
- Solís, D., & Vásconez, I. (2017). *Desarrollo de instructivos de Seguridad e Higiene Industrial a partir del análisis aerobiológico del Relleno Sanitario de la Empresa Pública Municipal Gestión Integral de Desechos Sólidos del Cantón Salcedo*. (Tesis de pregrado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25580/1/BQ%20125.pdf>
- Solíz, M. (2015). Ecología política y geografía crítica de la basura en el Ecuador. *Letras Verdes. Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales*(17), 4-28. doi: <https://doi.org/10.17141/letrasverdes.17.2015.1259>
- Sutton, S. (2011). Determination of Inoculum for Microbiological Testing. *Journal of GXP Compliance*, 15(3), 49-53.

- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología* (9 ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Turgeon, M. (2011). *Linne & Ringsrud's Clinical Laboratory Science: The Basics and Routine Techniques*. Estados Unidos: Mosby.
- Universidad de Buenos Aires. (2010). *Microbiología e Inmunología*: Departamento de Química Biológica.
- Vargas, K. (2011). Indicadores microbiológicos de calidad ambiental del botadero La Muyuna. Recuperado el 05 de marzo de 2018. Disponible en: http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/32857008/INDICADORES_MICROBIOLOGICOS_DE_CALIDAD_AMBIENTAL_DEL_BOTADERO_LA_MOYUNA.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1499134409&Signature=nOkpQyOCMebPFsItxoR1%2B7h9GQI%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DINDICADORES_MICROBIOLOGICOS_DE_CALIDAD_A.pdf
- Vashist, H., Sharma, D., & Gupta, A. (2013). A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Innovare Journal of Life Science*, 1(1), 1-7.
- Velázquez, O. (1997, 24 de enero de 2018). Los segregados de basura y los factores de riesgo a la salud. Recuperado el 07 de marzo de 2018. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/acodal/vii.pdf>
- Vélez-Pereira, A., & Camargo, Y. (2009). *Evaluación de la concentración de bioaerosoles fúngi asociados al relleno sanitario palangana, Santa Marta-Colombia*. Santa Marta, Colombia: Grupo de Investigación en Modelación de Sistemas Ambientales- GIMSA.
- Vorquímica. (1981). *Medios de cultivo para microbiología*. Barcelona, España: Ratlles.
- Zeny, R. (2007). *Determinación y diferenciación de Pantoea agglomerans y patógenos por medio de perfiles de ácidos grasos a partir de aislamientos de 5 variedades de semillas de Allium cepa L.* . (Tesis de postgrado), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

ANEXOS

ANEXO A. REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

Tabla A1: Infusión Cerebro Corazón

Componentes	Cantidad
Infusión de corazón	5.00 (g)
Infusión de cerebro	12.50 (g)
Glucosa	2.00 (g)
Proteosa peptona	10.00 (g)
Na ₂ HPO ₄	2.50 (g)
NaCl	5.00 (g)
Agua destilada	1000.00 (ml)

Tabla A2: Tripteína Soya Agar

Componentes	Cantidad
Peptona de soya	5.00 (g)
NaCl	5.00 (g)
Tripteína	15.00 (g)
Agar	15.00 (g)
Agua destilada	1000,00 (ml)

Tabla A3: Agar MacConkey

Componentes	Cantidad
Peptona de carne	3.00 (g)
Peptona de caseína	17.00 (g)
Agar-Agar	13.50 (g)
Lactosa	10.00 (g)
NaCl	5.00 (g)
Sales biliares	1.50 (g)
Cristal violeta	0.001 (g)
Rojo neutro	0.03 (g)
Agua destilada	1000.00 (ml)

Tabla A4: Medio RM-VP (Rojo de Metilo y Voges-Proskauer)

Componentes	Cantidad
Polipeptona	7.00 (g)
K ₂ HPO ₄	5.00 (g)
Dextrosa	5.00 (g)
Agua destilada	1000.00 (ml)

Tabla A5: Agar Citrato de Simmons

Componentes	Cantidad
Cloruro de sodio	5.00 (g)
K ₂ HPO ₄	1.00 (g)
NH ₄ H ₂ PO ₄	1.00 (g)
Citrato de sodio	2.00 (g)
Agar-Agar	12.00 (g)
MgSO ₄	0.20 (g)

Azul de bromotimol	0,08 (g)
Agua destilada	1000.00 (ml)

Reactivo de Kovac's

En 75 ml de alcohol isoamílico puro se disuelve 5 gramos de p-dimetilaminobenzaldehido, manteniendo en baño maría. Luego, en una sorbona añadir lentamente 25 ml de ácido clorhídrico (HCl) concentrado y guardar en un frasco ambar en el congelador. La receta es para 100 ml de reactivo de Kovac's.

Reactivos de Voges-Proskauer

a) Solución de α -naftol al 5%

En 100 ml de alcohol etílico absoluto se disuelve 5 gramos de α -naftol

b) Solución de KOH al 40%

En 100 ml de agua destilada se disuelve 40 gramos de KOH

ANEXO B. TABLAS DE RESULTADOS

Tabla B1: Curva de calibración de McFarland

Número	Absorbancia	Concentración (UFC/ml)
1	0.285	3.00×10^8
2	0.498	6.00×10^8
3	0.634	9.00×10^8
4	0.832	1.20×10^9
5	0.996	1.50×10^9
6	1.141	1.80×10^9
7	1.270	2.10×10^9
8	1.400	2.40×10^9
9	1.538	2.70×10^9
10	1.651	3.00×10^9

Tabla B2: Código binario para crecimiento microbiano en medio Tripteína Soya Agar

Tratamiento	Réplica 1	Réplica 2
a1b1c1	1	1
a1b1c2	1	0
a1b1c3	1	1
a1b1c4	1	1
a1b1c5	0	0
a1b2c1	1	1
a1b2c2	1	0
a1b2c3	1	1
a1b2c4	1	1
a1b2c5	1	1
a2b1c1	1	1
a2b1c2	1	1
a2b1c3	1	1
a2b1c4	1	1
a2b1c5	0	1
a2b2c1	0	0
a2b2c2	1	1
a2b2c3	1	1
a2b2c4	1	1
a2b2c5	1	1

Nota: 1 indica crecimiento microbiano, por el contrario será 0

Tabla B3: Código binario para crecimiento bacteriano en medio Agar MacConkey

Tratamiento	Réplica 1	Réplica 2
a1b1c1	0	0
a1b1c2	0	0
a1b1c3	0	0
a1b1c4	0	0
a1b1c5	0	0
a1b2c1	0	0

a1b2c2	0	0
a1b2c3	0	0
a1b2c4	0	0
a1b2c5	0	0
a2b1c1	1	1
a2b1c2	1	0
a2b1c3	1	1
a2b1c4	0	0
a2b1c5	0	0
a2b2c1	0	0
a2b2c2	0	0
a2b2c3	0	0
a2b2c4	0	0
a2b2c5	0	0

Nota: 1 indica crecimiento microbiano, por el contrario será 0

Tabla B4: Código asignado a las colonias bacterianas aisladas en los medios de cultivo Tripteína Soya Agar y Agar MacConkey

Tratamiento	Dilución	Réplica	Número de colonia	Medio de cultivo	Código de colonia
a1b1c1	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s1
a1b1c1	1 ⁻⁴	1	2	Tripteína Soya Agar	s2
a1b1c1	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s3
a1b1c1	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s4
a1b1c1	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s5
a1b1c1	1 ⁻⁶	2	2	Tripteína Soya Agar	s6
a1b1c2	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s7
a1b1c2	1 ⁻⁴	1	2	Tripteína Soya Agar	s8
a1b1c2	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s9
a1b1c3	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s10
a1b1c3	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s11
a1b1c3	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s12
a1b1c3	1 ⁻⁵	2	2	Tripteína Soya Agar	s13
a1b1c3	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s14
a1b1c4	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s15
a1b1c4	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s16
a1b1c4	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s17
a1b1c4	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s18
a1b2c1	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s19
a1b2c1	1 ⁻⁴	2	1	Tripteína Soya Agar	s20
a1b2c1	1 ⁻⁴	2	2	Tripteína Soya Agar	s21
a1b2c1	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s22
a1b2c2	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s23
a1b2c2	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s24
a1b2c3	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s25
a1b2c3	1 ⁻⁴	1	2	Tripteína Soya Agar	s26
a1b2c3	1 ⁻⁴	1	3	Tripteína Soya Agar	s27
a1b2c3	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s28
a1b2c3	1 ⁻⁵	1	2	Tripteína Soya Agar	s29
a1b2c3	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s30

