UNIVERSITÄT AUGSBURG
Universitätsbibliothek

OPEN ACCESS
OPUS AUGSBURG

Detección de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas como contaminantes emergentes en los ríos San Pedro y Pita del cantón Rumiñahui

Lenin Javier Ramirez-Cando, Sabrina Estefania Chicaiza Ramírez, Allan David Ramos López, César Iván Álvarez

Angaben zur Veröffentlichung / Publication details:

Ramirez-Cando, Lenin Javier, Sabrina Estefania Chicaiza Ramírez, Allan David Ramos López, and César Iván Álvarez. 2019. "Detección de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas como contaminantes emergentes en los ríos San Pedro y Pita del cantón Rumiñahui." *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida* 30 (2): 88–102. https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.08.

Nutzungsbedingungen / Terms of use: **CC BY-NC-SA 4.0**

Dieses Dokument wird unter folgenden Bedingungen zur Verfügung gestellt: / This document is made available under these conditions:
CC-BY-NC-SA 4.0: Creative Commons: Namensnennung - Nicht kommerziell - Weitergabe unter gleichen Bedingungen
Weitere Informationen finden Sie unter: / For more information see:
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.de

La Granja. Revista de Ciencias de la Vida
ISSN: 1390-3799
ISSN: 1390-8596
sserranov@ups.edu.ec
Universidad Politécnica Salesiana
Ecuador

Detección de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas como contaminantes emergentes en los ríos San Pedro y Pita del cantón Rumiñahui

Ramírez-Cando, Lenin Javier; Chicaiza Ramírez, Sabrina Estefania; Ramos López, Allan David; Álvarez, César Iván

Detección de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas como contaminantes emergentes en los ríos San Pedro y Pita del cantón Rumiñahui

La Granja. Revista de Ciencias de la Vida, vol. 30, núm. 2, 2019

Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador

Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=476060341008

DOI: https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.08
2019.Universidad Politécnica Salesiana
2019.Universidad Politécnica Salesiana

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Detección de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas como contaminantes emergentes en los ríos San Pedro y Pita del cantón Rumiñahui

Detection of betalactamic antibiotics, tetracyclines and sulfamides as emerging pollutants in the rivers San Pedro and Pita of the canton Rumiñahui.

Lenin Javier Ramírez-Cando lenin.ramirez@ug.edu.ec
Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador
http://orcid.org/0000-0002-4855-4796
Sabrina Estefania Chicaiza Ramírez
Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador
http://orcid.org/0000-0003-0496-685X
Allan David Ramos López
Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador
http://orcid.org/0000-0002-1446-5138
César Iván Álvarez
Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador
http://orcid.org/0000-0001-5629-0893

La Granja. Revista de Ciencias de la Vida, vol. 30, núm. 2, 2019

Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador

Recepción: 20 Julio 2018
Revisado: 26 Febrero 2019
Publicación: 01 Septiembre 2019

DOI: https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.08

Redalyc: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=476060341008

Resumen: Las actividades que se realizan en el diario vivir, como la higiene personal o el cuidado de la salud, pueden provocar efectos negativos en el ecosistema, generando alteraciones sobre el medio ambiente, dado que se consumen varias sustancias de diferente origen y composición química, de estas sustancias se conoce relativamente poco con respecto al impacto que tendrá en el ambiente y en el ser humano, sustancias que son reconocidas con el nombre de contaminantes emergentes. El presente trabajo experimental fue desarrollado en las parroquias de Uyumbicho, Amaguaña, dos localidades ubicadas a 1km de la orilla del río San Pedro y la parroquia de Sangolqui cerca al río Pita, se evaluó la probable existencia de residuos de antibióticos betalactámicos y sulfamidas, en los 13 puntos de muestreo distribuidos de la siguiente manera: 9 en el río San Pedro y 4 en el río Pita, se realizaron 6 muestreos de agua, para ser analizadas mediante la utilización de un kit de detección para antibióticos, las muestras fueron analizadas 2 veces cada mes, por 3 meses, se procesó las imágenes con técnica fotogramétricas y estadísticas para cuantificar los antibióticos, de manera rápida y sencilla . Los resultados obtenidos son claros con un total del 41 de 78 muestras que representa el 52% de casos positivos con presencia de residuos de antibióticos betalactámicos y sulfamidas en los afluentes de los ríos San Pedro y Pita.

Palabras clave: Antibióticos, contaminantes emergentes, ambiente, betalactámicos, sulfamidas.

Abstract: The activities carried out in daily living, such as personal hygiene and health care, they may cause negative effects on the ecosystem, generating alterations on the environment given that consumed several substances of different origin and chemical composition, these substances are relatively little known regarding the impact that will have on the environment and human substances that are recognized under the name of polluting emerging. This experimental study was developed in the parishes of Uyumbicho, Amaguaña, two towns located 1 km from the shore of the San Pedro river

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

and the parish of Sangolqui near the Pita river, assessed the likely existence of residues of beta-lactam antibiotics and sulphonamides at the 13 sampling points distributed in the following manner: 9 in the San Pedro river and 4 in the Pita river 6 samples of water, were taken to be analyzed using a kit of detection for antibiotics samples were tested 2 times every month, for 3 months, antibiotics were estimated by photogrammetric and statistical analysis. The results are clear with a total of 41 of 78 samples representing 52% of positive cases with the presence of residues of beta-lactam antibiotics and sulfonamides in the tributaries of the rivers San Pedro and Pita.

Keywords: Antibiotics, contaminants emerging, environment, beta-lactams, sulfonamides.

Forma sugerida de citar:

Ramírez C., L. J., Chicaiza Ramírez, S. E., Ramos López, A. D. y Álvarez, C. I. (2019). Detección de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas como contaminantes emergentes en los ríos San Pedro y Pita del cantón Rumiñahui. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 30(2):88-102. http://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.08.

1. Introducción

El deterioro en el medio ambiente es provocado por el aumento acelerado de la población, esto conlleva el aumento de producción, en actividades industriales, farmacéuticas, agrícolas debido a que las aguas que cada actividad genera son vertidas directamente a los cuerpos de agua, estas aguas no se tratan previamente, consecuentemente no se puede mitigar el impacto que se está generando sobre los cuerpos de agua (Elena, Ramírez and Gutiérrez, 2017; Ramirez-Cando, Guerra and Reinoso, 2017).

El anuncio del primer antibiótico sulfamídico en 1935 inició la era moderna de la terapéutica antimicrobiana, caracterizada por una enorme disminución de la morbilidad y de la mortalidad para muchas enfermedades infecciosas (Gimeno 2001; Reig and Toldrá 2008). Dentro de este grupo de contaminantes, se encuentran los productos farmacéuticos y los subproductos si bien no son considerados como sustancias persistentes, su frecuente utilización y desecho los hace estar presentes en nuestro entorno. Por consiguiente, los antibióticos forman parte de los agentes farmacológicos utilizados de forma reiterativa, y en otros casos usados sin ningún tipo de control, como suplemento alimenticio o para tratar enfermedades en animales, siendo administrados en numerosas ocasiones de forma insensata y en dosis inadecuadas (Talero, Medina, and Rozo 2014).

El derecho de todo ciudadano a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, libre de contaminación (CIJUL 2013; Mátyás et al. 2018; Ramirez-Cando, Guerra, and Reinoso 2017), es la base para realizar el proyecto de detección de antibióticos y derivados de los mismos, como contaminantes emergentes en la cuenca de los ríos Pita y San Pedro, para de esta manera generar ideas para el tratamiento posterior necesario para la descontaminación de los ríos. El fin de este trabajo es identificar, analizar, detectar y cuantificar los tipos de antibióticos y

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

sus derivados que se encuentren presentes en los ríos San Pedro y Pita considerados como contaminantes emergentes, de esta manera, poder generar datos que nos faciliten analizar el comportamiento de estos antibióticos y determinar además niveles de afección tanto a la salud humana como al entorno en sí, analizaremos este proceso mediante muestreos in situ y procesos controlados en un laboratorio, para un análisis posterior a los resultados y tener una idea clara del efecto de los antibióticos en el medio ambiente. Una de las características importantes que posee este grupo de contaminantes para causar un efecto negativo en la naturaleza, es que no necesariamente requieren ser persistentes, ya que, si bien existen sistemas que los pueden remover o transformar en compuestos más simples o subcompuesto, su continuo consumo y por ende el desecho que generado conlleva a la presencia permanente en el medio ambiente. (Barceló 2003; Guevara and Ramirez-Cando 2015; Ramírez-Cando et al. 2017). En los ríos San Pedro y Pita se estudian y analizan específicamente los siguientes contaminantes emergentes (antibióticos): Betalactamicos, Tetraciclinas, Sulfamidas (Barceló 2003).

Los antibióticos son sustancias originados de distintos tipos de especies de microorganismos, como bacterias, hongos o actinomicetos, incluyendo ciertas especies de insectos y plantas; los cuales logran intervenir en el desarrollo de otros microorganismos e incluso pueden llegar a eliminarlos (Volfredo 2010), están constituidos por moléculas orgánicas, lo que nos revela que su mecanismo de degradación al cual está expuesto en el medio ambiente son igual a cualquier compuesto orgánico, pero con la diferencia que todas las reacciones que se llevan a cabo se realizan aun cuando las concentraciones de estos compuestos estén muy diluidas (Henríquez-Villa 2012). Se tiene que el tiempo estimado para la biodegradación de los antibióticos en el medio ambiente es de meses o años, dependiendo de las condiciones en las que se encuentre: cantidad de oxígeno, la disponibilidad de luz, el suministro de agua (Ferrer and Thurman 2012; Alvarez-Mendoza, Teodoro, and Ramirez-Cando 2019). Considerando lo expuesto, la detección y cuantificación de dichos compuestos en cuerpos de agua se convierte cada día en una necesidad para la toma de decisiones y regulaciones al respecto.

2. Materiales y Métodos

2.1 Área de Estudio

Detección de antibióticos en aguas de los ríos san pedro y pita, ubicados en la provincia de Pichincha, en parroquias como Uyumbicho en el cantón Mejía y Amaguaña y Sangolquí en el cantón Rumiñahui, por las cuales atraviesan los ríos en estudio como se ve en la Figura 1.

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

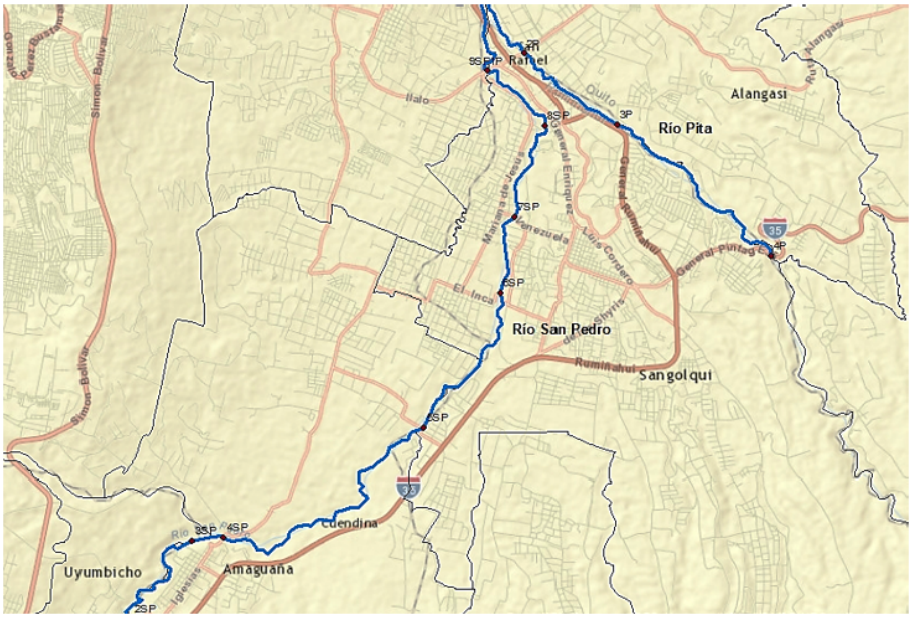

Figura 1:
Localización del proyecto desde la parroquia de Uyumbicho, Amaguaña y Sangolquí

Uyumbicho

La parroquia de Uyumbicho ubicada al norte del cantón Mejía a 23 Km del centro de la ciudad de Quito, y a 1 Km de la orilla izquierda del río San Pedro. Entre los 2600 y los 4600 m.s.n.m., posee un clima templado húmedo, con una temperatura promedio de 12 ºC a 27 ºC. (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial rural de Uyumbicho 2014 - 2019 2015).

AMAGUAÑA

La parroquia de Amaguaña pertenece al Distrito Metropolitano de Quito ubicada al norte del Cantón Mejía, y el río San Pedro atraviesa la parroquia. Entre los 1740 y los 4120 m.s.n.m., posee un clima templado con una temperatura promedio de 17 ºC y 18 ºC. (Amaguaña 2013).

SANGOLQUI

La parroquia de Sangolquí está ubicada en el valle de los chillos, es la capital del cantón Rumiñahui y forma parte de la hoya de Guayllabamba y se encuentra a 1 Km de la orilla derecha del Rio Pita. Entre los 2415 y los 2512 m.s.n.m., posee un clima templado, con una temperatura promedio de 16 ºC y 23 ºC. (Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Rumiñahui 2014).

2.2 Obtención de la muestra

En este proceso utilizamos un equipo especializado para georreferenciar los puntos de muestreo, este equipo se denomina GPS, nos sirve para poder ubicar en un mapa, los puntos de referencia para cada uno de los ríos, es así que se pudo obtener las coordenadas y mapas de ubicación para los puntos de muestreo del río Pita y San Pedro:

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Se tomaron un total de 13 muestras, 9 muestras en el río San Pedro y 4 muestras en el río Pita, tomando 1 litro de cada una de las muestras para su posterior uso y análisis, esto realizado con la ayuda de equipos como el pH-metro (FiveGo^{TM}, Metter Toledo) y un kit (AuroFlow^{TM} BTS Combo Strip Test Kit" de marca BIOO Scientific).