a1b2c3	1 ⁻⁴	2	1	Tripteína Soya Agar	s31
a1b2c3	1 ⁻⁴	2	2	Tripteína Soya Agar	s32
a1b2c3	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s33
a1b2c3	1 ⁻⁵	2	2	Tripteína Soya Agar	s34
a1b2c3	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s35
a1b2c4	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s36
a1b2c4	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s37
a1b2c4	1 ⁻⁴	2	1	Tripteína Soya Agar	s38
a1b2c5	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s39
a1b2c5	1 ⁻⁵	1	2	Tripteína Soya Agar	s40
a1b2c5	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s41
a1b2c5	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s42
a2b1c1	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s43
a2b1c1	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s44
a2b1c1	1 ⁻⁵	2	2	Tripteína Soya Agar	s45
a2b1c1	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s46
a2b1c2	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s47
a2b1c2	1 ⁻⁵	1	2	Tripteína Soya Agar	s48
a2b1c2	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s49
a2b1c2	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s50
a2b1c2	1 ⁻⁵	2	2	Tripteína Soya Agar	s51
a2b1c2	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s52
a2b1c3	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s53
a2b1c3	1 ⁻⁵	1	2	Tripteína Soya Agar	s54
a2b1c3	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s55
a2b1c3	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s56
a2b1c3	1 ⁻⁶	2	2	Tripteína Soya Agar	s57
a2b1c4	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s58
a2b1c4	1 ⁻⁴	1	2	Tripteína Soya Agar	s59
a2b1c4	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s60
a2b1c4	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s61
a2b1c4	1 ⁻⁴	2	1	Tripteína Soya Agar	s62
a2b1c4	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s63
a2b1c5	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s64
a2b1c5	1 ⁻⁵	2	2	Tripteína Soya Agar	s65
a2b1c5	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s66
a2b1c5	1 ⁻⁶	2	2	Tripteína Soya Agar	s67
a2b2c2	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s68
a2b2c2	1 ⁻⁴	1	2	Tripteína Soya Agar	s69
a2b2c2	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s70
a2b2c2	1 ⁻⁵	1	2	Tripteína Soya Agar	s71
a2b2c2	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s72
a2b2c2	1 ⁻⁶	1	2	Tripteína Soya Agar	s73
a2b2c2	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s74
a2b2c2	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s75
a2b2c3	1 ⁻⁴	1	1	Tripteína Soya Agar	s76
a2b2c3	1 ⁻⁴	1	2	Tripteína Soya Agar	s77
a2b2c3	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s78
a2b2c3	1 ⁻⁵	1	2	Tripteína Soya Agar	s79
a2b2c3	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s80
a2b2c3	1 ⁻⁴	2	1	Tripteína Soya Agar	s81
a2b2c3	1 ⁻⁴	2	2	Tripteína Soya Agar	s82

a2b2c3	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s83
a2b2c3	1 ⁻⁵	2	2	Tripteína Soya Agar	s84
a2b2c3	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s85
a2b2c4	1 ⁻⁵	1	1	Tripteína Soya Agar	s86
a2b2c4	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s87
a2b2c4	1 ⁻⁴	2	1	Tripteína Soya Agar	s88
a2b2c4	1 ⁻⁴	2	2	Tripteína Soya Agar	s89
a2b2c4	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s90
a2b2c5	1 ⁻⁶	1	1	Tripteína Soya Agar	s91
a2b2c5	1 ⁻⁵	2	1	Tripteína Soya Agar	s92
a2b2c5	1 ⁻⁵	2	2	Tripteína Soya Agar	s93
a2b2c5	1 ⁻⁶	2	1	Tripteína Soya Agar	s94
a2b1c1	1 ⁻²	1	1	Agar MacConkey	k1
a2b1c1	1 ⁻³	1	1	Agar MacConkey	k2
a2b1c1	1 ⁻²	2	1	Agar MacConkey	k3
a2b1c1	1 ⁻³	2	1	Agar MacConkey	k4
a2b1c2	1 ⁻²	1	1	Agar MacConkey	k5
a2b1c2	1 ⁻³	1	1	Agar MacConkey	k6
a2b1c3	1 ⁻²	1	1	Agar MacConkey	k7
a2b1c3	1 ⁻³	1	1	Agar MacConkey	k8
a2b1c3	1 ⁻³	2	1	Agar MacConkey	k9

Tabla B5: Resultados tipificados de las pruebas bioquímicas IMViC

Microorganismo	Indol	Rojo de Metilo	Voges Proskauer	Citrato de Simmons
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	+	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	-	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	(+/-)	(+/-)
<i>Pantoea agglomerans</i>	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(+/-)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	+	+
<i>Hafnia alvei</i>	-	(+/-)	+	-
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+
<i>Citrobacter koseri</i>	+	+	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	-	+

Fuente: (Andache & Castillo, 2016); (INEN, 2015)

Tabla B6: Resultados de pruebas bioquímicas IMViC en bacterias aisladas del Relleno Sanitario del GADM de Riobamba

Código de Colonia	Indol	Rojo de metilo	Voges Proskauer	Citrato de Simmons	Microorganismo
s1	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s2	-	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>

s3	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s4	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s5	-	+	-	+	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>
s6	-	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
s7	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s8	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s9	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s10	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s11	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s12	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s13	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s14	-	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
s15	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s16	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s17	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s18	-	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
s19	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s20	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s21	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s22	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s23	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s24	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s25	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s26	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s27	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s28	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s29	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>
s30	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s31	-	+	+	+	<i>Proteus mirabilis</i>
s32	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s33	-	+	-	+	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>
s34	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s35	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s36	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s37	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s38	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s39	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s40	-	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
s41	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s42	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s43	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
s44	+	+	-	+	<i>Citrobacter koseri</i> / <i>Providencia</i>
s45	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
s46	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
s47	-	+	-	+	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>
s48	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s49	+	-	+	-	N.I.
s50	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s51	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s52	-	+	-	+	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>
s53	-	+	-	+	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>
s54	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s55	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
s56	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s57	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s58	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s59	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II

s60	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s61	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s62	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s63	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s64	-	+	+	+	<i>Proteus mirabilis</i>
s65	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s66	-	+	-	+	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>
s67	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s68	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s69	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s70	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s71	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s72	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s73	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s74	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s75	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s76	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s77	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>
s78	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s79	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s80	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>
s81	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s82	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s83	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s84	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>
s85	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s86	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s87	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s88	-	+	-	-	<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>
s89	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
s90	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
s91	-	-	+	-	<i>Hafnia alvei</i>
s92	-	+	-	+	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>
s93	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>
s94	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
k1	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
k2	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
k3	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
k4	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
k5	-	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
k6	-	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II
k7	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
k8	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
k9	-	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>

Nota: N.I. indica colonias bacterianas no identificadas

Tabla B7: Número de microorganismos aislados según especie

Microorganismo	Número de bacterias aisladas
<i>Shigella flexneri</i> / <i>Enterococcus faecalis</i>	35
<i>Enterobacter cloacae</i> Tipo II	16
<i>Pantoea agglomerans</i>	15
<i>Hafnia alvei</i>	8
<i>Salmonella typhi</i> / <i>Citrobacter freundii</i>	7

<i>Staphylococcus aureus</i>	7
<i>Escherichia coli</i>	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>	5
<i>Proteus mirabilis</i>	2
N.I.	1
<i>Citrobacter koseri</i> / <i>Providencia</i>	1
Total	103

Tabla B8: Concentración de microorganismos (UFC/ml) obtenidos por medio de turbidimetría

Tratamientos	Concentración de microorganismos			
	Absorbancia Réplica 1	Absorbancia Réplica 2	UFC/ml Réplica 1	UFC/ml Réplica 2
a1b1c1	0.724	0.865	1.06x10 ⁺⁹	1.34x10 ⁺⁹
a1b1c2	0.502	0.805	6.13x10 ⁺⁸	1.22x10 ⁺⁹
a1b1c3	1.349	0.293	2.31x10 ⁺⁹	1.95x10 ⁺⁸
a1b1c4	0.334	0.405	2.77x10 ⁺⁸	4.19x10 ⁺⁸
a1b1c5	1.501	1.340	2.61x10 ⁺⁹	2.29x10 ⁺⁹
a1b2c1	0.861	0.756	1.33x10 ⁺⁹	1.12x10 ⁺⁹
a1b2c2	1.059	0.947	1.73x10 ⁺⁹	1.50x10 ⁺⁹
a1b2c3	0.966	1.000	1.54x10 ⁺⁹	1.61x10 ⁺⁹
a1b2c4	0.628	0.461	8.65x10 ⁺⁸	5.31x10 ⁺⁸
a1b2c5	0.508	0.567	6.25x10 ⁺⁸	7.43x10 ⁺⁸
a2b1c1	0.932	1.270	1.47x10 ⁺⁹	2.15x10 ⁺⁹
a2b1c2	0.630	0.567	8.69x10 ⁺⁸	7.43x10 ⁺⁸
a2b1c3	0.309	0.471	2.27x10 ⁺⁸	5.51x10 ⁺⁸
a2b1c4	0.855	1.358	1.32x10 ⁺⁹	2.32x10 ⁺⁹
a2b1c5	1.221	1.587	2.05x10 ⁺⁹	2.78x10 ⁺⁹
a2b2c1	1.001	1.099	1.61x10 ⁺⁹	1.81x10 ⁺⁹
a2b2c2	0.575	0.869	7.59x10 ⁺⁸	1.35x10 ⁺⁹
a2b2c3	0.756	0.419	1.12x10 ⁺⁹	4.47x10 ⁺⁸
a2b2c4	0.625	0.485	8.59x10 ⁺⁸	5.79x10 ⁺⁸
a2b2c5	0.889	0.949	1.39x10 ⁺⁹	1.51x10 ⁺⁹

Nota: Los datos de absorbancia fueron obtenidos a una longitud de onda de 600 nanómetros con la ayuda de un espectrofotómetro marca HACH.