2.3 Análisis en campo

El trabajo de campo se realizó, siguiendo los pasos tanto para la recolección de las muestras según la NTE INEN 2117:2013 sobre el agua, calidad del agua, muestreo manejo y conservación de muestras (NTE INEM 2117 2013); como para el análisis de dichas muestras a través del kit "AuroFlowTM BTS Combo Strip Test Kit" de marca BIOO Scientific (Scientific 2018), que es un kit de análisis e identificación de antibióticos. Para cada punto de muestreo se realizó la medición de pH, conductividad y temperatura con el pH-metro el instrumento portátil pH-metro FiveGoTM sirve para la medición de pH, conductividad (mS) y temperatura (°C), este equipo cumple con las normativas de seguridad reconocidas (Toledo 2017) y, la identificación de antibióticos con las tiras de lectura para la comparación de resultados con la guía del kit AuroFlowTM, los informes de validación están disponibles y muestran la eficacia de las pruebas tanto a temperatura ambiente como en otras condiciones (Scientific 2018),el protocolo o proceso rápido y simplificado del uso del kit se puede ver a continuación:

- Agregue 200 uL de agua fría al recipiente de reacción y mezcle pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces.
- Incubar la mezcla durante 3 minutos a temperatura ambiente.
- Agregue la varilla o tira medidora al recipiente de reacción.
- Incubar la mezcla durante 4 minutos a temperatura ambiente.
- Interpretar visualmente el resultado usando el diagrama, o usa el lector.

2.4 Análisis de laboratorio

Las muestras fueron almacenadas y refrigeradas durante una semana, como primer paso se preparan materiales para la elaboración del medio de cultivo, para nuestro proyecto se ocupó Agar nutritivo, tanto el MacConkey como el PCA (ambos de marca DIFCO BBL Microbiology, en presentación de 500 gramos), que son medios universales para la determinación de microorganismos y bastante útiles para la identificación de UFC (Unidades formadoras de colonias), se preparó 500 ml de cada tipo de agar siguiendo los procedimientos de preparación.

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

2.4.1 Preparación del Agar

La preparación del medio de cultivo consiste en pesar la cantidad deseada del mismo y disolverla en agua destilada siguiendo las instrucciones del fabricante según la etiqueta proporcionada en el envase del producto. Esta mezcla después de ser preparada se esteriliza en el autoclave, una vez finalizada la esterilización, los medios se dejarán enfriar a temperatura ambiente, evitando su solidificación, ya que estos medios deben verterse en las cajas Petri para la siembra de las muestras, para que arrojen los resultados correspondientes para cada una de las mismas.

2.4.2 Preparación de las muestras para siembra

Una vez esterilizados los materiales: cajas Petri, pipetas y tubos de ensayo; se toman las cajas Petri, y se vierte el medio fundido y estéril dentro de ellas, en un ambiente aséptico, lo recomendable es que esté en la proximidad de la llama de un mechero Bunsen, aproximadamente en un radio de 20 a 30 cm dependiendo la intensidad y el color de la flama. (APHA 1970) o Agar PCA (Plate count agar). Se sacan las muestras de la refrigeración y se las mantiene en condiciones ambientales para que se acondicionen a la temperatura normal, una vez acondicionadas estas muestras se tomó 1 ml. de cada una de las botellas para la respectiva siembra, una vez colocada la alícuota se vierte el agar en cada una de las cajas Petri, considerando que para el proceso se realizaron diluciones 10-1 y 10-2 que ayudaran a reducir la concentración de microorganismos. (APHA 1970) o Agar PCA. Después de colocar determinada cantidad de muestra, se seleccionó el agar MacConkey y PCA para cada dilución y se la vierte en cada caja Petri, ocupando una técnica de siembra de cultivos denominada "caja pobre", en la cual se coloca un mililitro de cada una de las diluciones en cada una de las cajas Petri etiquetadas, este mililitro se lo esparce en toda la caja después de esto, en un ambiente estéril, se vierte el agar con una temperatura máxima de 40°C. Se realizó el proceso utilizando 26 cajas Petri; 13 cajas para las muestras en agar MacConkey y 13 cajas para PCA, para comprobar la funcionalidad del proceso con cada uno de los medios a partir de eso usamos 28 cajas Petri, contando con un blanco para diferenciar las demás muestras. Una vez preparadas y finalizado el proceso de siembra, las cajas Petri son ingresadas a una incubadora la cual se mantiene en una temperatura definida de 37 °C, se las conserva en un tiempo aproximado de 48 horas para que el crecimiento sea óptimo en ambos tipos de agar. Estándar (APHA 1970) o Agar PCA.

2.5 Preparación de las Curvas de Calibración

Para las curvas de calibración, comenzamos nuestro análisis considerando el blanco que hace referencia a agua sin presencia de antibióticos.

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

2.5.1 Elaboración de Curvas de Calibración

La curva de calibración se mide en función de la concentración de un analito. La calibración incluye la selección de un modelo para valorar parámetros que permitan comprobar la linealidad de esa curva y, como resultado, la capacidad de un método analítico para obtener resultados que sean proporcionales a la concentración de un compuesto en dicha muestra, dentro de un determinado intervalo de trabajo. En el procedimiento se compara una propiedad del analito con la de estándares de concentración conocida del mismo analito (o de algún otro con propiedades muy similares a éste) (Dosal & Villanueva, 2008). La fase de calibración analítica se realiza mediante un modelo de línea recta radica en hallar la recta de calibrado que mejor se ajuste a una cantidad de "n" puntos experimentales, donde cada punto se encuentra definido por una variable "x" (variable independiente, generalmente concentración del analito de interés) y una variable "y" (variable dependiente, generalmente respuesta instrumental). La recta de calibrado se encuentra definida por una ordenada al origen (b) y una pendiente (m), mediante la ecuación y = mx + b o cualquiera de sus formas linealizadas (Dosal & Villanueva, 2008).

2.5.2 Preparación de la curva de calibración.

El blanco nos servirá para comparar con los demás resultados y para esto se necesitó muestras puras tanto para β-lactámicos como para sulfamidas. Se tomó un gramo de cada uno, en este proceso se formaron 6 muestras de cada antibiótico, un blanco (concentración 0) y una solución patrón de 1g de antibiótico por cada 100 mL, de aquí se partió para preparar 5 diluciones: 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} y 10^{-5}, para evaluar y reconocer las diferentes concentraciones todo este proceso con ayuda del kit AuroFlow™. Se empleó una técnica de análisis de imágenes raster que nos proporciona el programa informático R Studio (RStudio 2016), mediante el cual se puede relacionar las bandas con la cantidad de antibiótico existente, las bandas usadas son: Roja, Verde y Azul, en inglés RGB (Red-Green-Blue). Se debe considerar para dicha evaluación tomar imágenes precisas de las tiras de medición del kit, a una misma distancia (altura), a una exposición de luz igual para todas las tiras y evitando las sombras en las mismas, ya que cualquier tipo de error dentro de este proceso, altera significativamente el valor de las bandas al pasar por el análisis informático (Alvarez-Mendoza et al. 2018). Una vez tomadas las imágenes correspondientes al blanco se analizan todas las tiras obtenidas de la toma de muestras que son 78 tiras de esta forma se realiza la curva de calibración (conjunto de concentraciones que describen el intervalo en el cual se deberá cuantificar el compuesto por analizar) y a fin de asegurar que la recta encontrada con los puntos experimentales se ajuste correctamente al modelo matemático de la ecuación, se calculan los valores de la ordenada

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

al origen, la pendiente y el coeficiente de determinación (R^2) y el análisis de residuos del modelo (Dosal and Villanueva 2008).

3. Resultados

3.1 Campo y muestreo

Los resultados obtenidos a lo largo de los muestreos correspondientes, para las fechas indicadas, a la información recolectada en la tabla 1 para la ubicación geográfica.

COORDENADAS			
PUNTOS	**RÍO**	**X**	**Y**
1	SAN PEDRO	776320,179	9957033,03
2	SAN PEDRO	776459,837	9957513,84
3	SAN PEDRO	777471,527	9958809,98
4	SAN PEDRO	777999,499	9958872,2
5	SAN PEDRO	781362,462	9960688,91
6	SAN PEDRO	782648,687	9962947,4
7	SAN PEDRO	782899,269	9964211,35
8	SAN PEDRO	783390,9	9965736,51
9	SAN PEDRO	782436,11	9966660,18
1	PITA	782436,11	9966660,18
2	PITA	783049,537	9966952,45
3	PITA	784595,582	9965756,81
4	PITA	787187,462	9963561,93

Tabla 1.
Ubicación de los puntos de muestreo

La información levantada a partir de la distribución espacial de los puntos de muestreo es indicando por las variables de estado como pH, temperatura y conductividad, además de indicar la presencia de antibióticos en las diferentes muestras (tabla 2):

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Fecha	Puntos	Río	pH	Conductividad	Temperatura	Betalactámicos	Sulfamidas
7/11/2017	2	SAN PEDRO	8,43	76,67	18,7	1	1
	3	SAN PEDRO	8,5	80	18,45	0	1
	4	SAN PEDRO	8,47	78,67	20,05	0	1
	6	SAN PEDRO	8	53	24	1	1
	7	SAN PEDRO	8,37	74,33	19,89	1	0
	8	SAN PEDRO	8,36	73	23,55	0	1
	9	SAN PEDRO	8,29	21	22,5	0	1
	3	PITA	8,51	24,67	23,5	1	1
22/11/2017	3	SAN PEDRO	8,3	76,33	17,55	1	0
	8	SAN PEDRO	8,13	67	16,75	1	0
	2	PITA	7,44	28,67	19,8	1	0
	3	PITA	8,1	65,33	17,25	1	0
	4	PITA	8,25	73,33	16,85	1	0
4/12/2017	1	SAN PEDRO	7,91	64,67	15,95	1	0
	2	SAN PEDRO	7,85	61,67	17,6	1	0
	6	SAN PEDRO	7,56	45,67	21,1	0	1
	2	PITA	7,14	21,33	23,95	1	1
	4	PITA	7,83	60,67	18,7	1	1
18/12/2017	1	SAN PEDRO	7,84	60,67	16,8	1	0
	5	SAN PEDRO	7,96	67,67	17,95	1	0
	6	SAN PEDRO	7,71	54,33	21,3	1	0
	7	SAN PEDRO	7,73	54,67	19,9	1	0
	8	SAN PEDRO	7,71	54,33	20,35	1	0
	2	PITA	7,18	24	24,5	1	0
	4	PITA	7,61	48	20,95	1	0
2/1/2018	4	SAN PEDRO	7,72	54,33	16,35	1	0
	6	SAN PEDRO	7,42	37	21,1	1	0
	9	SAN PEDRO	7,48	40,67	17,8	1	0
	1	PITA	7,47	40	16,95	1	0
	2	PITA	7,32	31,67	17,15	1	0
	3	PITA	7,36	33,33	16,5	1	0
	4	PITA	7,36	33,33	17	1	0
17/1/2018	2	SAN PEDRO	7,99	69,67	16,45	1	0
	3	SAN PEDRO	7,99	69,33	19,3	1	0
	5	SAN PEDRO	7,94	67	17,2	1	0
	6	SAN PEDRO	7,56	45	19,1	1	1
	7	SAN PEDRO	7,92	65	15,5	1	0
	9	SAN PEDRO	7,87	62	15	1	1
	2	PITA	7,4	35,67	15,55	1	0
	3	PITA	7,69	52	14,4	1	1
	4	PITA	7,34	32	14,15	1	0

Tabla 2.

Tabla de datos a lo largo de las fechas de muestreo, se presentan los puntos que tuvieron presencia de antibióticos, dando un valor positivo (1) y un valor negativo (0) a la presencia de los mismos.

Evidenciándose en la Tabla 2 que, la presencia de antibióticos con base de betalactámicos es mayor que la presencia de antibióticos con base de sulfamidas en una relación de al menos 2:1; los valores de pH se mantienen en un rango de 7,14 a 8,51, la temperatura se mantiene entre 14,15°C a 26,45 °C y la conductividad en un rango de 13,67 mS a 82,00 mS.

3.2 Pruebas microbiológicas

Una vez obtenidas las muestras y la presencia o no de antibióticos en las mismas, de la siembra de estas muestras en medios de cultivos, tanto Agar MacConkey y Agar PCA, por métodos ya especificados anteriormente, se obtuvieron los siguientes resultados, tomando en cuenta que se realizaron diluciones para todas las muestras, debido a que se debía reducir la concentración de microorganismos para poder identificar las colonias posteriormente, contando además que sólo se presentan las muestras positivas, presentando únicamente el valor de las UFC (Unidades formadoras de colonias) una vez utilizado el respectivo

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

factor de conversión, se agrega también que se eliminó el dato del primer muestreo debido a que su concentración arrojaba resultados incontables, como se observa en la Tabla 3:

Fecha	Puntos	Río	TOTAL (UFC/ml)
22 de noviembre 2017	3	SAN PEDRO	29400
	8	SAN PEDRO	44100
	2	PITA	60950
	3	PITA	38450
	4	PITA	24300
4 de noviembre 2017	2	SAN PEDRO	1700
	3	SAN PEDRO	400
	4	SAN PEDRO	500
	5	SAN PEDRO	250
	6	SAN PEDRO	500
	7	SAN PEDRO	350
	8	SAN PEDRO	100
	9	SAN PEDRO	300
	2	PITA	3250
	3	PITA	200
	4	PITA	300
18 de diciembre 2017	1	SAN PEDRO	14350
	2	SAN PEDRO	16500
	3	SAN PEDRO	7000
	4	SAN PEDRO	16950
	5	SAN PEDRO	12450
	6	SAN PEDRO	26750
	7	SAN PEDRO	17600
	8	SAN PEDRO	22000
	9	SAN PEDRO	37600
	1	PITA	14700
	2	PITA	14500
	3	PITA	16000
	4	PITA	12000
2 de enero 2018	1	SAN PEDRO	14000
	2	SAN PEDRO	29300
	3	SAN PEDRO	25000
	4	SAN PEDRO	24500
	5	SAN PEDRO	25000
	6	SAN PEDRO	34900
	7	SAN PEDRO	72000
	8	SAN PEDRO	25700
	9	SAN PEDRO	24100
	1	PITA	27000
	2	PITA	33000
	3	PITA	12000
	4	PITA	2400
17 de enero 2018	1	SAN PEDRO	1000
	2	SAN PEDRO	3000
	3	SAN PEDRO	5000
	4	SAN PEDRO	8700
	5	SAN PEDRO	5900
	6	SAN PEDRO	18300
	7	SAN PEDRO	13950
	8	SAN PEDRO	18500
	9	SAN PEDRO	9500
	1	PITA	14650
	2	PITA	28500
	3	PITA	4450
	4	PITA	4000

Tabla 3.
Representación de los valores totales de UFC para cada una de las muestras, en cada una de las fechas de muestreo, realizadas por conteo en cuadrantes.