Tabla B9: Concentración de microorganismos obtenidos por el método de conteo en placa en medio de cultivo Tripteína Soya Agar

Variables	Tratamientos	Dilución	Número de Colonias	Concentración (UFC/ml)	
Desechos Hospitalarios 10:00	a1b1c1	1 ⁻⁴	90	9.00x10 ⁺⁶	
		Replica 1	1 ⁻⁵	29	2.90x10 ⁺⁷
		1 ⁻⁶	3	3.00x10 ⁺⁷	
Lunes	Replica 2	1 ⁻⁴	Incontable	Incontable	
		1 ⁻⁵	242	2.42x10 ⁺⁸	
		1 ⁻⁶	17	1.70x10 ⁺⁸	
Desechos Hospitalarios	a1b1c2	1 ⁻⁴	68	6.80x10 ⁺⁶	
		Replica 1	1 ⁻⁵	16	1.60x10 ⁺⁷
		1 ⁻⁶	0	0	

10:00			1^{-4}	0	0
Martes		Replica 2	1^{-5}	0	0
			1^{-6}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-4}	89	$8.90 \times 10^{+6}$
Hospitalarios	a1b1c3		1^{-5}	26	$2.60 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	0	0
10:00			1^{-4}	Incontable	Incontable
Miércoles		Replica 2	1^{-5}	106	$1.06 \times 10^{+8}$
			1^{-6}	10	$1.00 \times 10^{+8}$
Desechos		Replica 1	1^{-4}	81	$8.10 \times 10^{+6}$
Hospitalarios	a1b1c4		1^{-5}	29	$2.90 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	0	0
10:00			1^{-4}	164	$1.64 \times 10^{+7}$
Jueves		Replica 2	1^{-5}	65	$6.50 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	38	$3.80 \times 10^{+8}$
Desechos		Replica 1	1^{-4}	0	0
Hospitalarios	a1b1c5		1^{-5}	0	0
			1^{-6}	0	0
10:00			1^{-4}	0	0
Viernes		Replica 2	1^{-5}	0	0
			1^{-6}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-4}	155	$1.55 \times 10^{+7}$
Hospitalarios	a1b2c1		1^{-5}	50	$5.00 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	0	0
15:00			1^{-4}	13	$1.30 \times 10^{+6}$
Lunes		Replica 2	1^{-5}	1	$1.00 \times 10^{+6}$
			1^{-6}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-4}	204	$2.04 \times 10^{+7}$
Hospitalarios	a1b2c2		1^{-5}	99	$9.90 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	34	$3.40 \times 10^{+8}$
15:00			1^{-4}	0	0
Martes		Replica 2	1^{-5}	0	0
			1^{-6}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-4}	90	$9.00 \times 10^{+6}$
Hospitalarios	a1b2c3		1^{-5}	58	$5.80 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	7	$7.00 \times 10^{+7}$
15:00			1^{-4}	79	$7.90 \times 10^{+6}$
Miércoles		Replica 2	1^{-5}	41	$4.10 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	6	$6.00 \times 10^{+7}$
Desechos		Replica 1	1^{-4}	179	$1.79 \times 10^{+7}$
Hospitalarios	a1b2c4		1^{-5}	90	$9.00 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	45	$4.50 \times 10^{+8}$
15:00			1^{-4}	31	$3.10 \times 10^{+6}$
Jueves		Replica 2	1^{-5}	0	0
			1^{-6}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-4}	136	$1.36 \times 10^{+7}$
Hospitalarios	a1b2c5		1^{-5}	34	$3.40 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	0	0
15:00			1^{-4}	142	$1.42 \times 10^{+7}$
Viernes		Replica 2	1^{-5}	69	$6.90 \times 10^{+7}$
			1^{-6}	24	$2.40 \times 10^{+8}$
			1^{-4}	Incontable	Incontable

Desechos Comunes	a2b1c1	Replica 1	1 ⁻⁵	280	2.80x10 ⁺⁸
10:00			1 ⁻⁶	68	6.80x10 ⁺⁸
Lunes		Replica 2	1 ⁻⁴	272	2.72x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁵	84	8.40x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁶	35	3.50x10 ⁺⁸
Desechos Comunes	a2b1c2	Replica 1	1 ⁻⁴	107	1.07x10 ⁺⁷
10:00			1 ⁻⁵	54	5.40x10 ⁺⁷
Martes		Replica 2	1 ⁻⁶	18	1.80x10 ⁺⁸
			1 ⁻⁴	Incontable	Incontable
			1 ⁻⁵	100	1.00x10 ⁺⁸
			1 ⁻⁶	12	1.20x10 ⁺⁸
Desechos Comunes	a2b1c3	Replica 1	1 ⁻⁴	207	2.07x10 ⁺⁷
10:00			1 ⁻⁵	63	6.30x10 ⁺⁷
Miércoles		Replica 2	1 ⁻⁶	20	2.00x10 ⁺⁸
			1 ⁻⁴	Incontable	Incontable
			1 ⁻⁵	210	2.10x10 ⁺⁸
			1 ⁻⁶	58	5.80x10 ⁺⁸
Desechos Comunes	a2b1c4	Replica 1	1 ⁻⁴	91	9.10x10 ⁺⁶
10:00			1 ⁻⁵	19	1.90x10 ⁺⁷
Jueves		Replica 2	1 ⁻⁶	1	1.00x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁴	74	7.40x10 ⁺⁶
			1 ⁻⁵	28	2.80x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁶	0	0
Desechos Comunes	a2b1c5	Replica 1	1 ⁻⁴	0	0
10:00			1 ⁻⁵	0	0
Viernes		Replica 2	1 ⁻⁶	0	0
			1 ⁻⁴	181	1.81x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁵	92	9.20x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁶	42	4.20x10 ⁺⁸
Desechos Comunes	a2b2c1	Replica 1	1 ⁻⁴	0	0
15:00			1 ⁻⁵	0	0
Lunes		Replica 2	1 ⁻⁶	0	0
			1 ⁻⁴	0	0
			1 ⁻⁵	0	0
			1 ⁻⁶	0	0
Desechos Comunes	a2b2c2	Replica 1	1 ⁻⁴	101	1.01x10 ⁺⁷
15:00			1 ⁻⁵	75	7.50x10 ⁺⁷
Martes		Replica 2	1 ⁻⁶	11	1.10x10 ⁺⁸
			1 ⁻⁴	257	2.57x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁵	100	1.00x10 ⁺⁸
			1 ⁻⁶	50	5.00x10 ⁺⁸
Desechos Comunes	a2b2c3	Replica 1	1 ⁻⁴	99	9.90x10 ⁺⁶
15:00			1 ⁻⁵	54	5.40x10 ⁺⁷
Miércoles		Replica 2	1 ⁻⁶	1	1.00x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁴	88	8.80x10 ⁺⁶
			1 ⁻⁵	46	4.60x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁶	13	1.30x10 ⁺⁸
Desechos Comunes	a2b2c4	Replica 1	1 ⁻⁴	190	1.90x10 ⁺⁷
15:00			1 ⁻⁵	76	7.60x10 ⁺⁷
Jueves		Replica 2	1 ⁻⁶	18	1.80x10 ⁺⁸
			1 ⁻⁴	86	8.60x10 ⁺⁶
			1 ⁻⁵	39	3.90x10 ⁺⁷

			1 ⁻⁶	0	0
			1 ⁻⁴	Incontable	Incontable
Desechos	a2b2c5	Replica 1	1 ⁻⁵	266	2.66x10 ⁺⁸
Comunes			1 ⁻⁶	45	4.50x10 ⁺⁸
15:00			1 ⁻⁴	150	1.50x10 ⁺⁷
Viernes		Replica 2	1 ⁻⁵	70	7.00x10 ⁺⁷
			1 ⁻⁶	20	2.00x10 ⁺⁸

Tabla B10: Concentración de microorganismos obtenidos por el método de conteo en placa en medio de cultivo Agar MacConkey