3.3 Curvas de Calibración

En el proceso también se consideró al blanco, gracias a las tiras indicadoras de presencia de antibióticos, la cual nos permitió determinar mediante programación y detección de bandas correspondientes a los colores rojos, verde y azul, las curvas de calibración que nos ayudarían a estimar la concentración de cada antibiótico hallado, en este caso de betalactámicos y sulfamidas, dando como resultado las siguientes tablas:

Para Betalactámicos:

Rojo		Verde		Azul	
Media	Concentración	Media	Concentración	Media	Concentración
94	10	160	10	191	10
123	1	147	1	181	1
129	0,1	182	0,1	202	0,1
139	0,01	123	0,01	164	0,01
166	0,001	151	0,001	181	0,001
178	0,0001	164	0,0001	158	0,0001

Tabla 4.
Bandas: roja, verde y azul para betalactámicos con sus respectivas concentraciones en mg/mL.

Para Sulfamidas:

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Rojo		Verde		Azul	
Media	**Concentración**	**Media**	**Concentración**	**Media**	**Concentración**
124	10	107	10	169	10
136	1	132	1	174	1
117	0,1	141	0,1	160	0,1
148	0,01	151	0,01	172	0,01
170	0,001	157	0,001	165	0,001
103	0,0001	170	0,0001	118	0,0001

Tabla 5.

Bandas: roja, verde y azul para sulfamidas con sus respectivas concentraciones en mg/mL.

Determinando de esta manera que para el cálculo de antibióticos con base de betalactámicos se ocupará la banda roja (Tabla 4), ya que esta presenta una correlacion que satisface el proceso, mientras que, para las muestras de antibióticos con base de sulfamida, se ocupará la banda verde (Tabla 5). Con estos datos se programó y diseñaron las respectivas curvas de calibración, que posteriormente nos servirán para el cálculo de concentraciones de antibióticos de cada muestra, así:

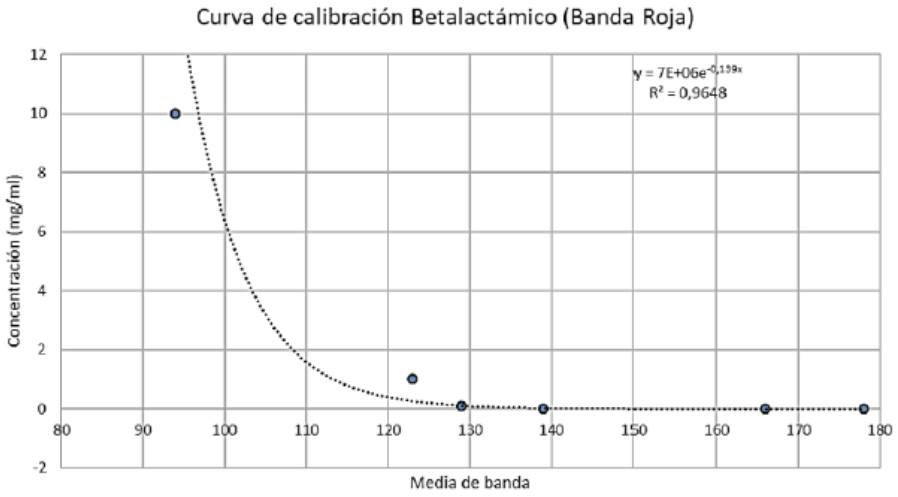

Figura 2.

Curva de calibración para betalactámicos con los datos analizados de las imágenes del blanco.

Con su respectiva ecuación:

Considerando que valores de "R2" mayores a 0,9 o lo más cercano a 1, son valores acogidos como válidos (Cristina and Lorenzo 2005).

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

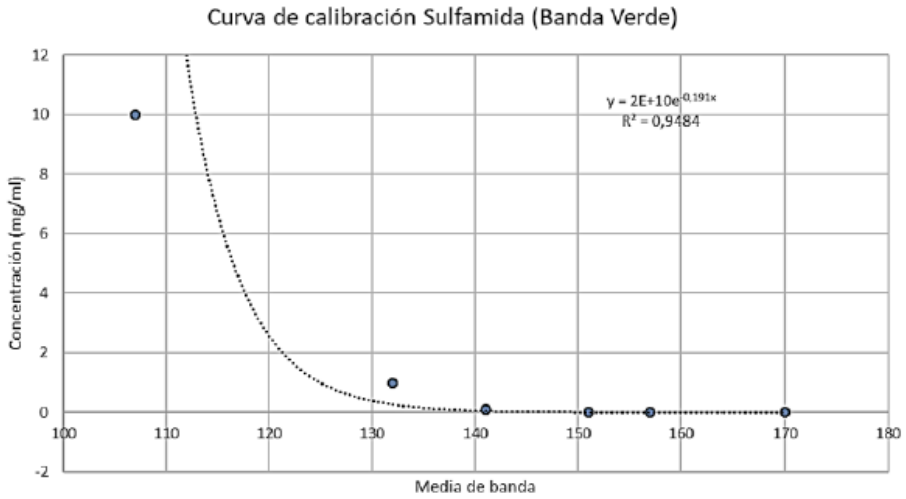

Figura 3.
Curva de calibración para sulfamidas con los datos analizados de las imágenes del blanco.

Con su respectiva ecuación:

Considerando el análisis de residuos donde se observó su distribución normal y cumpliendo con la condición homocesticidad (prueba de White) se continuo con el cálculo de las concentraciones de antibióticos gracias a las ecuaciones elaboradas a partir de la Figura 2 y Figura 3, con sus respectivos valores de R^2 más cercanos a la veracidad (Olea 2016), para cada muestra de la misma manera en que se realizó con la muestra blanco, eliminado de igual manera los resultados negativos, presentando así la Tabla 6 como resultado del cálculo.

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Fecha	Puntos	Río	R	G	B	Presencia	Concentración (mg/mL)	
							Beta	Sulfa
7/11/2017	2	SAN PEDRO	174	175	184	Beta, Sulfa	2,19E-04	6,09E-05
	3	SAN PEDRO	173	174	185	Sulfa	-	7,37E-05
	4	SAN PEDRO	175	176	185	Sulfa	-	5,03E-05
	6	SAN PEDRO	170	172	182	Beta, Sulfa	3,83E-04	-
	7	SAN PEDRO	172	174	183	Beta	2,90E-04	-
	8	SAN PEDRO	165	170	170	Sulfa	-	1,58E-04
	9	SAN PEDRO	157	164	176	Sulfa	-	1,66E-04
	12	PITA	145	149	156	Beta, Sulfa	1,24E-02	8,74E-03
20/11/2017	3	SAN PEDRO	176	176	186	Beta	1,66E-04	-
	8	SAN PEDRO	159	162	176	Beta	1,77E-03	-
	11	PITA	160	162	170	Beta	1,54E-03	-
	12	PITA	158	158	169	Beta	2,03E-03	-
	13	PITA	159	160	170	Beta	1,77E-03	-
4/12/2017	1	SAN PEDRO	170	171	183	Beta	3,83E-04	-
	2	SAN PEDRO	172	170	182	Beta	2,90E-04	-
	6	SAN PEDRO	172	168	180	Sulfa	-	2,32E-04
	11	PITA	173	171	184	Beta, Sulfa	2,52E-04	1,31E-04
	13	PITA	172	171	183	Beta, Sulfa	2,90E-04	1,31E-04
18/12/2017	1	SAN PEDRO	154	159	173	Beta	3,54E-03	-
	5	SAN PEDRO	166	167	181	Beta	6,67E-04	-
	6	SAN PEDRO	167	168	181	Beta	5,81E-04	-
	7	SAN PEDRO	162	162	179	Beta	1,16E-03	-
	8	SAN PEDRO	170	170	182	Beta	3,83E-04	-
	11	PITA	169	170	185	Beta	4,40E-04	-
	13	PITA	168	170	184	Beta	5,05E-04	-
2/1/2018	6	SAN PEDRO	176	177	191	Beta	1,66E-04	-
	9	SAN PEDRO	170	176	188	Beta	3,83E-04	-
	10	PITA	163	168	180	Beta	1,01E-03	-
	11	PITA	161	167	179	Beta	1,34E-03	-
	12	PITA	154	162	176	Beta	3,54E-03	-
	13	PITA	147	156	171	Beta	9,36E-03	-
17/1/2018	2	SAN PEDRO	171	171	182	Beta	3,33E-04	-
	3	SAN PEDRO	172	172	183	Beta	2,90E-04	-
	5	SAN PEDRO	169	171	183	Beta	4,40E-04	-
	6	SAN PEDRO	167	170	182	Beta, Sulfa	5,81E-04	1,58E-04
	7	SAN PEDRO	160	165	178	Beta	1,54E-03	-
	9	SAN PEDRO	153	160	174	Beta, Sulfa	4,06E-03	1,07E-03
	11	PITA	170	175	186	Beta	3,83E-04	-
	12	PITA	175	177	188	Beta, Sulfa	1,91E-04	4,16E-05
	13	PITA	175	177	188	Beta	1,91E-04	-

Tabla 6.

Concentraciones de las muestras positivas tanto con antibiótico betalactámico como con antibiótico sulfamida. Donde, banda roja R, banda verde G, banda azul B, betalactamicos "Beta" y sulfamidas "Sulfa".

Tomar en cuenta que son 13 muestras en total a lo largo de los ríos en estudio, estos resultados servirán de gran ayuda para su análisis posterior en mapas ilustrativos de la situación de los antibióticos y la relación de estas concentraciones con otras variables consideradas dentro del estudio.

3.4 Mapas de Estudio de Resultados

Con los datos calculados anteriormente podemos desarrollar mapas q nos ayudarían a entender la ubicación de los puntos y sus determinadas características tanto como valoración de los mismos e incluso se presenta la dispersión de los antibióticos alrededor de la zona de estudio, quedando de esta manera:

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

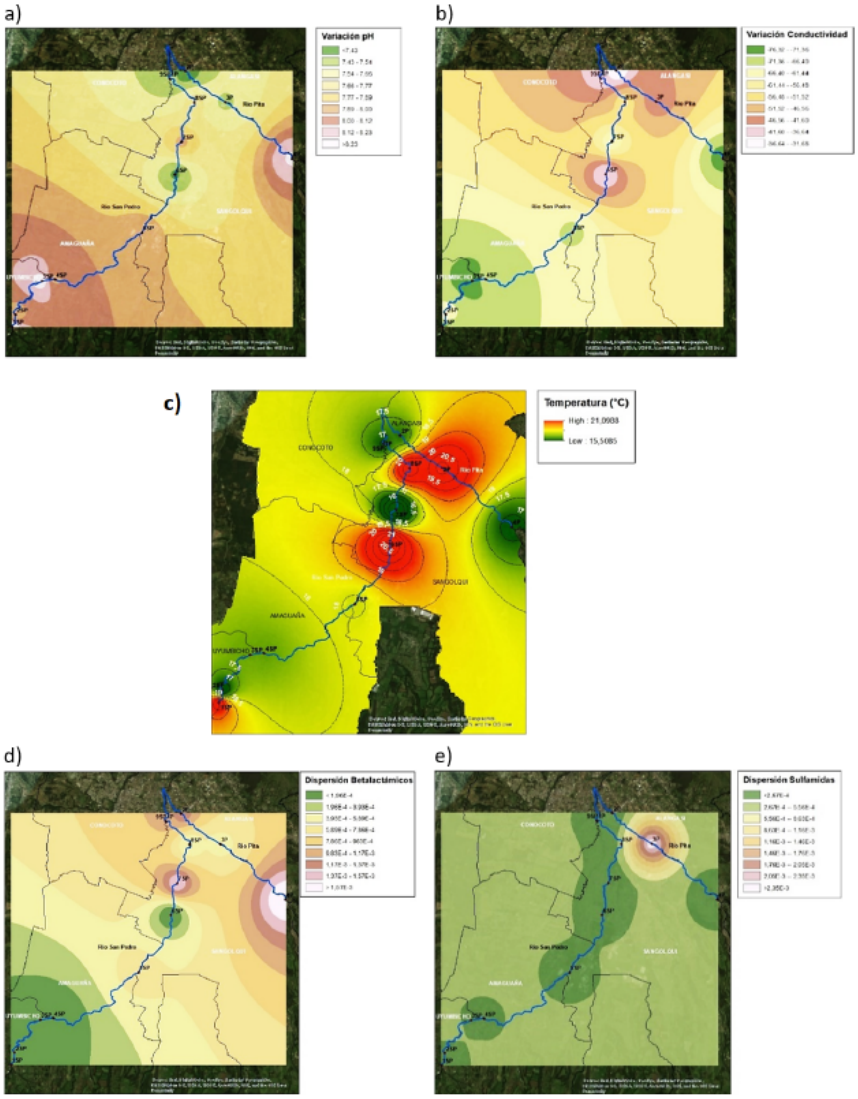

Figura 4.

Mapas ilustrativos acerca de las condiciones en las que se presentó el estudio donde: a) Condición del pH en la zona, b) Condición de la conductividad en la zona, c) Condición de la temperatura (presentado con isotermas) de la zona, d) Dispersión del antibiótico betalactámico en la zona y e) Dispersión del antibiótico sulfamida en la zona (Arcgis 2016).