Variables	Tratamientos	Dilución	Número de Colonias	de	Concentración (UFC/ml)
Desechos	a1b1c1	Replica 1	1 ⁻¹	0	0
Hospitalarios			1 ⁻²	0	0
10:00			1 ⁻³	0	0
Lunes		Replica 2	1 ⁻¹	0	0
			1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
Desechos	a1b1c2	Replica 1	1 ⁻¹	0	0
Hospitalarios			1 ⁻²	0	0
10:00			1 ⁻³	0	0
Martes		Replica 2	1 ⁻¹	0	0
			1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
Desechos	a1b1c3	Replica 1	1 ⁻¹	0	0
Hospitalarios			1 ⁻²	0	0
10:00			1 ⁻³	0	0
Miércoles		Replica 2	1 ⁻¹	0	0
			1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
Desechos	a1b1c4	Replica 1	1 ⁻¹	0	0
Hospitalarios			1 ⁻²	0	0
10:00			1 ⁻³	0	0
Jueves		Replica 2	1 ⁻¹	0	0
			1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
Desechos	a1b1c5	Replica 1	1 ⁻¹	0	0
Hospitalarios			1 ⁻²	0	0
10:00			1 ⁻³	0	0
Viernes		Replica 2	1 ⁻¹	0	0
			1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
Desechos	a1b2c1	Replica 1	1 ⁻¹	0	0
Hospitalarios			1 ⁻²	0	0
15:00			1 ⁻³	0	0
Lunes		Replica 2	1 ⁻¹	0	0
			1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
Desechos	a1b2c2	Replica 1	1 ⁻¹	0	0
Hospitalarios			1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0

15:00			1^{-1}	0	0
Martes		Replica 2	1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-1}	0	0
Hospitalarios	a1b2c3		1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
15:00		Replica 2	1^{-1}	0	0
Miércoles			1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-1}	0	0
Hospitalarios	a1b2c4		1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
15:00		Replica 2	1^{-1}	0	0
Jueves			1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-1}	0	0
Hospitalarios	a1b2c5		1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
15:00		Replica 2	1^{-1}	0	0
Viernes			1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-1}	172	$1.72 \times 10^{+4}$
Comunes	a2b1c1		1^{-2}	48	$4.80 \times 10^{+4}$
			1^{-3}	14	$1.40 \times 10^{+5}$
10:00		Replica 2	1^{-1}	215	$2.15 \times 10^{+4}$
Lunes			1^{-2}	89	$8.90 \times 10^{+4}$
			1^{-3}	9	$9.00 \times 10^{+4}$
Desechos		Replica 1	1^{-1}	118	$1.18 \times 10^{+4}$
Comunes	a2b1c2		1^{-2}	52	$5.20 \times 10^{+4}$
			1^{-3}	15	$1.50 \times 10^{+5}$
10:00		Replica 2	1^{-1}	0	0
Martes			1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-1}	153	$1.53 \times 10^{+4}$
Comunes	a2b1c3		1^{-2}	36	$3.60 \times 10^{+4}$
			1^{-3}	13	$1.30 \times 10^{+5}$
10:00		Replica 2	1^{-1}	278	$2.78 \times 10^{+4}$
Miércoles			1^{-2}	180	$1.80 \times 10^{+5}$
			1^{-3}	51	$5.10 \times 10^{+5}$
Desechos		Replica 1	1^{-1}	0	0
Comunes	a2b1c4		1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
10:00		Replica 2	1^{-1}	0	0
Jueves			1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
Desechos		Replica 1	1^{-1}	0	0
Comunes	a2b1c5		1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
10:00		Replica 2	1^{-1}	0	0
Viernes			1^{-2}	0	0
			1^{-3}	0	0
			1^{-1}	0	0

Desechos	a2b2c1	Replica 1	1 ⁻²	0	0
Comunes			1 ⁻³	0	0
15:00			1 ⁻¹	0	0
Lunes		Replica 2	1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
			1 ⁻¹	0	0
Desechos	a2b2c2	Replica 1	1 ⁻²	0	0
Comunes			1 ⁻³	0	0
15:00			1 ⁻¹	0	0
Martes		Replica 2	1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
			1 ⁻¹	0	0
Desechos	a2b2c3	Replica 1	1 ⁻²	0	0
Comunes			1 ⁻³	0	0
15:00			1 ⁻¹	0	0
Miércoles		Replica 2	1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
			1 ⁻¹	0	0
Desechos	a2b2c4	Replica 1	1 ⁻²	0	0
Comunes			1 ⁻³	0	0
15:00			1 ⁻¹	0	0
Jueves		Replica 2	1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
			1 ⁻¹	0	0
Desechos	a2b2c5	Replica 1	1 ⁻²	0	0
Comunes			1 ⁻³	0	0
15:00			1 ⁻¹	0	0
Viernes		Replica 2	1 ⁻²	0	0
			1 ⁻³	0	0
			1 ⁻¹	0	0

ANEXO C. TABLAS DISEÑO EXPERIMENTAL

Tabla C1: ANOVA (Análisis de varianza)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
UFC/ml	40	0.77	0.53	37.52

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.3919E+19	20	6.95926E+17	3.18	0.0073
Replicas	8.2369E+15	1	8.23690E+15	0.04	0.8481
Factor A	9.8605E+16	1	9.86049E+16	0.45	0.5099
Factor B	3.5834E+17	1	3.58345E+17	1.64	0.2158
Factor C	4.1298E+18	4	1.03246E+18	4.72	0.0081
A*B	1.3294E+17	1	1.32941E+17	0.61	0.4450
A*C	3.4772E+18	4	8.69311E+17	3.98	0.0165
B*C	4.3611E+18	4	1.09027E+18	4.99	0.0064
A*B*C	1.3522E+18	4	3.38054E+17	1.55	0.2290
Error	4.1524E+18	19	2.18545E+17		
Total	1.8071E+19	39			

Tabla C2: Factor A (Zonas de muestreo) Prueba de Tukey

Zonas de muestreo	Medias UFC/ml	N	E.E.	
a1	1.1964E+09	20	1,0453E+08	A
a2	1.2957E+09	20	1,0453E+08	A

Tabla C3: Factor B (Horas de muestreo) Prueba de Tukey

Horas de muestreo	Medias UFC/ml	N	E.E.	
b2	1.1514E+09	20	1.0453E+08	A
b1	1.3407E+09	20	1.0453E+08	A

Tabla C4: Factor C (Días de muestreo) Prueba de Tukey

Días de muestreo	Medias UFC/ml	N	E.E.		
c4	8.9625E+08	8	1.6528E+08	A	
c3	1.0000E+09	8	1.6528E+08	A	
c2	1.0980E+09	8	1.6528E+08	A	B
c1	1.4863E+09	8	1.6528E+08	A	B
c5	1.7498E+09	8	1.6528E+08		B

Tabla C5: Interacción AxB Prueba de Tukey

Zonas de muestreo	Horas de muestreo	Medias UFC/ml	N	E.E.	
a2	b2	1.1434E+09	10	1.4783E+08	A
a1	b2	1.1594E+09	10	1.4783E+08	A
a1	b1	1.2334E+09	10	1.4783E+08	A
a2	b1	1.4480E+09	10	1.4783E+08	A

Tabla C6: Interacción AxC Prueba de Tukey

Zonas de muestreo	Días de muestreo	Medias UFC/ml	n	E.E.			
a1	c4	5.2300E+08	4	2.3374E+08	A		
a2	c3	5.8625E+08	4	2.3374E+08	A	B	
a2	c2	9.3025E+08	4	2.3374E+08	A	B	C
a1	c1	1.2125E+09	4	2.3374E+08	A	B	C
a1	c2	1.2658E+09	4	2.3374E+08	A	B	C
a2	c4	1.2695E+09	4	2.3374E+08	A	B	C
a1	c3	1.4138E+09	4	2.3374E+08	A	B	C
a1	c5	1.5670E+09	4	2.3374E+08	A	B	C
a2	c1	1.7600E+09	4	2.3374E+08		B	C
a2	c5	1.9325E+09	4	2.3374E+08			C

Tabla C7: Interacción BxC Prueba de Tukey

Horas de muestreo	Días de muestreo	Medias UFC/ml	n	E.E.		
b2	c4	7.0850E+08	4	2.3374E+08	A	
b1	c3	8.2075E+08	4	2.3374E+08	A	
b1	c2	8.6125E+08	4	2.3374E+08	A	
b2	c5	1.0670E+09	4	2.3374E+08	A	
b1	c4	1.0840E+09	4	2.3374E+08	A	
b2	c3	1.1793E+09	4	2.3374E+08	A	
b2	c2	1.3348E+09	4	2.3374E+08	A	B
b2	c1	1.4675E+09	4	2.3374E+08	A	B
b1	c1	1.5050E+09	4	2.3374E+08	A	B
b1	c5	2.4325E+09	4	2.3374E+08		B

Tabla C8: Interacción AxBxC Prueba de Tukey

Zonas de muestreo	Horas de muestreo	Días de muestreo	Medias UFC/ml	N	E.E.		
a1	b1	c4	3.4800E+08	2	3.3056E+08	A	
a2	b1	c3	3.8900E+08	2	3.3056E+08	A	
a1	b2	c5	6.8400E+08	2	3.3056E+08	A	B
a1	b2	c4	6.9800E+08	2	3.3056E+08	A	B
a2	b2	c4	7.1900E+08	2	3.3056E+08	A	B
a2	b2	c3	7.8350E+08	2	3.3056E+08	A	B
a2	b1	c2	8.0600E+08	2	3.3056E+08	A	B
a1	b1	c2	9.1650E+08	2	3.3056E+08	A	B
a2	b2	c2	1.0545E+09	2	3.3056E+08	A	B
a1	b1	c1	1.2000E+09	2	3.3056E+08	A	B
a1	b2	c1	1.2250E+09	2	3.3056E+08	A	B
a1	b1	c3	1.2525E+09	2	3.3056E+08	A	B
a2	b2	c5	1.4500E+09	2	3.3056E+08	A	B
a1	b2	c3	1.5750E+09	2	3.3056E+08	A	B
a1	b2	c2	1.6150E+09	2	3.3056E+08	A	B
a2	b2	c1	1.7100E+09	2	3.3056E+08	A	B
a2	b1	c1	1.8100E+09	2	3.3056E+08	A	B
a2	b1	c4	1.8200E+09	2	3.3056E+08	A	B
a2	b1	c5	2.4150E+09	2	3.3056E+08		B
a1	b1	c5	2.4500E+09	2	3.3056E+08		B

ANEXO D. GRÁFICOS

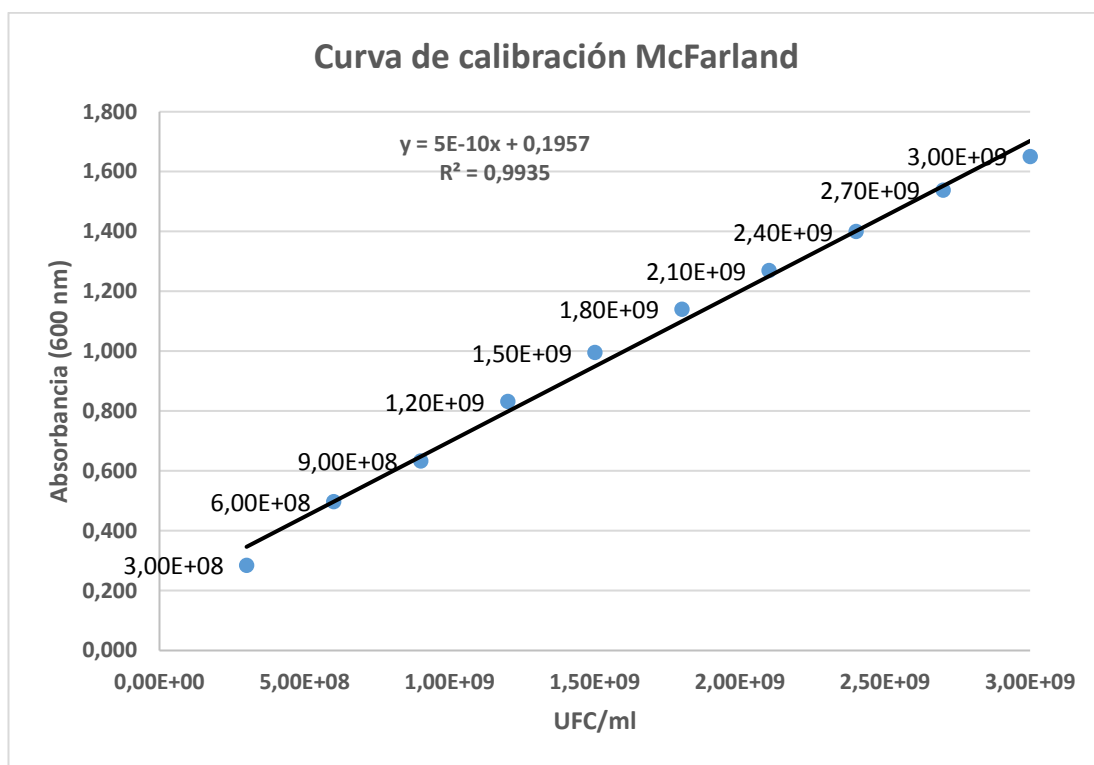


Gráfico D1: Curva de calibración McFarland

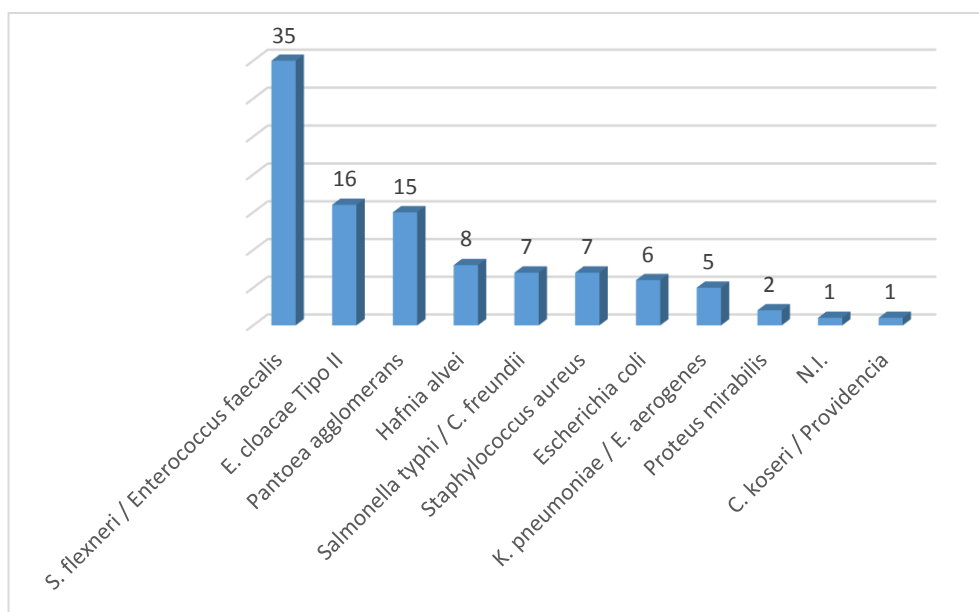


Gráfico D2: Número de microorganismos aislados según especie

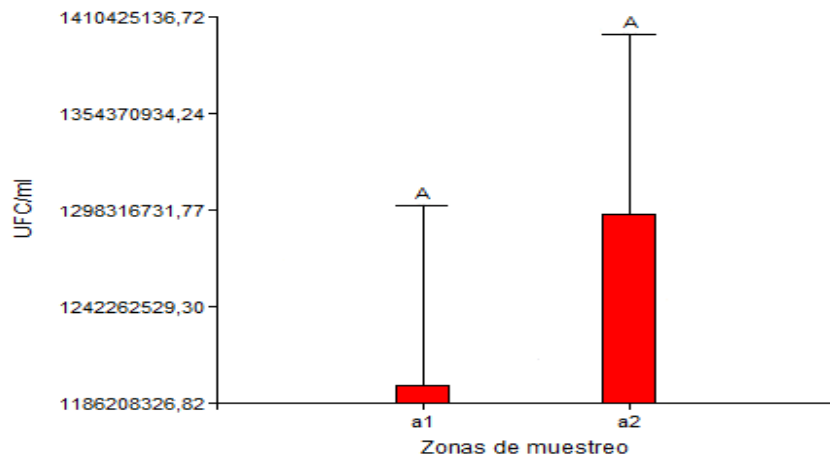


Gráfico D3: Factor A (Zonas de muestreo)

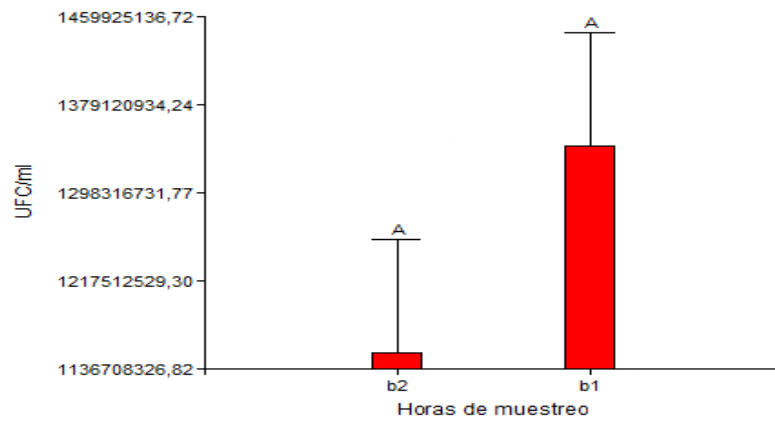


Gráfico D4: Factor B (Horas de muestreo)

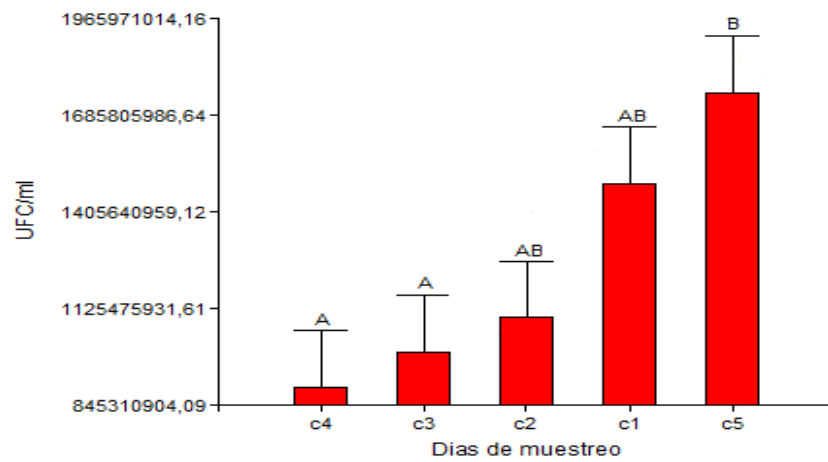


Gráfico D5: Factor C (Días de muestreo)

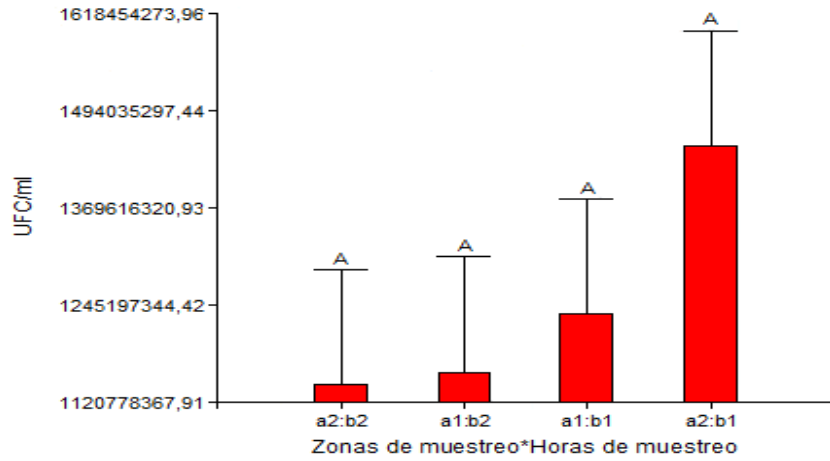


Gráfico D6: Interacción AxB (Zonas de muestreo x Horas de muestreo)

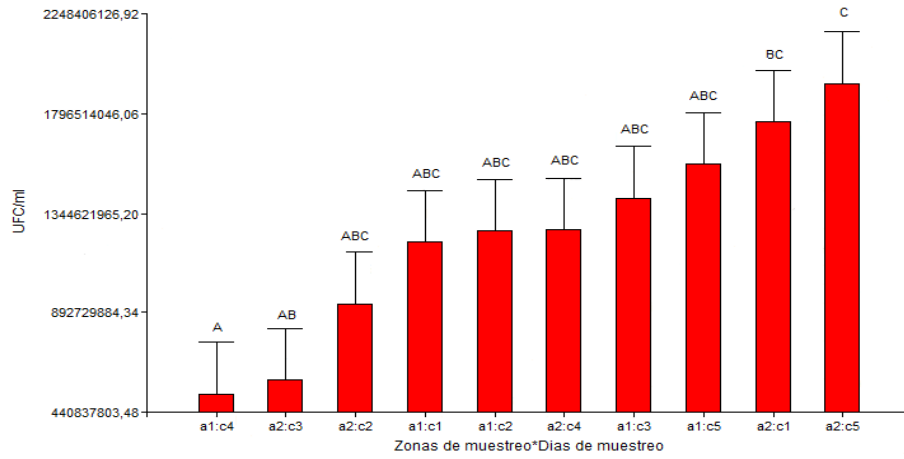


Gráfico D7: Interacción AxC (Zonas de muestreo x Días de muestreo)

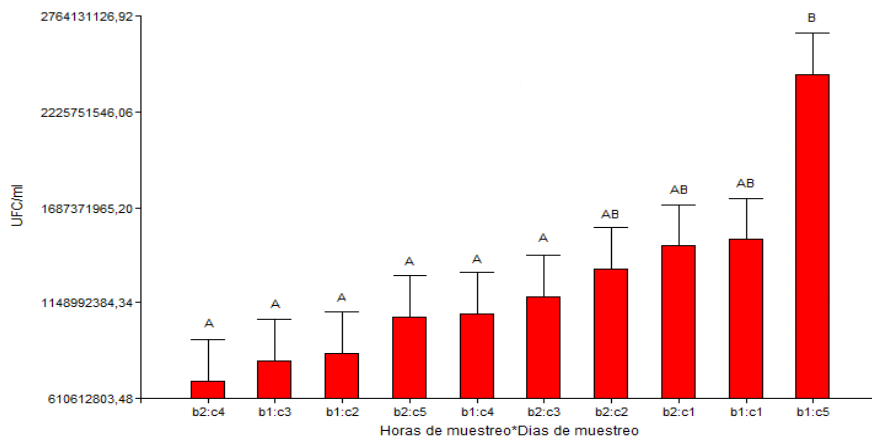


Gráfico D8: Interacción BxC (Horas de muestreo x Días de muestreo)

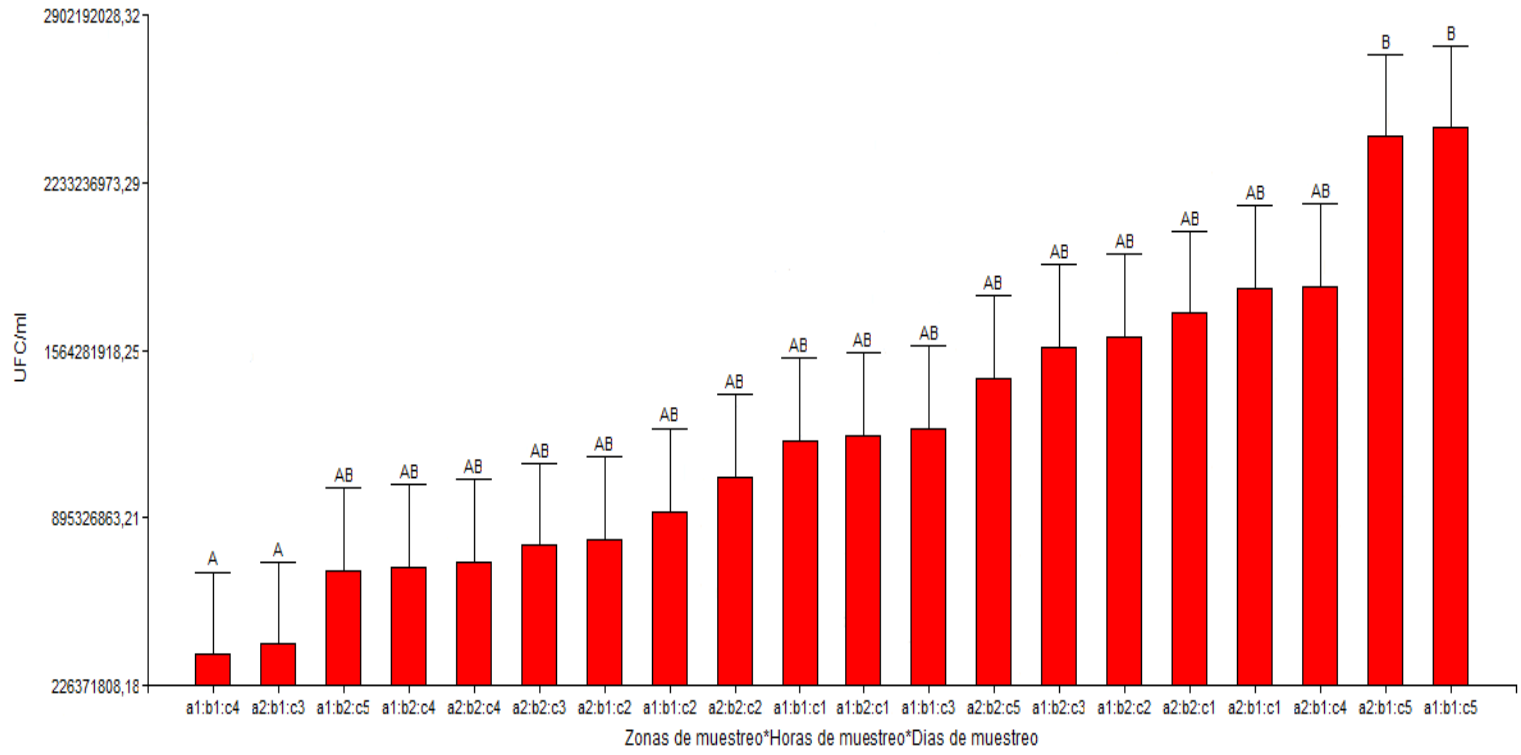


Gráfico D9: Interacción AxBxC (Zonas de muestreo x Horas de muestreo x Días de muestreo)

ANEXO E. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA



Figura E1: Zona de depósito de desechos hospitalarios del Relleno Sanitario - GADM
Riobamba



Figura E2: Zona de depósito de desechos comunes del Relleno Sanitario - GADM
Riobamba



Figura E3: Toma de muestras aerobiológicas



Figura E4: Izquierda, medio de cultivo BHI estéril; derecha, medio de cultivo BHI incubado

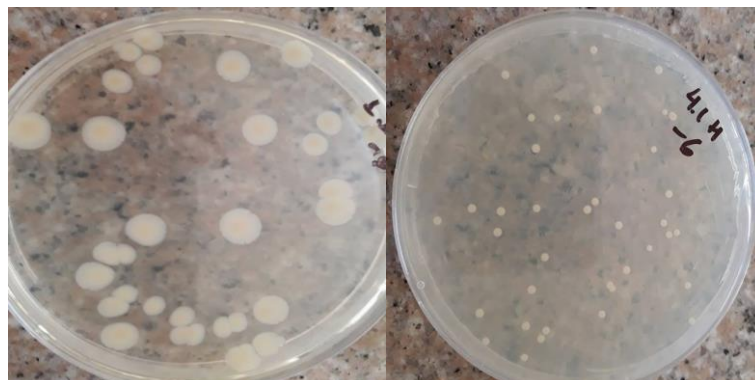


Figura E5: Crecimiento microbiano en medio Tripteína Soya Agar

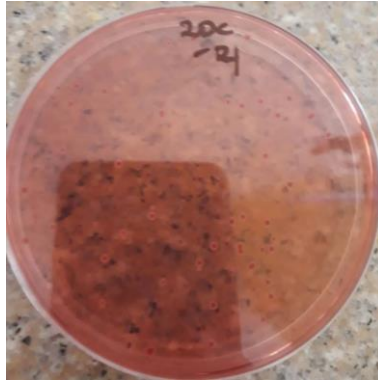


Figura E6: Crecimiento microbiano en medio Agar MacConkey

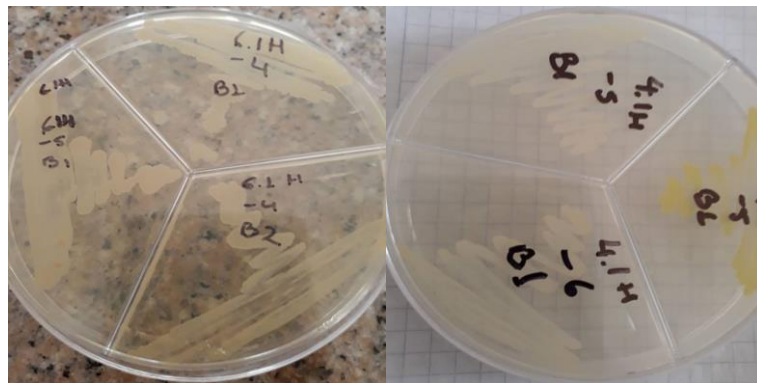


Figura E7: Aislamiento microbiano en medio Tripteína Soya Agar



Figura E8: Prueba de Indol, a) izquierda resultado positivo (+), b) derecha resultado negativo (-)

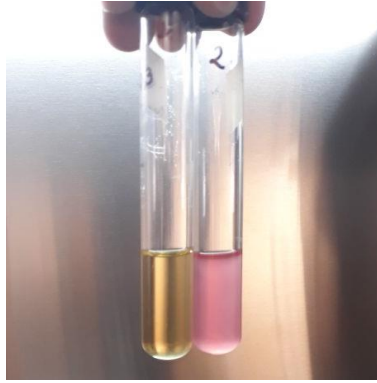


Figura E9: Prueba Rojo de Metilo, a) izquierda resultado negativo (-), b) derecha resultado positivo (+)



Figura E10: Prueba Voges-Proskauer, a) izquierda resultado positivo (+), b) derecha resultado negativo (-)



Figura E11: Prueba Citrato de Simmons, a) izquierda resultado negativo (-), b) derecha resultado positivo (+)

ANEXO F. FUNDAMENTACIÓN LEGAL

Documento F1: Resolución de aprobación del trabajo de titulación, modalidad “Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención”



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS CONSEJO DIRECTIVO

Av. Los Chasquis y Río Payamino
Teléfonos: 032400987 032400989
E-mail: fcial@uta.edu.ec



RESOLUCIÓN: FCIAL-1221-CD-P-2017

Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, en sesión ordinaria efectuada el diecinueve de octubre del año dos mil diecisiete, en conocimiento del Acuerdo FCIAL-UT-BQ-100-2017, enviado por la Dra. Mayra Paredes Presidenta de la Unidad de Titulación de la Facultad, mediante el cual remite el Trabajo de Titulación, Modalidad “Experiencias Prácticas de Investigación y/o intervención”, bajo el tema: “DETERMINACIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO EN EL AIRE DEL RELLENO SANITARIO DEL GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO MUNICIPAL DE RIOBAMBA (GADM RIOBAMBA)”, presentado por el/la señor/ita CAMPAÑA ROBAYO BELGICA SUSANA Y NAVARRETE MARCIAL GABRIEL JOSUE, estudiante de la Carrera de Ingeniería Bioquímica.

RESUELVE:

APROBAR el Proyecto de Trabajo de Modalidad “Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención”, bajo el tema: “DETERMINACIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO EN EL AIRE DEL RELLENO SANITARIO DEL GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO MUNICIPAL DE RIOBAMBA (GADM RIOBAMBA)”, presentado por el/la señor/ita CAMPAÑA ROBAYO BELGICA SUSANA Y NAVARRETE MARCIAL GABRIEL JOSUE, estudiantes de la Carrera de Ingeniería Bioquímica.

DESIGNAR como Tutor del Trabajo de Titulación Modalidad “Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención”, bajo el tema: “DETERMINACIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO EN EL AIRE DEL RELLENO SANITARIO DEL GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO MUNICIPAL DE RIOBAMBA (GADM RIOBAMBA)”, al Mg. Manolo Córdova, Profesor de esta Facultad.

INFORMAR al/la Señor/ita CAMPAÑA ROBAYO BELGICA SUSANA Y NAVARRETE MARCIAL GABRIEL JOSUE, estudiantes de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos que conforme al REGLAMENTO DE REGIMEN ACADÉMICO, Disposición Tercera.- “Aquellos estudiantes que no hayan culminado y aprobado la opción de titulación escogida en el periodo académico de culminación de estudios (es decir aquel en el que el estudiante se matriculó en todas las actividades académicas que requiera aprobar para concluir su carrera o programa), lo podrán desarrollar en un plazo adicional que no excederá el equivalente a 2 periodos académicos ordinarios, para lo cual, deberán solicitar a la autoridad académica pertinente la correspondiente prórroga, el primer adicional no requerirá de pago por concepto de matrícula o arancel, ni valor similar. De hacer uso del segundo periodo requerirá de pago por concepto de matrícula o arancel.

En este caso, la IES deberá garantizar el derecho de titulación en los tiempos establecidos en esta disposición y de acuerdo a lo determinado en el artículo 5, literal a), de la LOES.
(Disposición agregada mediante Resolución RPC-SO-13-N°146-2014, adoptada por el Pleno del CES en su Décima Tercera Sesión Ordinaria, desarrollada el 09 de abril de 2014 y reformada mediante Resolución RPC-SE-03-N°004-2016, adoptada por el Pleno del Consejo de Educación Superior en su Tercera Sesión Extraordinaria, desarrollada el 22 de marzo de 2016).

Ambato, 19 de Octubre de 2017

Atentamente,

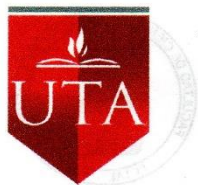
Dra. Mayra Paredes
PRESIDENTA (E)



C.C.
DEGANATO
SUBDECANATO
COORDINACIÓN BIOQUÍMICA
CAMPAÑA ROBAYO BELGICA SUSANA
NAVARRETE MARCIAL GABRIEL JOSUE
MG. MANOLO CORDOVA
SECRETARÍA DE FACULTAD

MP/adb

Documento F2: Carta compromiso para la realización del trabajo de titulación



CARTA DE COMPROMISO PARA LA REALIZACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN ENTRE LA FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y EL GADM RIOBAMBA.

COMPARECIENTES:

En la Ciudad de Ambato a los 12 días del mes de junio del 2017, comparecen a la celebración de la presente Carta de Compromiso, las siguientes personas: a) por una parte Abg. Jorge Zambrano en su calidad de Director de la Dirección de Gestión de Talento Humano del GADM RIOBAMBA, en la que adelante para efectos de la presente Carta de Compromiso se le denominará GADM RIOBAMBA y b) por otra parte la Dra. Jacqueline Ortiz en calidad de Decana representante legal de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos en la que en adelante se la denominará "FCIAL" quienes libre y voluntariamente convienen a celebrar la presente **CARTA DE COMPROMISO DE REALIZACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**, MODALIDAD: Titulación Experiencias Prácticas y/o Intervención al tenor de las siguientes cláusulas que constan a continuación.

PRIMERA: ANTECEDENTES

El art. 39 de la Constitución Política del Ecuador establece que: El Estado garantizará los derechos de las jóvenes y los jóvenes, y promoverá su efectivo ejercicio a través de políticas y programas, instituciones y recursos que aseguren y mantengan de modo permanente su participación e inclusión en todos los ámbitos, en particular en los espacios del poder público.

Reglamento de Régimen Académico (CES), Numeral 3, último inciso del Art. 21. Unidades de organización curricular en las carreras técnicas y tecnológicas superiores, y de grado. - Estas son:



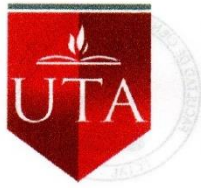
Último inciso: Todo trabajo de titulación deberá consistir en una propuesta innovadora que contenga, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta: Para garantizar su rigor académico, el trabajo de titulación deberá guardar correspondencia con los aprendizajes adquiridos en la carrera y utilizar un nivel de argumentación coherente con las convenciones del campo del conocimiento.

SEGUNDA: NATURALEZA Y OBJETO

La presente tiene como objeto incorporar a los estudiantes de la FCIAL al GADM RIOBAMBA, a fin de coadyuvar en su formación académica y profesional y cumplir con el requisito previo a la obtención del título y de esta manera aportar a la colectividad con futuros profesionales con experiencia y conocimientos sobre la realidad y necesidades existentes en la parte administrativa, legal, organizativa y procedimental de esta institución.

Además de ser necesario definir proyectos específicos de mutuo interés; la institución facilitará el apoyo necesario de sus recursos humanos, científicos, tecnológicos, económicos y de infraestructura para el desarrollo de las actividades y su posterior ejecución, las mismas que serán supervisadas y coordinadas por supervisor designado por la institución.

La presente Carta de Compromiso es de carácter eminentemente académico, por lo tanto, no generará algún tipo de relación laboral entre la FCIAL y GADM RIOBAMBA. Al no tener el carácter laboral no se aplicarán las normas del Código de Trabajo y leyes afines, sin embargo, la GADM RIOBAMBA podrá otorgar a los estudiantes ayuda



económica o el reconocimiento de gastos de transporte y alimentación, sin que dichas sumas constituyan en forma alguna el pago de salarios o prestaciones sociales; por tanto, el objetivo fundamental es fomentar, formular y desarrollar actividades y proyectos conjuntos de:

- 1.- Formación y capacitación a estudiantes;
- 2.- Cooperación para el fortalecimiento de sus capacidades institucionales;
- 3.- Difusión y transferencia de ciencia, saberes y tecnología;
- 4.- Desarrollo de actividades culturales y de vinculación con la sociedad

TERCERA: COMPROMISOS DE LAS PARTES

En virtud de la presente carta de Compromiso las partes adquieren los siguientes compromisos:

3.1. DE LA INSTITUCIÓN:

- Permitir el ingreso a sus instalaciones del estudiante que realizará el Trabajo de Titulación, bajo la Modalidad de Titulación Experiencias Prácticas y/o Intervención.
- Brindar las facilidades necesarias durante la ejecución de del Trabajo de Titulación al estudiante, conforme la planificación de actividades aprobada.
- Designar un Supervisor responsable de la Institución con quien conjuntamente con el Docente Tutor coordinará el monitoreo y evaluación del Trabajo de Titulación.

Quito



- Garantizar la permanencia del estudiante mientras se encuentre elaborando el Trabajo de Titulación, hasta la culminación de la Investigación requerida.
- Permitir a la FCIAL realizar la comprobación directa de las actividades realizadas por el estudiante por medio de visitas físicas a las instalaciones y demás lugares en donde éstas se desarrollen.
- Respetar los derechos de propiedad intelectual que puedan surgir en el desarrollo de las actividades realizadas por los estudiantes, entendiendo que los mismos corresponden al Estudiante.

3.2. DE LA FCIAL:

- La FCIAL realizará el seguimiento del desarrollo del Trabajo de Titulación conforme al Instructivo de Modalidades de Titulación de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
- Designar un Docente Tutor quien será el responsable de la planificación, monitoreo y evaluación del estudiante durante su permanencia en la institución.
- Informar al GADM RIOBAMBA cualquier modificación en el desarrollo del Trabajo de Titulación en la Modalidad Experiencias Prácticas, a la fecha en que dichas modificaciones sean aplicables.



RIOBAMBA
GAD MUNICIPAL

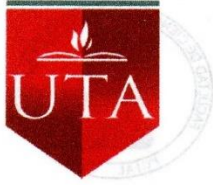


CUARTA: OBLIGACIONES DE LOS ESTUDIANTES

Para el desarrollo del Trabajo de Titulación dentro de la presente carta de Compromiso, los estudiantes Navarrete Marcial Gabriel Josué y Campaña Robayo Bélgica Susana deberán:

- Cumplir los requisitos establecidos por la FCIAL para el desarrollo del Trabajo de Titulación.
- Cefñirse estrictamente a los reglamentos, normas y procedimientos de carácter técnico, académico, administrativo y disciplinario de GADM RIOBAMBA.
- Cumplir los horarios establecidos por GADM RIOBAMBA para realizar del Trabajo de Titulación.
- Declarar que conocen, entienden y aceptan expresamente que dependerán académicamente de FCIAL y mantendrán con GADM RIOBAMBA una relación académica estrictamente.
- Mantener en confidencialidad y abstenerse de usar para sí o para terceros, reproducir o divulgar la información de GADM RIOBAMBA o del personal vinculado a ésta, que llegue a conocer en el desarrollo del Trabajo de Titulación. La violación de esta obligación hará incurrir a los estudiantes en las sanciones legales correspondientes.
- El incumplimiento de cualquiera de las obligaciones anteriormente señaladas, acarreará para el estudiante las sanciones que FCIAL determine en sus reglamentos respectivos.

Para



QUINTA: EVALUACIÓN ACADÉMICA

La FCIAL, a través Tutor del Trabajo de Titulación, solicitará a la GADM RIOBAMBA la evaluación del desempeño del Estudiante en la elaboración de la Investigación motivada en el Trabajo de Titulación de acuerdo al formato establecido por la FCIAL. Dicha evaluación será entregada a FCIAL.

SEXTA: DURACIÓN

El presente convenio tendrá un período de dos períodos Académicos Ordinarios, en caso de ser necesario se actuará de conformidad con el Reglamento de Régimen Académico, Disposición General Tercera.

SÉPTIMA: TERMINACIÓN DE LA CARTA DE COMPROMISO

La presente Carta de Compromiso se dará por terminado, sin perjuicio de las demás causales establecidas en la ley, en los siguientes eventos:

- ✓ Vencimiento del plazo pactado de esta Carta de Compromiso o de cualquiera de sus prórrogas.
- ✓ Mutuo acuerdo.
- ✓ Aviso escrito que una de las partes de a la otra, con treinta (30) días de antelación a la fecha en que se pretenda dar por terminado.

Cualquier modificación a los términos aquí contenidos deberá constar en documento escrito suscrito por cada una de las partes.



OCTAVA: PROPIEDAD INTELECTUAL

Para todos los efectos se aplicará la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento, y los Tratados y Acuerdos Internacionales de los que el Ecuador forma parte.

DÉCIMA: DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD

Las dos Instituciones expresan la voluntad de comprometer sus esfuerzos para el cumplimiento y el éxito de la presente Carta de Compromiso. Para constancia y conformidad de lo estipulado, las partes firman el presente documento, en cuatro ejemplares de igual valor y contenido, en la ciudad de Ambato a los 12 días del mes de junio del 2017.



Dra. Jacqueline Ortiz

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos



Abg. Jorge Zambrano

Director de Talento Humano