Por lo tanto, a partir de la Figura 4, dichos gráficos ayudan a determinar: la variación de pH en la zona va desde el valor de 7,14 a 8,51 considerando que el agua de los ríos se mantiene en un nivel neutro a básico, la conductividad se estimó en un rango de 13,67 mS a 82,00 mS, teniendo valores más altos en sectores aledaños al río Pita, con respecto a la temperatura se tiene una variación entre 14,15°C y 26,45°C. Con respecto a los antibióticos encontrados, hablando de los betalactámicos, este tiene mayor concentración en los puntos 7 del río San Pedro y 4 del río Pita, con valores de concentraciones entre y . Mientras que en lo referente a las sulfamidas se consideró que el punto más alto de concentración del mismo fue el punto 3 del río Pita, con valores entre y

4. Discusión

Una vez analizados los resultados de cada uno de los ríos notamos, que en relación a condiciones ambientales como el pH y la temperatura; ambos ríos presentaron condiciones similares, a pesar de que, con la conductividad hay una diferencia de 26,03 mS, siendo mayor la conductividad del río Pita. Los resultados demostraron que existen antibióticos en el agua de los ríos San Pedro y Pita, los resultados obtenidos son similares a los valores de 36,5 y 50%, reportados por otros investigadores en la detección de betalactámicos en leche cruda y pasteurizada (Khaskheli, Malik, Arain, Soomro, & Arain, 2008) relacionada con la cercanía de estas industrias a la zona de muestreo. La presencia de industrias aledañas a los ríos, que tienen como efluente el cauce del río, contribuyen a la contaminación de los ríos, además de que existen zonas en las que hay actividad agrícola y demás actividades agroindustriales, sin despreciar la existencia de efluentes domésticos y como una importante fracción de fármacos que son consumidos en grandes cantidades y variedad luego de su ingesta se excretan por el individuo a través de orina y heces, ingresando de manera continua a las aguas residuales (Elorriaga, Carriquiriborde, & Ronco, 2012). Estudios sobre el consumo de fármacos en los países de la UE, cifra estos antibióticos en toneladas por año, y muchos de los más usados, entre ellos los antibióticos, se emplean en cantidades similares a las de los pesticidas (L. D. Barceló & López, 2012; Jones, Voulvoulis, & Lester, 2010). Entre los fármacos más usados u ocupados en medicina, destacan los antibióticos, como la amoxicilina y el sulfametoxazol, y entre los antibióticos con mayor reporte en los cuerpos de agua están las tetraciclinas (Dang, Zhang, Song, Chang, & Yang, 2007), como se han identificado también, omitiendo el hecho que no hubo presencia de tetraciclinas en los muestreos del estudio realizado. A partir del análisis de varianza y las curvas de calibración, se comprueba que los resultados obtenidos señalan que el porcentaje de recuperación, es de un 96%. El coeficiente de correlación (R^2) de la curva de calibrado es 0,9946 y el coeficiente de variación 1,86% (Aguilera, Herrera, and Ponce 2010). Para nuestro caso, fue un valor del coeficiente de correlación (R^2) de la curva de calibrado entre 0,9484 y 0,9648 valores cercanos para el método aplicado, donde se considera que para valores superiores a 0,95 son aceptables para el análisis. Para la mayoría de las pruebas con microorganismos sensibles, el betalactámico se comporta como bactericida porque la concentración bactericida mínima (CBM), o la concentración mínima de antimicrobiano elimino el 99,9% de los microorganismos viables (Taroco, Seija, and Vignoli 2008). Esto también se ha discutido con respecto a valores máximas de concentraciones de los antibióticos presentes en aguas residuales en estudios realizados en Estados Unidos, para el caso de los betalactámicos se verificó el valor de la amoxicilina, la cual se encontró en un valor de 150 ug/l y para las sulfamidas como muestra la sulfametoxazol con una máxima concentración de alrededor de 2,8 ug/l (Kim and Aga 2007; Kim et al. 2007; Morse and Jackson 2003). Mientras

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

que el análisis del agua del río Sena en Francia, debido a que analizan los antibióticos en estudio y a su relación con las actividades humanas como agricultura e industrial se tomó en cuenta para la comparación, presentando antibióticos en concentraciones que alcanzan 544 ng/l. En condiciones de pH de 7 y temperatura de 4°C (Tamtam et al. 2008). Valores que para la comparación con nuestro estudio serían de: mg/L de betalactámicos y mg/L y, los valores de los resultados de los muestreos son de: mg/L de betalactámicos y mg/L de sulfamidas, cuya diferencia se debe a la cantidad de la muestra tomada ya que en el estudio de Estados Unidos se tomó una muestra de 0.1 mL (Morse and Jackson 2003; Kim et al. 2007), mientras que para nuestra investigación se ocupó 1 ml de muestra. No existe un ensayo estandarizado para evaluar la susceptibilidad o resistencia de las bacterias del medio ambiente (Esiobu, Armenta, & Ike, 2013).

5. Conclusiones

El estudio realizado en las parroquias de Uyumbicho – Amaguaña – Sangolquí, nos indica que existe un problema de contaminación por materia orgánica y otros desechos, especialmente en las zonas donde existen centros poblados como Amaguaña, por donde el río San Pedro atraviesa la parroquia, al igual que en la Parroquia de Sangolquí que es atravesada por el río Pita, estos resultados se obtuvieron al analizar las siembras de microorganismos, que se realizaron en el laboratorio obteniendo la presencia de bacterias, que en su mayoría, solo se encuentra en la materia orgánica, debido a su crecimiento en los medios de cultivo que determinan dicha afirmación. Los casos positivos en las muestras con antibióticos se presentaron en mayor número a los derivados de betalactámicos, seguidos de sulfamidas y para las tetraciclinas no se presentó ningún resultado, despreciándose así los cálculos según los resultados que se obtuvieron del kit. En los tres meses de muestreo se recolectaron y se analizaron las muestras de agua de los ríos, en la que existió mayor presencia de casos positivos, fue en el mes de enero con una cantidad de 16 casos positivos del total de 41 casos positivos para los tres meses de muestreos, el cual representa el 39% de las muestras positivas.

Agradecimientos

Este proyecto es financiado por la Universidad Politécnica Salesiana (proyecto de investigación I89) con sede en Quito – Ecuador, sin este apoyo no hubiera sido posible llevar a buen fin el mismo,

Referencias

Aguilera, Cristian, Carlos Herrera, and Jorge Ponce. 2010. "Implementacion, Validacion y Aplicacion de Un Nuevo Metodo Para La Determinacion de Oxitetraciclina Por HPLC En Tejido Muscular de Salmonideos." *Latin*

American Journal of Aquatic Research 38 (2): 227–233. Online: https://bit.ly/2VkreSZ.

Alvarez-Mendoza, Cesar I., Ana Teodoro, and Lenin Ramirez-Cando. 2019. "Improving NDVI by Removing Cirrus Clouds with Optical Remote Sensing Data from Landsat-8 – A Case Study in Quito, Ecuador." *Remote Sensing Applications: Society and Environment* 13 (October 2018). Elsevier B.V.: 257–74.Online: https://bit.ly/2MeMY2i

Alvarez-Mendoza, Cesar I, Ana Teodoro, Nelly Torres, Valeria Vivanco, and Lenin Ramirez-Cando. 2018. "Comparison of Satellite Remote Sensing Data in the Retrieve of PM10 Air Pollutant over Quito, Ecuador." *In Remote Sensing Technologies and Applications in Urban Environments III*. Online: https://bit.ly/2IDCIzB

Amaguaña, GAD. 2013. "ACTUALIZACIÓN DEL PLAN DE DESARROLLO Y ORDENAMIENTO TERRITORIAL GAD PARROQUIAL DE AMAGUAÑA – D.M.Q" 1: 2015.

APHA. 1970. "Standard Methods for the Examination of Dairy Products." 15th ed. APHA. (1985); ISO 4833:2003.

Arcgis, ESRI. 2016. "ARCGIS-ARCMAP 10.3."

Barceló, D. 2003. "Emerging Pollutants in Water Analysis." *Trends in Analytical Chemistry* Vol 22 N°: XIV–XVI. Online: https://bit.ly/2XtDfY7

CIJUL. 2013. "EL DERECHO A UN AMBIENTE SANO Y ECOLÓGICAMENTE EQUILIBRADO COMO DERECHO HUMANO DE TERCERA," Centro de informacion en linea. 1–44.

Cristina, Escorial-maría, and San Lorenzo. 2005. "Errores Frecuentes En La Interpretación Del Coeficiente de Determinación Lineal." *Anuario Jurídico y Económico Escurialense,* X X X V I I I (2005) 315-332 / I S S N: 11 3 3 - 3 6 7 7.

Dosal, María A., and Marcos Villanueva. 2008. "INTRODUCCIÓN A LA METROLOGÍA QUÍMICA:Curvas de Calibración En Los Métodos Analíticos." *Antología De Química Analítica Experimental,* 18–25.

Elena, Ana, Narro Ramírez, and Alfonso García Gutiérrez. n.d. "Las Matemáticas Limpian El Agua."

Ferrer, Imma, and E. Michael Thurman. 2012. "Analysis of 100 Pharmaceuticals and Their Degradates in Water Samples by Liquid Chromatography/Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry." *Journal of Chromatography A 1259*. Elsevier B.V.: 148–57. Online: https://bit.ly/2TctxdF

Gimeno, Emilio. 2001. "La Resistencia Bacteriana Transmitida Al Hombre a Través de Los Alimentos y El Uso Responsable de Los Antimicrobianos Como Moduladores de Crecimiento," 64.

Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Rumiñahui. 2014. "Plan De Desarrollo Y Ordenamiento Territorial de Rumiñahui," 142.

Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial rural de Uyumbicho 2014 - 2019. 2015. "Actualización Del Plan Del Desarrollo y Ordenamiento Territorial de La Parroquia Rural de Uyumbicho 2015 - 2019."

Guevara, Maria F, and Lenin Javier Ramirez-Cando. 2015. "Eichhornia Crassipes, ITS INVASIVENESS AND PHYTOREMEDIATION POTENTIAL." La Granja 22 (1): 18–25. Online: https://bit.ly/2NALSMc

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Henríquez-Villa, D. 2012. "Presencia de Contaminantes Emergentes En Aguas y Su Impacto En El Ecosistema. Productos Farmacéuticos En La Cuenca Del Río Biobío, Región Del Biobío, Chile," 138. Online: https://bit.ly/2Epn6vu

Kim, Sungpyo, and Diana S. Aga. 2007. "Potential Ecological and Human Health Impacts of Antibiotics and Antibiotic-Resistant Bacteria from Wastewater Treatment Plants." Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews 10 (8): 559–73. Online: https://bit.ly/2tEjQ99

Kim, Sungpyo, James N. Jensen, Diana S. Aga, and A. Scott Weber. 2007. "Tetracycline as a Selector for Resistant Bacteria in Activated Sludge." *Chemosphere* 66 (9): 1643–51. Online: https://bit.ly/2SvQ2pb

Martínez Rodríguez, Elena (2005). «Errores frecuen-tes en la interpretación del coeficiente de deter-minación lineal». En: Anuario jurídico y económico escurialense 38, 315-331. Online:https : / / bit . ly /2IFLiOq.

Mátyás, B., M.E. Chiluisa Andrade, N.C. Yandun Chida, C.M. Taipe Velasco, D.E. Gavilanes Morales, G.N. Miño Montero, L.J. Ramirez Cando, and R.X. Lizano Acevedo. 2018. "Comparing Organic versus Conventional Soil Management on Soil Respiration." *F1000Research 7*. Online: https://bit.ly/2IGwLBR

Morse, Audra, and Andrew Jackson. 2003. "Fate of a Representative Pharmaceutical in the Environment," 35p. Online: https://bit.ly/2Nu7hq4

NTE INEM 2117. 2013. "NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 266#: 2013 Primera Revisión" First Edit: 7–12.

Olea, Fátima. 2016. "Técnicas Estadísticas Aplicadas En Nutrición y Salud."

Ramirez-Cando, Lenin Javier, Santiago Guerra, and Gabriela Reinoso. 2017. "IN VITRO EVALUATION OF LEAD REMOVAL IN WASTEWATER BY Photobacterium Damselae." *La Granja 26* (2): 64. Online: https://bit.ly/2HbBvxh

Ramírez-Cando, Lenin Javier, Spugnoli Paolo, Matteo Roberto, Bagatta Manuela, Tavarini Silvia, Foschi Lara, and Luca Lazzeri. 2017. "Environmental Assessment of Flax Straw Production for Non-Wood Pulp Mills." *Chemical Engineering Transactions* 58 (July). https://bit.ly/2T7EUo1

Reig, RM, and F Toldrá. 2008. "Veterinary Drug Residues in Meat: Concerns and Rapid Methods for Detection." *Meat Science* 78: 60–67. Online: https://bit.ly/2IGBmE7

RStudio. 2016. "RStudio Version 1.0.143." *Mozilla/5.0 (Windows NT 6.2; WOW64) AppleWebKit/538.1 (KHTML, like Gecko) Rstudio Safari/538.1* Qt/5.4.1.

Rumiñahui, GAD. (2014).Plan De Desarrollo Y Or-denamiento Territorial de Rumiñahui. Inf. téc. Go-bierno Autónomo Descentralizado del Cantón Rumiñahui

Scientific, BIOO. 2018. *"Pruebas de Tira de AuroFlowTM."* . PerkinElmer Company. © Copyright 2018 Bioo Scientific Corporation. 7050 Burleson Road, Austin TX, 78744 | 1-888-208-2246.

Talero, Verónica, Oscar Medina, and Wilson Rozo. 2014. "Técnicas Analíticas Contemporáneas Para La Identificación de Residuos de Sulfonamidas,

Quinolonas y Cloranfenicol." *Universitas Scientiarum* 19 (1): 11–28. Online: https://bit.ly/2IIuFl4

Tamtam, Fatima, Fabien Mercier, Barbara Le, Joëlle Eurin, Quoc Tuc, Michel Clément, Marc Chevreuil, et al. 2008. "Occurrence and Fate of Antibiotics in the Seine River in Various Hydrological Conditions" 93: 0–11. Online: https://bit.ly/2VtA7df

Taroco, R, V Seija, and R Vignoli. 2008. "Métodos de Estudio de La Sensibilidad Antibiótica." *Temas de Bacterología y Virología Médica 36* (Cim): 663–71.

Toledo, Metter. 2017. "SevenGo Duo TM PH / Conductivity Meter SG23."

Uyumbicho, GAD. (2014). Actualización Del Plan Del Desarrollo y Ordenamiento Territorial de La Parro-quia Rural de Uyumbicho 2015 - 2019. Inf. téc. Go-bierno Autónomo Descentralizado Parroquialrural de Uyumbicho 2014 - 2019

Volfredo, J. 2010. "Los Antimicrobianos En La Práctica Médica." *Medicina Intensiva,* 272.Online: https://bit.ly/2vNpl9I

Enlace alternativo

https://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/30.2019.08 (html)

PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto