



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA EN EL RÍO CUTUCHI DE DOS
COMUNIDADES DE ÁREA AGRÍCOLA EN LA PROVINCIA DE COTOPAXI Y SU
POSIBLE IMPLICACIÓN EN LA SALUD HUMANA**

Trabajo de Titulación previo a la obtención del
Título de Ingenieros Ambientales

**AUTORES: MICHELLE STEFANIA TACO SIMBAÑA
BRYAN DAVID USHIÑA TOMALO**

TUTOR: EDWIN FABIÀN BERSOSA VACA

Quito – Ecuador

2023

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Michelle Stefania Taco Simbaña con documento de identificación N.º 1727065722 y Bryan David Ushiña Tomalo con documento de identificación N.º 1725433781; manifestamos que:

Somos los autores y responsable del presente trabajo; y, autorizamos que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 27 de febrero del año 2023

Atentamente,



Michelle Stefania Taco Simbaña
1727065722



Bryan David Ushiña Tomalo
1725433781

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Michelle Stefania Taco Simbaña con documento de identificación No. 1727065722 y Bryan David Ushiña Tomalo con documento de identificación No. 1725433781, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo Experimental: “Calidad microbiológica del agua en el río Cutuchi de dos comunidades de área agrícola en la provincia de Cotopaxi y su posible implicación en la salud humana”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieros Ambientales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 27 de febrero del año 2023

Atentamente,



Michelle Stefania Taco Simbaña
1727065722



Bryan David Ushiña Tomalo
1725433781

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Edwin Fabián Bersosa Vaca con documento de identificación N° 1709204141, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA EN EL RÍO CUTUCHI DE DOS COMUNIDADES DE ÁREA AGRÍCOLA EN LA PROVINCIA DE COTOPAXI Y SU POSIBLE IMPLICACIÓN EN LA SALUD HUMANA, realizado por Michelle Stefania Taco Simbaña con documento de identificación N° 1727065722 y por Bryan David Ushiña Tomalo con documento de identificación N° 1725433781, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 27 de febrero del año 2023

Atentamente,



Dr. Edwin Fabián Bersosa Vaca, M.Sc.
1709204141

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a mi madre que es el amor de mi vida eternamente, por estar conmigo en todos los deslices de mi vida, sobre todo por jamás rendirse, también apoyarme en todos mis sueños y seguir luchando junto a mi sin importar que el mundo se nos venga encima y adjudicarte el cansancio por mí para darme lo mejor, esto es tuyo intrínseca mía.

A mi padre, por apoyarme en todas las etapas educativas y en especial por dejar que me convierta en profesional.

A mis hermanos, mis dos compañeros de vida por seguir conmigo en mis alegrías y también tristezas, por siempre tenernos los unos a los otros, las palabras no representan todo el amor, orgullo, admiración y respeto que les tengo.

A mi cuñada, mi amiga, mi nueva hermana, por compartirme tus conocimientos y sobre todo por generar confianza en mí que puedo y podre con todo.

A mis sobrinas Emma y Violetta que son mi alegría, por sus abrazos, sus besos imprevistos cuando más lo necesito, sobre todo seguir brindándome su inocencia y darme su amor más puro.

También se la dedico a mi rayo de luz, aunque partiste pronto de este mundo terrenal siempre vives en mis recuerdos, en lo profundo de mi corazón.

Y finalmente, a mí, por estar cumpliendo mis propias metas, a pesar de que los últimos años han sido turbulentos, sigo luchando, siendo mejor cada día, pero sobre todo estar en búsqueda de mi verdadera felicidad.

Michelle Taco

Le dedico el resultado de este trabajo principalmente, a mis padres Ruberto y Rocío quienes me apoyaron y nunca me dejaron caer, quienes me aconsejaban, quienes estuvieron conmigo en los momentos buenos y malos. Gracias por enseñarme a afrontar las dificultades sin perder nunca la cabeza ni morir en el intento.

Me han enseñado a ser la persona que soy hoy, mis principios, mis valores, mi perseverancia y mi empeño. Todo esto con una enorme dosis de amor y sin pedir nada a cambio.

También quiero agradecer a mi hermano Dilan, quien me ha ayudado en varias ocasiones, también, quiero dedicarle este trabajo a mi hermanita Hadalía. Su nacimiento, ya sea por casualidad, ha coincidido con la finalización de esta tesis. Sin duda ella es lo mejor que me ha pasado, y ha llegado en el momento justo para darme el último empujón que me faltaba para terminar el proyecto.

David Ushiña

AGRADECIMIENTO

Esta tesis fue posible realizarla gracias al apoyo de NAEMLAB, por permitirme utilizar su laboratorio y todo lo necesario para que este estudio sea favorable, además de hacerme sentir como un miembro más de su equipo de trabajo adquiriendo conocimientos valiosos para mi carrera profesional, sobre todo de haber conocido y construido una amistad bonita con Pauli la mujer más apasionada por microbiología.

Agradezco a mi familia que siempre van a estar ahí conmigo como un soporte firme, apoyándose en las decisiones que tome para mi provenir.

Gracias a mis tíos: Aníbal, Marianita, Rosita, Luis y Mari porque con todo su cariño me han brindado consejos, al igual con su apoyo incondicional en momentos difíciles.

También quiero agradecer a mis primos Daniel y Lucero por compartir tantos años de experiencias, de risas, de llanto, por unirnos más cada día y confiar mutuamente.

Y, por supuesto, a mis AVENGERS, mis amigos para toda la vida, sin olvidar a los nuevos integrantes, ustedes son parte fundamental para mí, gracias por compartir los momentos más elocuentes, divertidos e inolvidables. "Si no podemos proteger la Tierra, pueden estar seguros de que la vengaremos".

Finalmente, un agradecimiento a mi tutor el Dr. Fabian Bersosa por darnos su tiempo y su confianza durante el transcurso del trabajo de titulación.

Michelle Taco

Agradezco a ustedes, mis padres que han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles. Siempre han sido mis mejores guías de vida.

Hoy cuando concluyo mis estudios, les dedico a ustedes este logro, amados padres, como una meta más conquistada.

Me siento muy orgulloso de tener unos padres como ustedes, por siempre aconsejarnos y nunca dejarnos solos.

Un agradecimiento a mi tutor el Dr. Fabian Bersosa por darnos su tiempo y su confianza durante el transcurso del trabajo de titulación.

David Ushiña

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUCCIÓN	17
1.1 Problema	17
1.2 Ubicación del área de estudio	18
1.3 Pregunta de investigación	19
1.4 Objetivos	19
1.4.1 Objetivo General	19
1.4.2 Objetivos Específicos	19
1.5 Hipótesis	20
1.5.1. Hipótesis nula	20
1.5.2. Hipótesis alternativa	20
2. FUNDAMENTACIÓN TEÒRICA	21
2.1 Microbiología del Agua	21
2.1.1 Microbiología	21
2.2.2 Microbiología del río Cutuchi	21
2.2 Contaminantes en el río Cutuchi.....	22
2.3 Calidad del Agua.....	23
2.3.1 Plan Nacional del Buen Vivir (PNBV)	24

2.3.2 Política Sectorial del Agua	24
2.4 El índice de calidad de agua (ICA)	25
2.5 Factores Ambientales	26
2.5.1 Temperatura	26
2.5.2 pH	26
2.6 Contaminación fecal en aguas	26
2.7 Indicadores de contaminación fecal de aguas	28
2.8 Coliformes Totales	28
2.8.1 Escherichia coli	29
2.8.2 Streptococos Fecales	29
2.9 Salud Humana	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1 Tipo y diseño de la investigación	33
3.2 Diseño estadístico	34
3.3 Protocolos	35
3.3.1 Área de estudio	35
3.3.3. Delimitación del Río Cutuchi	35
3.4 Metodología (Procedimiento)	38
3.4.1 Análisis estadístico	38
3.5 Procedimiento para la toma de muestras de campo	38
3.6 Procedimiento de laboratorio	39

3.7	Identificación de bacterias	44
3.7.1	<i>Técnica de asilamiento de bacterias</i>	44
3.7.2	<i>Identificación por lactosa</i>	44
3.7.3	<i>Identificación bioquímica</i>	45
3.8	Recuento de bacterias totales por <i>NMP</i>	45
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1	Resultados	47
4.1.1	<i>pH (Potencial de Hidrogeno)</i>	47
4.1.2	<i>Temperatura</i>	51
4.1.3	<i>Identificación de bacterias</i>	55
4.1.4	<i>Recuento de coliformes fecales</i>	63
4.4	Discusión	68
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	70
5.1	Conclusiones	70
5.2	Recomendaciones	71
6.	BIBLIOGRAFÍA	72
7.	ANEXOS	76
		88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Casos de etapas a nivel nacional Ecuador 2017-2021	30
Tabla 2	Diseño experimental	33
Tabla 3	Tratamientos	34
Tabla 4	Puntos de toma de muestra	37
Tabla 5	pH del río Cutuchi.....	47
Tabla 6	Resultados obtenidos de los análisis in situ para el pH del río Cutuchi en el mes de noviembre.	49
Tabla 7	Resultados de Temperatura del río Cutuchi.....	51
Tabla 8	Resultados de Temperatura del río Cutuchi.....	53
Tabla 9	Agar Sangre primeras muestras	56
Tabla 10	Agar Sangre segundas muestras	56
Tabla 11	Agar MacConkey primeras muestras.....	57
Tabla 12	Agar MacConkey segundas muestras	59
Tabla 13	Agar nutriente primeras muestras	60
Tabla 14	Agar nutriente primeras muestras	60
Tabla 15	Agar Manitol primeras muestras.....	61
Tabla 16	Agar Manitol primeras muestras.....	61
Tabla 17	Bioquímica para colonias.....	62
Tabla 18	Resultado de coliformes fecales en el mes de octubre.....	63
Tabla 19	Resultado de coliformes fecales en el mes de noviembre.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Río Cutuchi y sus poblaciones agrícolas aledañas	18
Figura 2 Puntos de muestreo del río Cutuchi.....	37
Figura 3 Comparación del pH obtenido en el punto 1 con los límites permisibles.	47
Figura 4 Comparación del pH obtenido en el punto 2 con los límites permisibles.	48
Figura 5 Comparación del pH obtenido en el punto 1 con los límites permisibles.	49
Figura 6 Comparación del pH obtenido en el punto 2 con los límites permisibles.	50
Figura 7 Comparación de la temperatura obtenida en el punto 1 con los límites permisibles.	52
Figura 8 Comparación de la temperatura obtenida en el punto 2 con los límites permisibles.	52
Figura 9 Comparación de la temperatura obtenida en el punto 1 con los límites permisibles.	54
Figura 10 Comparación de la temperatura obtenida en el punto 2 con los límites permisibles.	54
Figura 11 Comparación de coliformes del punto 1 del río Cutuchi con los límites permisibles.	64
Figura 12 Comparación de coliformes del punto 2 del río Cutuchi con los límites permisibles.	64
Figura 13 Comparación de coliformes del punto 1 del río Cutuchi con los límites permisibles.	65
Figura 14 Comparación de coliformes del punto 2 del río Cutuchi con los límites permisibles.	66
Figura 15 Coliformes fecales en el río Cutuchi	67

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Río Cutuchi puntos de muestreo	76
Anexo 2	Recolección de muestra	77
Anexo 3	Etiquetado de muestras	77
Anexo 4	Medición de pH y temperatura.....	78
Anexo 5	Preparación de diferentes agares.....	78
Anexo 6	Siembra por estriado de las muestras del río Cutuchi	81
Anexo 7	Siembra de muestras por la técnica de disolución en tubos	82
Anexo 8	Siembra de muestra en caldo de cultivo.....	82
Anexo 9	Siembra por estriado de primeras muestras	83
Anexo 10	Resultados de segundas muestras en agares	84
Anexo 11	Aislamiento de las segundas muestras	85
Anexo 12	Identificación bioquímica de bacterias	86
Anexo 13	Valores permisibles de la norma del libro VI del texto unificado de legislación secundaria del ministerio del ambiente: norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua.....	86
Anexo 14	Tríptico utilizado para la sociabilización	87

RESUMEN

En la presente investigación se determinó la calidad microbiológica del agua en el río Cutuchi provincia de Cotopaxi, con el objetivo de determinar la presencia de microorganismos patógenos para el ser humano en aguas de uso agrícola para irrigación de cultivos o actividades conexas en las diferentes comunidades, mediante el método de recuento total de bacterias por disolución de tubos y la respectiva identificación por técnicas confirmantes del tipo de bacteria, este con el fin de informar a la población aledaña una valoración estadística de unidades formadas de colonias del cuerpo de agua y las posibles afecciones a la salud.

La calidad del agua son factores de gran interés para asegurar bioindicadores aptos para la actividad agrícola, en el caso del río Cutuchi se tomó muestras de dos puntos de las comunidades aledañas estas fueron: Tiobamba y San Rafael del Tingo donde se procedió a hacer los respectivos de análisis de laboratorio por siembra de estriado en placas que contenían 4 agares: Nutriente, Manitol, Sangre y MacConkey en estos se realizó la diferenciación por técnicas bioquímicas, y lactosa encontrando bacterias gran negativas de las familias *Escherichia*, *Enterobacter*, *Shigella* y *Pseudomonas* además se identificó la presencia de coliformes fecales en el río Cutuchi, las misma que puede llegar a causar graves enfermedades a la salud humana, ya que este río es utilizado para riego y consumo de los animales, este río llega a tener un promedio de 23 UFC/100mL a 23,67 UFC/100mL, los cuales comparando con la norma se encuentran por encima de los límites establecidos por el Libro VI Anexo I del TULSMA, el cual especifica que el valor máximo permisible de 20 UFC/100mL.

ABSTRACT

In the present investigation, the microbiological quality of the water in the Cutuchi river in the province of Cotopaxi was determined with the objective of determining the presence of pathogenic microorganisms for humans in water used for agricultural irrigation of crops or related activities in the different communities, using the method of total bacterial count by dissolution of tubes and the respective identification by confirmatory techniques of the type of bacteria, in order to inform the surrounding population of a statistical evaluation of units formed by colonies of the body of water and possible health affections.

In the case of the Cutuchi river, samples were taken from two points in the surrounding communities: Tiobamba and San Rafael del Tingo, where the respective laboratory analyses were carried out by sowing striations on plates containing 4 agars: Nutrient, Mannitol, Blood and MacConkey in these the differentiation was made by biochemical techniques, and lactose finding large negative bacteria of the families *Escherichia*, *Enterobacter*, *Shigella* and *Pseudomonas* also identified the presence of fecal coliforms in the river Cutuchi, the same that can cause serious diseases to human health, Since this river is used for irrigation and animal consumption, this river has an average of 23 CFU/100mL to 23.67 CFU/100mL, which compared to the norm are above the limits established by Book VI Annex I of the TULSMA, which specifies that the maximum permissible value of 20 CFU/100mL.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Problema

El agua empleada para el riego de cultivos es del 70 %, (ONU,2011) el mismo que tiene un papel fundamental con respecto a la irrigación y producción de alimentos, por lo cual la calidad del agua son factores de gran interés para asegurar bioindicadores aptos para la actividad agrícola. La mala calidad de agua es un problema de salud pública tanto a consumidores como comerciantes en los diferentes mercados del país como es el caso del río Cutuchi provincia de Cotopaxi en las diferentes comunidades reciben agua del río según Castro (2020) estudios del 2013, están altamente contaminadas en todo su cause desde el sector de Laso hasta el canal de riego Latacunga-Salcedo-Ambato. Las propiedades naturales del agua en toda la cuenca del río son una limitante para la mejora de productividad agropecuaria.

Según, Lara (2005) "Es necesario realizar estudios completos para demostrar la factibilidad técnica, social, económica y ambiental de proyectos que pretendan aprovechar las tierras fértiles que no cuentan actualmente con sistemas de riego". Es necesario tomar en cuenta esta opinión, ya que las comunidades indígenas de nuestro país por años se han dedicado a agricultura por ello el saneamiento e higiene del agua tanto para consumo y riego, en el caso de análisis microbiológico contribuirá a que no se produzcan enfermedades por lavar o irrigar los alimentos con el agua de estudio. En base a los estudios hídricos realizados en el río Cutuchi, se decreta estado de excepción en 2009, este fue con la intención de solucionar la emergencia provocada por altos niveles de contaminación del sistema de riego Latacunga-Salcedo-Ambato, que afecta a la subcuenca del río Cutuchi, donde la población involucrada era aquella que se abastece con los alimentos producidos en la zona (Cornejo, 2015). En los escenarios analizados según Quingaluisa (2019), la contaminación continúa sobrepasando los límites permisibles de acuerdo al índice de calidad de agua, lo que demuestra que las densidades de microorganismos son resistentes en el río Cutuchi conforme al análisis de *E. coli* de pruebas

de sensibilidad llamados antibiogramas, la bacteria es resistente a ceftriaxona/ E. colts totales, quiere decir que la resistencia a este antibiótico ya no ayudará a sanar la infección bacteriana de una persona. El río posee densidades de bacterias entéricas (microorganismo que habitan en el intestino de los animales y personas) presentado un fenotipo de resistencia.

1.2 Ubicación del área de estudio

El río Cutuchi está ubicado en la provincia de Cotopaxi, con su cantón Latacunga su recorrido es de norte a sur por los cantones Salcedo, Píllaro y Ambato.

Las zonas con mayor influencia en el ámbito agrícola son las comunidades de Tiobamba y San Rafael que justamente están ubicadas alrededor del río.

Para tomar la referencia del río para su estudio se estableció como metodología el criterio topográfico al igual que la herramienta de Google Earth, para delimitar la zona de muestreo se empleó el software ArcGis para ubicar por coordenadas geográficas los puntos de muestreo, al igual para representar gráficamente lo que se encontró en cuerpo de agua.

Figura 1

Río Cutuchi y sus poblaciones agrícolas aledañas



Nota: Ubicación por Google Earth de la zona agrícola del río Cutuchi.

1.3 Pregunta de investigación

¿Cuál es la calidad microbiológica del agua de riego proveniente del río Cutuchi?

¿Cómo influye los parámetros físicos y microbiológicos de la calidad del agua en la salud humana?

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Determinar la presencia de microorganismos patógenos para el ser humano en aguas de uso agrícola para irrigación de cultivos o actividades conexas obtenidas del río Cutuchi en las diferentes comunidades, mediante el método de recuento total de bacterias y la respectiva identificación, con el fin de informar una valoración estadística de unidades formadas de colonias y las posibles afecciones a la salud.

1.4.2 Objetivos Específicos

Aislar microorganismos patógenos del río Cutuchi aplicando el método de recuento total de bacterias viables e identificación de cada una de ellas para permitir conocer que bacterias se encuentran presentes de esta manera asegurando la calidad sanitaria y bioindicadores aptos para su uso, así mismo como un asunto de salud pública.

Medir los parámetros físicos in situ del agua con los equipos correspondientes, en dos comunidades aledañas al río Cutuchi para constatar el desarrollo de microorganismos en el agua.

Socializar con las comunidades aledañas al río, respecto a los resultados de valoración estadística de crecimiento de microorganismos mediante el método de número más probable (NMP), además de identificar las bacterias presentes en el efluente con el fin de advertir con qué tipo de enfermedades u infecciones bacterianas están expuestas por el uso del agua del efluente para uso de riego.

1.5 Hipótesis

Caso Uno: Río limpio

1.5.1. Hipótesis nula

La calidad microbiológica del agua en el río Cutuchi son iguales.

1.5.2. Hipótesis alternativa

La calidad microbiológica del agua en el río Cutuchi son diferente.

2. FUNDAMENTACIÒN TEÒRICA

2.1 Microbiología del Agua

2.1.1 Microbiología

La microbiología es una rama de la biología que estudia seres vivientes de tamaño microscópico que existen como células aisladas, también incluye el estudio de virus (microscópicos no celulares). Los microorganismos a diferencia de los macroorganismos son capaces de llevar a cabo procesos de crecimiento, generación de energía y reproducción, independientemente de otras células sean del mismo tipo o diferentes. (Apella, 2005)

Para considerar la relación que existe entre calidad de agua y salud humana, es fundamental incluir el concepto de microbiología, a partir de ello valorar la presencia de organismos microscópicos en agua potable, los efectos de competencia y/o sinérgicos de las distintas especies y la posibilidad de aplicar tecnologías de desinfección. (Apella, 2005)

Estudiar la microbiología es muy importante, ya que se va a realizar un análisis del río Cutuchi para poder saber si el río es apto o no para el consumo humano y para el uso agrícola en esta cuenca se asienta la menor cantidad de población de la provincia, lo que ha permitido la conservación de sus cursos de agua en condiciones naturales.

2.2.2 Microbiología del río Cutuchi

El diario El Telégrafo manifiesta que el río Cutuchi del cual se toman sus aguas para el sistema de riego Latacunga, Salcedo y Ambato, se encuentra contaminando. Se ha realizado una investigación en el año 2009 y 2010 en donde se encontraron contaminantes biológicos, patógenos y hasta elementos tóxicos que llegan a sobrepasar la norma ambiental, se encontraron contaminantes como: cadmio, cromo, manganeso, selenio y arsénico, estos están contaminando alrededor de 17000 familias que usan el agua en 24000 ha de cultivo. (Telégrafo, 2010)

El diario el Telégrafo no es el único que ha dado su reporte sobre la contaminación del río Cutuchi, en noviembre el diario La Hora también reportó que el río se ha detectado la presencia de contaminantes biológicos como: *coliformes fecales*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa*, los cuales traen consigo enfermedades para la población aledaña al río.

La contaminación a los ríos es un problema preocupante actualmente por el excedente de contaminación que genera la sobrepoblación, investigaciones están en la búsqueda de alternativas o soluciones a los impactos que genera el humano.

Un asunto común en la agricultura es la implementación de fertilizantes agrícolas para los cultivos los mismos que son arrastrados por las aguas de canales de riego desembocados directamente al río.

2.2 Contaminantes en el río Cutuchi

La contaminación del río Cutuchi se produce por las descargas de contaminantes producidas por industrias como por pobladores que colindan con dicho río. Dichas industrias no aplican la normativa ecuatoriana de calidad de aguas respecto a las descargas de contaminantes hacia los efluentes.

Se han efectuado distintos estudios sobre la situación actual del río Cutuchi, en el cual se han implementado proyectos para de una u otra forma poder ayudar a detener la contaminación y daños ocasionados al río, ya que los ganaderos aledaños a este río utilizan el agua para hidratar al ganado, los cuales son utilizados para la producción de leche y carne para el consumo humano. (Barrera, 2020)

La degeneración de la calidad del agua pone en peligro los ecosistemas acuáticos, afecta la salud humana y obstaculiza el desarrollo social y económico. El río recibe aguas residuales de al menos 88 empresas relacionadas con la agricultura (57%), industrias (16%),

petroleras (23%) y otras (4%). Además de las aguas residuales, el río Cutuchi no recibe menos de 1,8 toneladas de basura por día.

En la Universidad Técnica de Cotopaxi los estudiantes de la carrera de ingeniería ambiental desarrollo un proyecto para la implementación de franjas riparias como contribución para el mejoramiento de la calidad de agua en el río Cutuchi. (Fernández, 2017)

La secretaria del agua ha desarrollado una serie de proyectos de infraestructura, en donde su objetivo es recuperar la calidad del agua, en especial del río Cutuchi, la recuperación a la mencionada cuenca es aprovechar el recurso hídrico en proyectos de riego, agua potable y saneamiento ambiental. (Bustamante, 2012)

Se ha implementado un programa de recuperación de la cuenca del río Cutuchi se encuentran: ·

- Control de descargas domesticas mediante la implementación de un sistema de colectores marginales y la construcción de una PTAR.
- Plan de gestión y de calidad de las aguas para un apropiado manejo de conservación de la cuenca específicamente referida a la calidad u usos del recurso agua.

2.3 Calidad del Agua

La contaminación del agua es una lista de concentraciones, específicas y aspectos físicos de sustancias orgánicas e inorgánicas que están presentes en el cuerpo de agua, además que esta contaminación ha sido introducida por el hombre directa o indirectamente de sustancias lo cual resultan problemas referentes a los organismos vivos y sobre todo efectos a la salud humana. (Ramírez, 2011)

El Ecuador alineándose a los Objetivos de Desarrollo Sostenible formuló la Estrategia Nacional de la Calidad del Agua (ENCA) con el fin de mejorar y proteger la calidad de los recursos hídricos, sus ecosistemas, la calidad de vida de la población, la seguridad alimentaria, así como el control y vigilancia de los agentes contaminantes de las fuentes naturales a nivel nacional. (SENAGUA, 2016)

Formular una estrategia para la calidad del agua es importante, ya que esta estrategia está hecha para articular acciones relacionadas con el recurso hídrico, desarrollando así planes de acción para un buen vivir.

2.3.1 Plan Nacional del Buen Vivir (PNBV)

El PNBV contempla dentro de sus objetivos el garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental, territorial y global. En este sentido, se establecen dos políticas claves vinculados directamente con los objetivos de la Estrategia de Calidad del Agua, siendo estos los de: gestionar de manera sustentable y participativa el patrimonio hídrico, con enfoque de cuencas y caudales ecológicos para asegurar el derecho humano al agua; y, el de prevenir, controlar y mitigar la contaminación ambiental en los procesos de extracción, producción, consumo y post consumo. (SENAGUA, 2016)

Este plan es importante ya que sustenta la noción del buen vivir es decir busca implementar la satisfacción de las necesidades, mejorar la calidad de vida en armonía con la naturaleza.

2.3.2 Política Sectorial del Agua

La calidad del agua la Política Sectorial del Agua establece dos grandes lineamientos enfocados a proteger y mejorar la calidad del Agua en el Ecuador, mismos que se detallan a continuación. (SENAGUA, 2016)

Conservar, recuperar y gestionar de manera sostenible los ecosistemas generadores del agua.

Garantizar de manera progresiva el acceso al agua, limpia, segura y permanente para consumo humano, y el suministro de agua para riego, que asegure la soberanía alimentaria, caudal ecológico y actividades productivas.

2.4.3 Calidad de agua para uso agrícola

La calidad de agua para el uso agrícola es aquella empleada para la irrigación de cultivos y otras actividades conexas o complementarias que establezcan los organismos competentes. Se prohíbe el uso de aguas servidas para el riego, exceptuándose las aguas servidas tratadas y que cumplan con los niveles de calidad establecidos en la norma. (Fernández, 2017)

2.4 El índice de calidad de agua (ICA)

En este índice de calidad se reconocen diferentes procedimientos para evaluar la calidad del agua, estos pueden reflejan el valor independiente de las diferentes propiedades del agua, hasta la definición de expresiones en las que se combinan algunas de las propiedades, según un interés predeterminado.

Con estas expresiones se puede reducir la naturaleza multivariada de los análisis sobre calidad de agua a un valor único, y conocer rápidamente cual es el “estado de salud” del sistema monitoreado.

Una manera de hacerlo es calcular un índice que combine matemáticamente a todas las medidas de calidad de agua y de esta manera provea una descripción general y fácilmente entendible de un cuerpo contaminado y reflejar la condición global del mismo. (Fernández, 2017)

El índice de calidad de agua propuesto por la NSF (Fundación Nacional de Saneamiento) se fundamenta en un procedimiento que tiene en cuenta el promedio aritmético ponderado de nueve variables.

2.5 Factores Ambientales

2.5.1 Temperatura

Este parámetro ambiental es uno de los más importantes según (Fernández, 2017) para el crecimiento de bacterias el cual controla la velocidad de crecimiento de una población que se los puede distinguir en tres puntos que son:

- Temperatura mínima: por debajo no hay crecimiento
- Temperatura máxima: por encima no hay crecimiento
- Temperatura óptima: mayor capacidad de crecimiento

2.5.2 pH

El pH es un parámetro crítico para el crecimiento microbiano por lo general viven en el pH neutro, según (Fernández, 2017) su clasificación es:

- Neutrófilos: igual a 7 (bacterias patógenas humanas)
- Acidófilos: menor a 7 (Hongos)
- Basófilos: mayor a 7

2.6 Contaminación fecal en aguas

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, los sistemas de saneamiento inapropiados constituyen un motivo importante de morbilidad en todo el mundo (OMS, 2013). La misma que garantizara El Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) informa que alrededor del 80% de las aguas residuales de origen humano son descartadas en cuerpos de agua sin tratamiento previo. (PNUD, 2016)

Este representa un problema a nivel mundial, en el caso de la investigación en el país, se encuentran varias deficiencias de las autoridades para hacer cumplir las leyes constitucionales y garantizar según los parámetros de calidad de un saneamiento de higiene a todos los ecuatorianos.

De acuerdo con el Programa Mundial de Ambiente de las Naciones Unidas (UNEP), alrededor del 15% de los ríos de América Latina, África y Asia presentan altos niveles de contaminación con patógenos, revelando un peligro notable con relación al consumo de agua y otros usos domésticos (UNEP, 2016).

La principal fuente de contaminación fecal son las aguas residuales de origen doméstico, debido a la presencia de altas densidades de microorganismos patógenos provenientes directamente de la excreta de personas y animales, y la actividad agrícola (Navntoft, 2010). Aunque el agua residual de uso doméstico ha representado un riesgo mayor por su consumo directo, todos sus respectivos usos, deben cumplir con los parámetros de la norma ambiental para calidad de agua.

De acuerdo con la información de la secretaria nacional del Agua en Ecuador, se estima que el 70% del agua de cuencas hídricas por debajo de 2.800 msnm, no es apta para el consumo humano directo, debido a la contaminación con microorganismos patógenos y la presencia de sustancias químicas tóxicas. (SENAGUA, 2016)

Este dato de SENAGUA manifiesta un aporte fundamental en la investigación de microorganismos para la respectiva evaluación al momento que evaluar el parámetro físico del río.

2.7 Indicadores de contaminación fecal de aguas

Los microorganismos patógenos que alteran la calidad de agua principalmente se encuentran: bacterias, virus y protozoos, es decir, las bacterias es un indicador de nivel patógenos fundamental en fuentes de agua.

Para la evaluación de contaminación fecal del agua son los colifagos somáticos estas son las especies emparentadas y funcionan como hospedadores de *E. Coli* por lo general son un modelo de comportamiento en cuanto a su resistencia a condiciones ambientales el mismo que servirá para el tratamiento de desinfección, para una mejor comprensión de los puede diferenciar por:

1. Microorganismos indicadores fecales

- Grupos coliformes
- Grupo coliforme fecal
- *Escherichia coli*
- Enterobacteriaceae
- *Streptococcus faecalis*
- *Clostridium sulfitorreductores*

2. Microorganismos indicadores no fecales

- Flora aeróbica mesófila
- Flora anaeróbica
- Flora psicotrófica
- Estafilococos
- Mohos, levaduras (ROMERO, 2009)

2.8 Coliformes Totales

Los coliformes totales incluyen a bacterias:

- *Enterobacter*
- *Citrobacter*
- *Enterichia*
- *Klebsiella* (Mora & Calvo, 2010)

Estas bacterias se caracterizan por ser microorganismos de origen fecal únicamente, soportan temperaturas elevadas, tienen una óptima capacidad de sobrevivir fuera del intestino, sobre todo porque las condiciones de materia orgánica, pH y humedad son propicios. Por lo tanto, son considerados indicadores de contaminación fecal de cuerpos de agua (Rivera2018) lo cual en este caso ayudara a diferenciar las bacterias en el método experimental, según la calidad del agua asociada a los valores relativos asignados a cada variable del *ICA-NSF* los coliformes fecales (CF) es 0,15.

2.8.1 *Escherichia coli*

E. coli es uno de los indicadores de contaminación fecal más utilizados, es un tipo de bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa de la familia Enterobacteriaceae, se encuentra en cantidades abundantes en el intestino de animales y del ser humano, se excreta mediante heces fecales. El mismo que representa ser un miembro del grupo de los coliformes termo-tolerantes más abundante y representativo. (Hagedorn, 2011)

El comportamiento de esta bacteria en presencia de agua indica que puede existir riesgo en la salud publica en una población, incluso si es de consumo o agrícola.

2.8.2 *Streptococos Fecales*

El género *Streptococcus* se encuentran dentro de los cocos gran positivos y generalmente del grupo D de Lancefield (clasificación serológica), su caracteriza principal es su forma cocoide, agrupados en cadena, anaerobios facultativos y catalasa negativa.

2.9 Salud Humana

La contaminación fecal ha sido es un riesgo sanitario en el agua por microorganismos patógenos que producen enfermedades en la salud humana, por ello es importante el control de calidad sanitario de riesgos microbiológicos.

Según la Subsecretaria Nacional de Vigilancia de la Salud Publica, las enfermedades transmitidas por agua y alimentos reporta que debido a bacterias estas son transmitidas por la ingesta de alimentos contaminados con salmonella, shigelosis las que provocan comúnmente dolores gastrointestinales, la mayoría de los casos los síntomas son leves y se recuperan, la situación varia cuando es en niños pequeños y ancianos ya que la deshidratación puede ser grave y pone en riesgo la vida. (SIVE,2021)

Frente a los casos a nivel nacional en Ecuador 2017 hasta el 2021 se encuentran en la siguiente tabla:

Tabla 1

Casos de etapas a nivel nacional Ecuador 2017-2021

Evento	2017	2018	2019	2022	2021
Intoxicaciones					
alimentarias	11861	15439	12203	5890	2925
bacterianas					
Infecciones debidas					
a Salmonella	2063	2680	1614	1099	263
Shigelosis	560	386	248	112	36

Nota. Fuente: Dirección nacional Vigilancia Epidemiológica 2021

En la provincia de Cotopaxi se encontró entre los años 2020 y 2021 reportan 15 casos por esta bacteria. (SIVE,2021).

La salmonelosis es causada por la bacteria *Salmonella* y es una de las enfermedades de transmisión alimentaria más comunes, la mayoría de los casos los síntomas son leves por lo tanto los pacientes se recuperan sin tratamiento específico. (SIVE,2021). En la provincia de Cotopaxi se encontró en el año 2019 solamente un caso de shigelosis. (SIVE,2021)

La shigelosis es una infección entérica invasiva aguda causada por bacterias que pertenecen al género *Shigella*. (SIVE,2021). En la provincia de Cotopaxi se encontró en el año 2019 solamente un caso de shigelosis. (SIVE,2021)

Es importante tener en cuenta estas estadísticas para relacionar como es que la calidad del agua influye en la salud humana como son la intoxicación por alimentos, ya que muchas veces personas dedicadas a la agricultura confían que el agua es apta, en este caso para uso agrícola y muchas veces se ocupa el efluente del río dando de manera directa la relación entre ser humano y alimentos, esto representa que actualmente un problema de condiciones sanitarias.

La bacteria *E. coli* productora de toxinas Shiga provoca dolores abdominales, diarrea, esto puede progresar a colitis hemorrágica, también hay la presencia de vómitos y fiebre. El periodo de incubación varía entre los 3 a 8 días. Se estima que un 10% de los pacientes pueden presentar síndrome urémico hemolítico, mayor riesgo en niños pequeños y adultos mayores, el 25% puede tener complicaciones neurológicas. En personas que no pertenecen al grupo de riesgo suelen recuperarse alrededor de una semana. (OMS, 2018)

Bacteria *Shigella* es la segunda causa de mortalidad por diarrea a nivel mundial. Se caracteriza por presentar diarrea con sangre o con mucosa, dolores abdominales, náusea, vómitos que puede durar de 4 a 7 días. Los síntomas pueden aparecer entre el primer y segundo día de la exposición, pero también puede existir complicaciones como deshidratación, síndrome urémico hemolítico que afecta a niños menores de cinco años, adultos mayores,

pacientes inmunodeprimidos. Casos leves de la infección pueden desaparecer en una semana.
(Clinic M,2021)

La infección por *Salmonella* se presenta dentro de las 8 a 72 horas siguientes a la exposición, causa gastroenteritis y si es una infección grave causa fiebre tifoidea. En algunas veces puede haber bacteriemia que se propaga causando abscesos en diferentes zonas, esto puede ocurrir en lactantes, adultos mayores, personas con el sistema inmunológico deprimido. Los síntomas que presenta son: náuseas, cólicos abdominales, diarrea acuosa, fiebre, vómitos, cefalea. Entre el 10 – 30% de los adultos pueden desarrollar artritis reactiva cuando cesa la diarrea. En personas que no presentan ningún riesgo se recuperan con más rapidez.

(Clinic M,2022)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Tipo y diseño de la investigación

En la investigación se implementará un diseño de bloques completos al azar (DBCA), esto se refiere a que unidades experimentales se agrupan y formen grupos homogéneos llamados bloques.

En la investigación los bloques representan las repeticiones de toma de muestra en diferentes horas del día como: 8, 12 y 16 en las dos comunidades, esto quiere decir que por cada tratamiento se manifestara las tres repeticiones respectivas como indica la tabla 3.

Tabla 2

Diseño experimental

Tratamiento (T)	Repetición (R)
T1	R1
	R2
	R3
T2	R1
	R2
	R3
T3	R1
	R2
	R3
T4	R1
	R2
	R3
T5	R1

	R2
	R3
	R1
T6	R2
	R3
	R1
T7	R2
	R3
	R1
T8	R2
	R3

Nota: Los tratamientos contarán con tres repeticiones que se tomarán en diferentes horas del día. Elaborado por: Autores (2023).

3.2 Diseño estadístico

En la investigación se implementará un diseño de bloques completos al azar (DBCA), esto se refiere a que unidades experimentales se agrupan y formen grupos homogéneos llamados bloques. En la investigación los bloques representan las repeticiones de toma de muestra en diferentes horas del día, en las dos comunidades, esto quiere decir que por cada tratamiento se manifestara las tres repeticiones respectivas.

Tabla 3

Tratamientos

AGARES				
COMUNIDADES	A1	A2	A3	A4
C1	T1	T2	T3	T4

C2	T5	T6	T7	T8
----	----	----	----	----

Nota: Tratamientos para implementar con los distintos agares para determinar contaminación en las dos comunidades

3.3 Protocolos

3.3.1 Área de estudio

El río mantiene un área de cuenca de 2677 km² y una longitud de 60 km aproximadamente. (Bustamante, 2012)

Según el Consejo Nacional de Recursos Hídricos, el río Cutuchi que está ubicado a la altura de la ciudad de Latacunga tiene un caudal medio anual de 5.2 m³ /s que esto equivale a 164 millones de m³. El consumo de aguas es de 400 millones de m³ para 24000 ha de área cultivada.

3.3.3. Delimitación del Río Cutuchi

3.3.3.1 Cuenca del río Cutuchi

La subcuenca del río Cutuchi, nace del volcán Cotopaxi, es un afluente del río Pastaza. Su recorrido pasa por las provincias: Cotopaxi y Tungurahua, llegando hasta el cantón Píllaro. El río mantiene un área de cuenca de 2677 km² y una longitud de 60 km aproximadamente. (Bustamante, 2012)

Según el Consejo Nacional de Recursos Hídricos, el río Cutuchi que está ubicado a la altura de la ciudad de Latacunga tiene un caudal medio anual de 5.2 m³ /s que esto equivale a 164 millones de m³. El consumo de aguas es de 400 millones de m³ para 24000 ha de área cultivada.

Esta cuenca hidrográfica presenta carencia del recurso hídrico, situación que se empeora por la contaminación de los volúmenes de agua disponibles, lo que limita su uso.

Los cursos de agua son utilizados como vertederos para eliminar los desechos líquidos y sólidos de las áreas urbanas y aguas de los procesos agroindustriales e industriales, sin considerar la capacidad de autodepuración de las corrientes. (Lara, 2005)

En general, los cursos de agua presentan altos índices de contaminación con la presencia de materia orgánica biodegradable y no biodegradable, presencia de grasas, aceites, plásticos, metales pesados y pesticidas, que afectan a los usos benéficos como son riego, recreación mediante contacto primario, agua para consumo humano, propagación de especies acuáticas, entre otros. (Lara, 2005)

La calidad de agua de este río causa preocupación a todas las comunidades aledañas al cuerpo de agua, porque la mayoría la implementan en sus actividades agrícolas además que tienen conocimiento de que no existe un control para las descargas de las industrias hacia el río, aun las utilizan sería importante que implementen servicios básicos de saneamiento ambiental, así como también acciones para regular y control de las actividades tanto agroindustriales como industriales.

3.3.3.2 Delimitación de los puntos de muestreo

El río Cutuchi es muy extenso, está ubicado en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, este cuerpo de agua proviene de los páramos del Cotopaxi su trayecto es de norte a sur atravesando poblaciones e industrias, los cuales desfogon en el río las aguas servidas sin un tratamiento previo, las mismas son implementadas para irrigar los campos de donde provienen hortalizas y legumbres, para consumo humano regional y nacional. (Telégrafo, 2015).

Aproximadamente 17 mil agricultores utilizan estas aguas infectadas, para regar 26 mil hectáreas de cultivos en Cotopaxi y Tungurahua (Carlos Gutierrez Al.pdf, s. f.).

Para la toma muestra se delimito dos diferentes comunidades aledañas al río, las mismas realizan producción agrícola en el sector, estas fueron Tiobamba y San Rafael, la primera muestra se realizó en el mes de octubre y el segundo en el mes de noviembre.

Tabla 4

Puntos de toma de muestra

	Longitud	Latitud
Tiobamba	-78.618052	-0.967913
San Rafael del Tingo	-78.618497	-0.967792

Nota: Puntos geográficos tomados de dos comunidades aledañas al río Cutuchi.

Figura 2

Puntos de muestreo del río Cutuchi



Nota: Se observa los dos puntos de muestreo del río Cutuchi delimitados en la zona.

3.4 Metodología (Procedimiento)

3.4.1 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico según lo indica la norma INEN 2226:2013, en donde establecen programas de muestreo los cuales se deben tener en cuenta para el cálculo de intervalo de confianza, así como el nivel de confianza necesario y significativo para llevar a cabo el muestreo.

Además, se implementará los siguientes métodos para confirmar o descartar la presencia de contaminación en el río Cutuchi

1. Recuento de bacterias totales por el *NMP*
2. Identificación de bacterias por lactosa, bioquímica y asilamiento
3. Interpretación de los resultados según los parámetros de la norma de calidad y descarga de efluentes.

3.5 Procedimiento para la toma de muestras de campo

Según el INSTRUCTIVO INT/SFA/12 (2018), se sigue el siguiente proceso para muestreo y manejo de muestras:

- Con ayuda del geoposicionador (GPS) se determinó el sitio exacto de vertimiento y se registró en la guía para muestreo.
- Cuando se tomó varias muestras en un punto o estación de muestreo se tomó en primer lugar el volumen destinado al análisis microbiológico.
- Se midió los parámetros de campo (temperatura, pH), lavando los electrodos con abundante agua destilada.
- Se etiquetó las botellas antes del llenado, describiendo los analitos a determinar y la preservación respectiva.

- Cubrir el rotulo con cinta adhesiva transparente para evitar su deterioro.
- Enjuague todas las botellas con una porción de muestra y proceda a su llenado, mientras homogeniza el contenido del balde por agitación constante.
- Preserve las muestras (Refrigeración).
- Tapar cada botella y agitar.
- Colocar las botellas dentro del cooler.
- Enviar las muestras a la brevedad posible a los laboratorios para el análisis.

3.6 Procedimiento de laboratorio

3.6.1. Método de cultivo por siembra en placa

En este método el cultivo se lo realiza en masa, en una placa Petri se mezcla una cantidad dada de suspensión para homogeneizar el inóculo en el agar.

Una vez solidificadas las placas e incubadas, se cuentan el número de colonias que se han formado en las placas.

3.6.1.1 Procedimiento para medios de cultivo para siembra

Preparación de agar Macconkey

1. Aforar 150 ml de agua destilada en una probeta
2. Trasvasar el destilada a un matraz
3. Pesar sobre papel de aluminio 8g del agar Macconkey en una balanza digital o analítica.
4. Poner los 8 g de agar Macconkey en los 150 ml de agua destilada del matraz
5. Mezclar hasta homogenizar la solución

6. Calentar la solución en una cocineta agitando frecuentemente hasta ver su punto de ebullición.

7. Tapar el matraz erlenmeyer con su tapa rosca al igual que la cinta testigo.

8. Autoclavar la solución a 120 grados centígrados durante 30 minutos

9. Sacar la solución de la autoclave y dejar enfriar durante 10 minutos

10. Repartir 5 ml de la solución en las cajas Petri

11. Dejar secar los medios de cultivos cerrados a temperatura ambiente por 1 hora.

12. Esterilizar la cámara de flujo laminar por 10 minutos.

13. Introducir los medios de cultivo por 12 horas en la cámara de flujo laminar.

12. Colocar en una funda hermética los medios de cultivo y etiquetar con la fecha de elaboración.

13. Guardar en la refrigeradora.

Preparación de agar Manitol

1. Aforar 150 ml de agua destilada en una probeta

2. Trasvasar el agua destilada a un matraz erlenmeyer

3. Pesar sobre papel de aluminio 17 g del agar Macconkey en una balanza digital o analítica.

4. Poner los 17 g de agar Macconkey en los 150 ml de agua destilada del matraz

5. Mezclar hasta homogenizar la solución

6. Calentar la solución en una cocineta agitando frecuentemente hasta ver su punto de ebullición.

7. Tapar el matraz erlenmeyer con su tapa rosca al igual que la cinta testigo.
8. Autoclavar la solución a 120 grados centígrados durante 30 minutos
9. Sacar la solución de la autoclave y dejar enfriar durante 10 minutos
10. Repartir 5 ml de la solución en las cajas Petri
11. Dejar secar los medios de cultivos cerrados a temperatura ambiente por 1 hora.
12. Esterilizar la cámara de flujo laminar por 10 minutos.
13. Introducir los medios de cultivo por 12 horas en la cámara de flujo laminar.
14. Colocar en una funda hermética los medios de cultivo y etiquetar con la fecha de elaboración.
15. Guardar en la refrigeradora.

Preparación de agar M-FC

1. Disolver 55 g de medio en 1000 ml de agua destilada
2. Calentar hasta ebullición, agitando para su completa disolución, o bien autoclavar a 116 °C durante 5 minutos
3. Depositar la membrana de filtración sobre una placa recién preparada y enfriada de este medio

Preparación de Agar Sangre

1. Aforar 150 ml de agua destilada en una probeta
2. Trasvasar el destilada a un matraz erlenmeyer
3. Pesar sobre papel de aluminio 6 g del agar Sangre en una balanza digital o analítica.

4. Poner los 6 g de agar Sangre en los 150 ml de agua destilada del matraz
5. Mezclar hasta homogenizar la solución
6. Calentar la solución en una cocineta agitando frecuentemente hasta ver su punto de ebullición.
7. Tapar el matraz erlenmeyer con su tapa rosca al igual que la cinta testigo.
8. Autoclavar la solución a 120 grados centígrados durante 30 minutos
9. Sacar la solución de la autoclave y dejar enfriar durante 8 minutos
10. Se coloca 7.40 ml de sangre en la solución y se lo agita hasta que la solución se llegue a homogenizar.
10. Repartir 5 ml de la solución en las cajas Petri
11. Dejar secar los medios de cultivos cerrados a temperatura ambiente por 1 hora.
12. Esterilizar la cámara de flujo laminar por 10 minutos.
13. Introducir los medios de cultivo por 12 horas en la cámara de flujo laminar.
12. Colocar en una funda hermética los medios de cultivo y etiquetar con la fecha de elaboración.
13. Guardar en la refrigeradora.

Agar Nutritivo

1. Aforar 150 ml de agua destilada en una probeta
2. Trasvasar el destilada a un matraz erlenmeyer
3. Pesar sobre papel de aluminio 4 g del agar nutritivo y en una balanza digital o analítica.

4. Poner los 4 g de agar nutritivo en los 150 ml de agua destilada del matraz
5. Mezclar hasta homogenizar la solución
6. Calentar la solución en una cocineta agitando frecuentemente hasta ver su punto de ebullición.
7. Tapar el matraz erlenmeyer con su tapa rosca al igual que la cinta testigo.
8. Autoclavar la solución a 120 grados centígrados durante 30 minutos
9. Sacar la solución de la autoclave y dejar enfriar durante 10 minutos
10. Repartir 5 ml de la solución en las cajas Petri
11. Dejar secar los medios de cultivos cerrados a temperatura ambiente por 1 hora.
12. Esterilizar la cámara de flujo laminar por 10 minutos.
13. Introducir los medios de cultivo por 12 horas en la cámara de flujo laminar.
14. Colocar en una funda hermética los medios de cultivo y etiquetar con la fecha de elaboración.
15. Guardar en la refrigeradora.

3.6.1.5 Siembra de cultivo de bacterias

Se aplicará para los diferentes medios de cultivo como:

Siembra

3.6.1.2 Tipos de Cultivos a implementar

a) Cultivo en caldo: se realiza por homogenización del inóculo, depositado en un asa de siembra o pipeta de Pasteur mediante la agitación en posición vertical.

b) Cultivo en agar inclinado: la siembra se realiza por homogenización del inóculo mediante agitación vertical salvo si se el aumento la viscosidad del medio para disminuir la difusión del oxígeno.

c) Cultivo en caja Petri: medio sólido fundido estéril de unos 10-15mL y atemperado para dejar solidificar a temperatura ambiente con las diferentes técnicas.

3.7 Identificación de bacterias

La identificación de bacterias se realiza por diferentes métodos de convencionales identificados en diferentes características de fenotípicas a diferencia de los métodos genotípicos son utilizados solo para bacterias no identificadas con los métodos convencionales. (Antonio et al., s/f)

3.7.1 Técnica de asilamiento de bacterias

Este método se implementa cuando el crecimiento de una bacteria se mezcla con otras bacterias en un agar.

Procedimiento

- Tomar con un asa plástica de 10 ul una de las colonias que están mezcladas y que sea distintiva.
- Estriar la muestra de la colonia en el nuevo agar.
- Dejar incubar durante 24 horas a 30°.
- Observar los resultados.

3.7.2 Identificación por lactosa

Por lo general el agar Mac Conkey es el medio donde se puede identificar al microorganismo ya que en este contiene sales y cristal violeta que inhiben considerablemente la flora del gran positiva. (Castillo-Martínez, 2012)

Se clasifican en dos grupos:

1. lactosa positiva: indican presencia de microorganismos fermentadores como *Escherichia coli* y se representan de color rosa o rojo
2. lactosa negativa: indican presencia de microorganismos no fermentadores como la *Shigella* y *Salmonella* y se presentan de color transparentes.

Lo fundamental en este método es la observación aun que el agar ya es distintivo.

3.7.3 Identificación bioquímica

Está basada en determinar las características de las bacterias en este método se basa en pruebas rápidas para la presencia de enzima preformada y como otro proceso de la identificación bioquímica está el crecimiento microbiano con una incubación de 18 a 48h

(MDM, 2020)

Procedimiento

- Tomar una colonia del medio e inocular en la superficie de los agares de manera inclinada, es son: TSI, LIA, CITRATO, UREA, SIM. No insertar el inóculo en la base del agar inclinado, puesto que sirve como control de color.
- Incubar a 35°C aproximadamente entre 18 a 24 horas con la tapa aflojada, examinar las reacciones después de 24 horas, y luego diariamente hasta por 6 días
- La prueba con indol únicamente de la hace al agar SIM.

3.8 Recuento de bacterias totales por NMP

Este procedimiento tiene la finalidad de disminuir la cantidad de soluto por unidad de volumen de dilución.

Procedimiento

- A partir de 10000ul de muestra problema realizar diluciones seriadas

- A partir de las 3 últimas disoluciones añadir 1000ul en las cajas Petri ya esterilizadas.
- Dejar incubando a una temperatura de 37 °, durante 24 horas
- Realizar el recuento de colonias presentes en la muestra inicial expresadas en UFC/ml

Interpretación del resultado

En la etapa de segmentación se contempla las colonias de bacterias con respecto al fonde de la caja Petri y se hace el conteo lineal de un número limitado y compararlo con una prueba de rango sugerido de acuerdo con *FDA* 25-250 colonias.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

Los parámetros in situ de las dos semanas con los límites permisibles que nos brinda el Libro VI Anexo I del TULSMA, donde nos especifica los criterios máximos permisibles y los mínimos, para criterios de calidad para aguas de uso agrícola o de riego.

4.1.1 pH (Potencial de Hidrogeno)

Resultados obtenidos de los análisis in situ para el pH del río Cutuchi en el mes de octubre.

Tabla 5

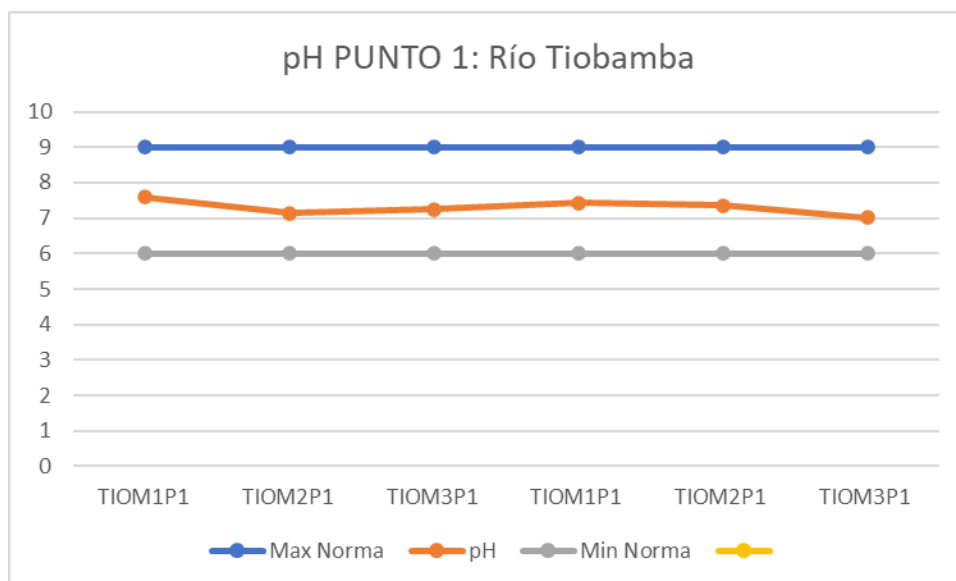
pH del río Cutuchi

PUNTO1			PUNTO2	
Hora	Muestra	pH	Muestra	pH
8:00	TIOM1P1	7.6	SANM1P2	7.23
12:00	TIOM2P1	7.14	SANM2P2	7.33
16:00	TIOM3P1	7.24	SANM3P2	7.6
8:00	TIOM1P1	7.42	SANM1P2	7.38
12:00	TIOM2P1	7.35	SANM2P2	7.26
16:00	TIOM3P1	7.01	SANM3P2	7.12
	Promedio	7.29	Promedio	7.32
	Varianza	0.04	Varianza	0.03

Nota: Resultados obtenidos de los análisis in situ de pH del río Cutuchi en el mes de octubre. Elaborado por: Autores (2023)

Figura 3

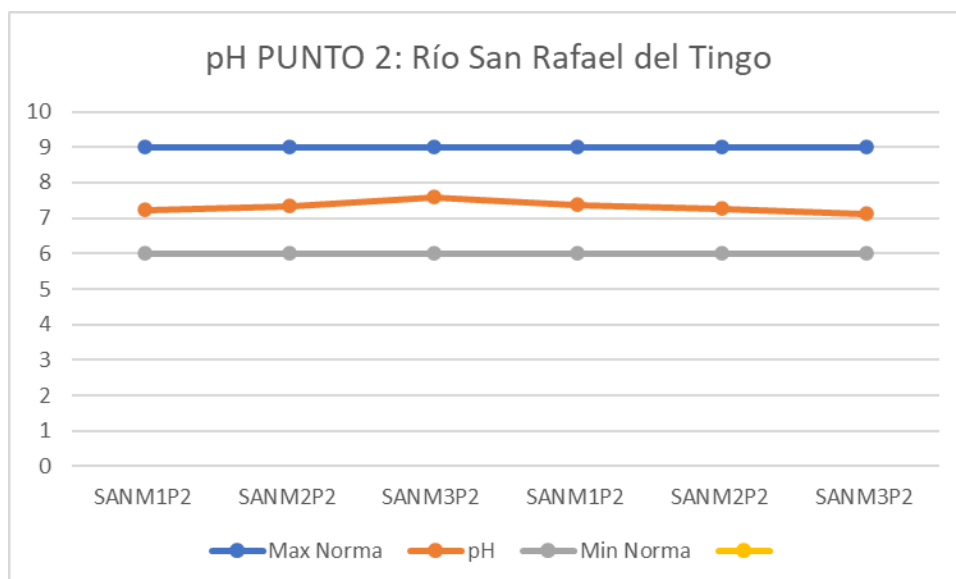
Comparación del pH obtenido en el punto 1 con los límites permisibles.



Nota: Comparación de los resultados obtenido en el punto 1 con los limites permisibles meses de octubre. Elaborado: Autores (2023)

Figura 4

Comparación del pH obtenido en el punto 2 con los limites permisibles.



Nota: Comparación de los resultados obtenido en el punto 2 con los limites permisibles en el mes de octubre. Elaborado: Autores (2023)

Los resultados obtenidos en el mes de octubre están dentro de los límites máximos permisible que se encuentran en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio

del Ambiental en los criterios de calidad de aguas para consumo humano y domestico que requieren tratamiento convencional. En la tabla se puede observar los promedios obtenidos, en el punto 1 que corresponde al sector Tiobamba con un promedio en el pH de 7.29 y con una varianza de 0.04 y en el punto 2 que corresponde al sector de San Rafael del Tingo con un promedio en el pH de 7.32 y una varianza de 0.03, lo que claramente demuestra que está dentro de los límites establecidos por la norma.

Tabla 6

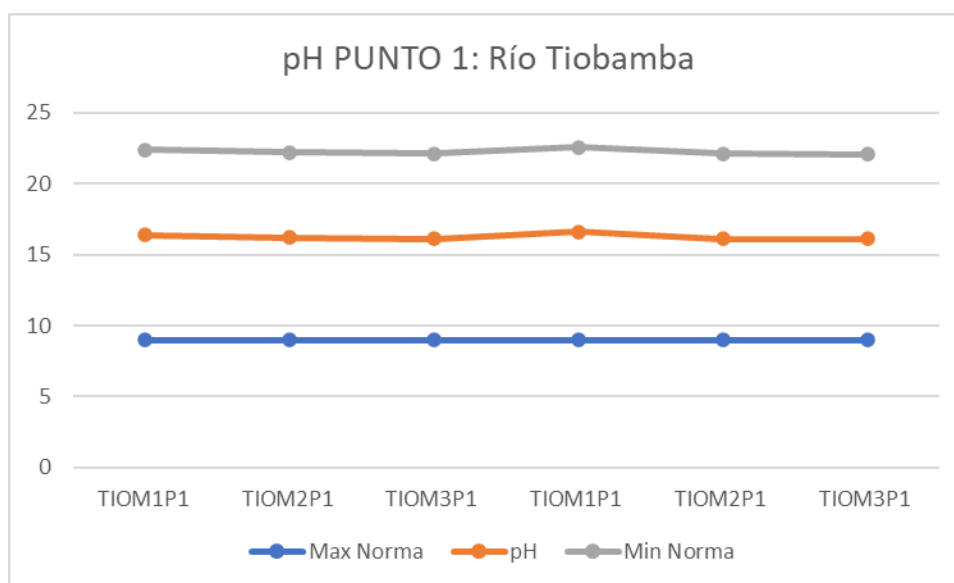
Resultados obtenidos de los análisis in situ para el pH del río Cutuchi en el mes de noviembre.

PUNTO1			PUNTO2	
Hora	Muestra	pH	Muestra	pH
8:00	TIOM1P1	7.4	SANM1P2	6.56
12:00	TIOM2P1	7.23	SANM2P2	6.24
16:00	TIOM3P1	7.11	SANM3P2	7.21
8:00	TIOM1P1	7.6	SANM1P2	7.45
12:00	TIOM2P1	7.14	SANM2P2	6.54
16:00	TIOM3P1	7.1	SANM3P2	7.3
	Promedio	7.26	Promedio	6.88
	Varianza	0.04	Varianza	0.25

Nota: Resultados obtenidos de los análisis in situ de pH del río Cutuchi en el mes de noviembre. Elaborado por: Autores (2023)

Figura 5

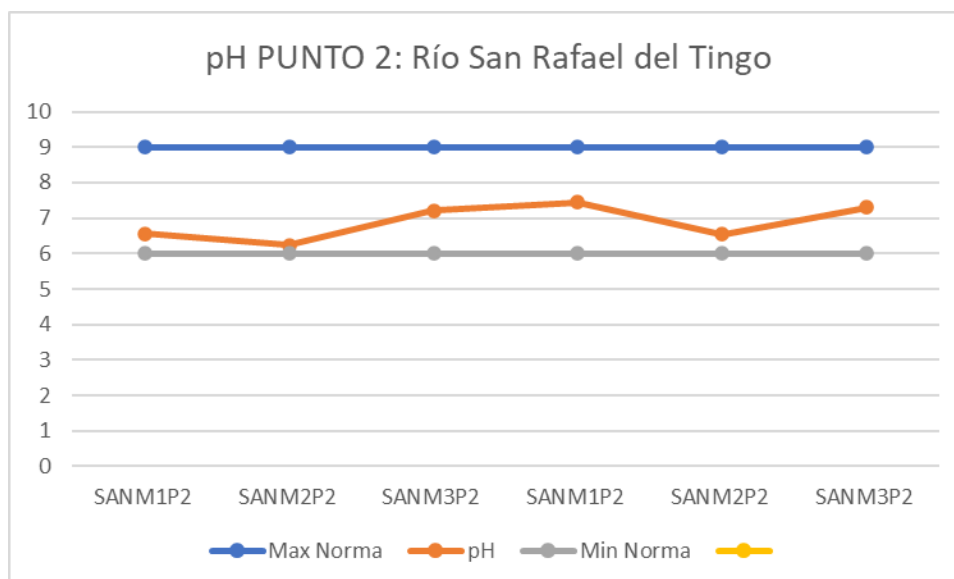
Comparación del pH obtenido en el punto 1 con los limites permisibles.



Nota.: Comparación de los resultados obtenido en el punto 1 con los limites permisibles en el mes de noviembre Elaborado: Autores (2023)

Figura 6

Comparación del pH obtenido en el punto 2 con los limites permisibles.



Nota: Comparación de los resultados obtenido en el punto 2 con los limites permisibles en el mes de noviembre. Elaborado: Autores (2023)

Los resultados obtenidos en el mes de noviembre están dentro de los límites máximos permisible que se encuentran en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio

del Ambiental en los criterios de calidad de aguas para consumo humano y domestico que requieren tratamiento convencional. En la tabla se puede observar los promedios obtenidos, en la segunda fecha del punto 1 que corresponde al sector Tiobamba con un promedio en el pH de 7.23 y con una varianza de 0.04 y en la segunda fecha del punto 2 que corresponde al sector de San Rafael del Tingo con un promedio en el pH de 6.88 y una varianza de 0.25, lo que claramente demuestra que está dentro de los límites establecidos por la norma

4.1.2 Temperatura

Se presentan los resultados obtenidos de la temperatura en el río Cutuchi en el mes de octubre.

Tabla 7

Resultados de Temperatura del río Cutuchi

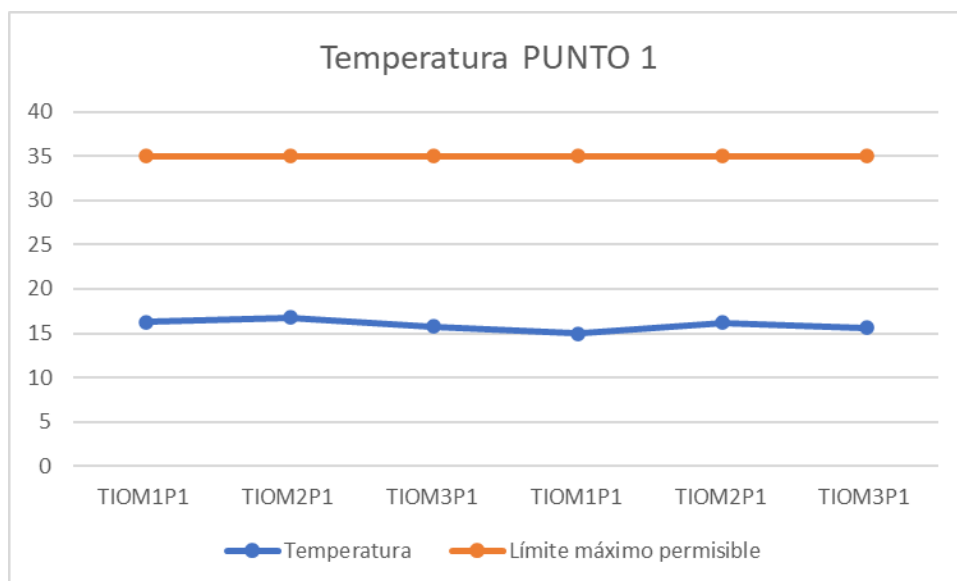
PUNTO1			PUNTO2		
Hora	Muestra	Temperatura	Muestra	Temperatura	
8:00	TIOM1P1	16,3	SANM1P2	15,2	
12:00	TIOM2P1	16,8	SANM2P2	16,4	
16:00	TIOM3P1	15,78	SANM3P2	15,2	
8:00	TIOM1P1	15	SANM1P2	15,8	
12:00	TIOM2P1	16,2	SANM2P2	15,6	
16:00	TIOM3P1	15,6	SANM3P2	16,8	
	Promedio	15,95	Promedio	15,83	
	Varianza	0,39	Varianza	0,42	

Nota: Resultados obtenidos de la temperatura en el río Cutuchi en el mes de octubre.

Elaborado: Autores (2023)

Figura 7

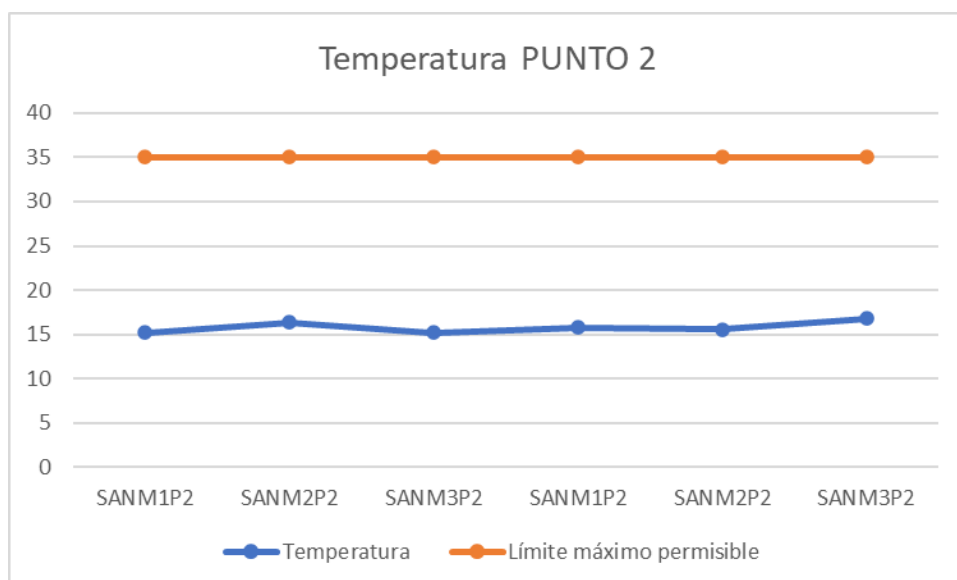
Comparación de la temperatura obtenida en el punto 1 con los límites permisibles.



Nota: Comparación de los resultados obtenidos en el punto 1 con los límites permisibles en el mes de octubre. Elaborado: Autores (2023)

Figura 8

Comparación de la temperatura obtenida en el punto 2 con los límites permisibles.



Nota: Comparación de los resultados obtenidos en el punto 2 con los límites permisibles en el mes de octubre. Elaborado: Autores (2023)

Los resultados obtenidos en el mes de octubre están dentro de los límites máximos permisible para la temperatura de $< 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ que se encuentran en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiental en los criterios de calidad de aguas para consumo humano y domestico que requieren tratamiento convencional. En la tabla se puede observar los promedios obtenidos, en la primera fecha del punto 1 que corresponde al sector Tiobamba con un promedio en la temperatura de $15.95\text{ }^{\circ}\text{C}$, una varianza de 0.39 y en EL punto 2 que corresponde al sector de San Rafael del Tingo con un promedio en la temperatura de $15.83\text{ }^{\circ}\text{C}$, una varianza de 0.42, lo que claramente demuestra que está dentro de los límites establecidos por la norma.

Se presentan los resultados obtenidos de la temperatura en el río Cutuchi en el mes de noviembre.

Tabla 8

Resultados de Temperatura del río Cutuchi

PUNTO 1			PUNTO 2	
Hora	Muestra	Temperatura	Muestra	Temperatura
8:00	TIOM1P1	15,3	SANM1P2	15,4
12:00	TIOM2P1	17,3	SANM2P2	17,6
16:00	TIOM3P1	15,96	SANM3P2	15,4
8:00	TIOM1P1	16,8	SANM1P2	16,2
12:00	TIOM2P1	17,1	SANM2P2	17,4
16:00	TIOM3P1	16	SANM3P2	15,8
	Promedio	16,41		16,3

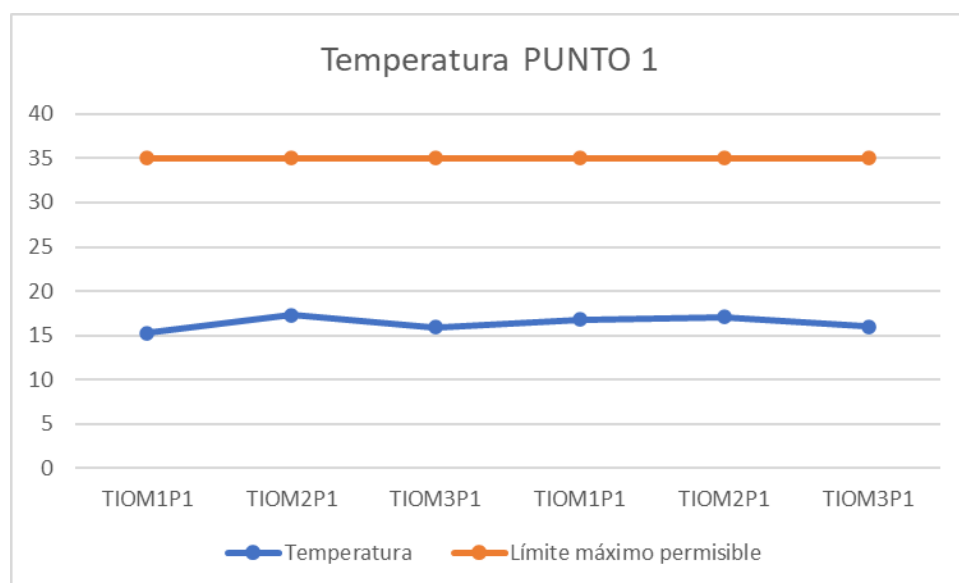
Varianza	0,60	Promedio	0,96
Varianza			

Nota: Resultados obtenidos de la temperatura en el río Cutuchi en el mes de noviembre.

Elaborado: Autores (2023)

Figura 9

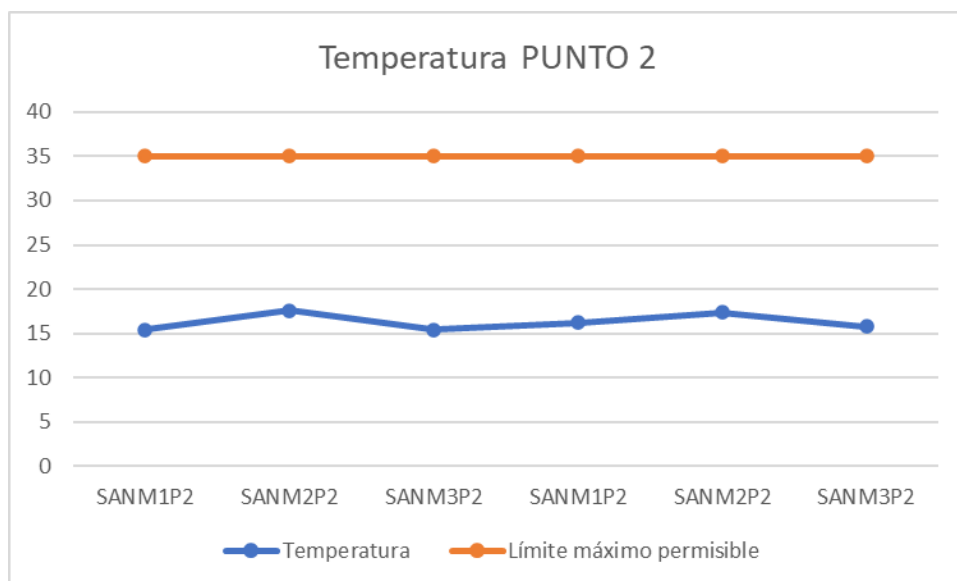
Comparación de la temperatura obtenida en el punto 1 con los límites permisibles.



Nota: Comparación de los resultados obtenido en el punto 1 con los límites permisibles en el mes de noviembre. Elaborado: Autores (2023)

Figura 10

Comparación de la temperatura obtenida en el punto 2 con los límites permisibles.



Nota. Comparación de los resultados obtenidos en el punto 2 con los límites permisibles en el mes de noviembre. Elaborado: Autores (2023)

Los resultados obtenidos en el mes de noviembre están dentro de los límites máximos permisibles para la temperatura de $< 35^{\circ}\text{C}$ que se encuentran en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente en los criterios de calidad de aguas para consumo humano y doméstico que requieren tratamiento convencional. En la tabla se puede observar los promedios obtenidos, en la segunda fecha del punto 1 que corresponde al sector Tiobamba con un promedio en la temperatura de 16.41°C , una varianza de 0,60 y en el punto 2 que corresponde al sector de San Rafael del Tingo con un promedio en la temperatura de 16.3°C , una varianza de 0,96, lo que claramente demuestra que está dentro de los límites establecidos por la norma.

4.1.3 Identificación de bacterias

Identificación de las diferentes bacterias en los agares manitol, sangre, MacConkey y nutriente.

Resultados obtenidos en el agar sangre de los dos puntos de muestreo con las repeticiones de cada hora.

Tabla 9*Agar Sangre primeras muestras*

PUNTO 1: TIOBAMBA				
MUESTRA	HEMOLISIS			COLOR
	Alfa Hemolisis	Beta Hemolisis	Gama Hemolisis	
TIOP1M1		X		Blanco
TIOP1M2		X		Blanco
TIOP1M3		X		Blanco
PUNTO 2: SAN RAFAEL DEL TINGO				
SANP2M1		X		Blanco
SANP2M2		X		Blanco
SANP2M3		X		Blanco

Nota: Resultados obtenidos del agar sangre en el mes de octubre, por tener una hemolisis beta y color blanco es una bacteria gran negativa llamada Salmonella.

Elaborado: Autores (2023)

Tabla 10*Agar Sangre segundas muestras*

PUNTO 1: TIOBAMBA				
MUESTRA	HEMOLISIS			COLOR
	Alfa Hemolisis	Beta Hemolisis	Gama Hemolisis	
TIOP1M1	X			Verde Opaco
TIOP1M2	X			Verde Opaco
TIOP1M3	X			Verde Opaco
P2: SAN RAFAEL DEL TINGO				
SANP2M1	X			Verde Opaco
SANP2M2	X			Verde Opaco
SANP2M3	X			Verde Opaco

Nota. Resultados obtenidos del agar sangre en el mes de noviembre, por tener una hemolisis alfa y color verde opaco es una bacteria gran negativa llamada *Proteus marabilis*.

Elaborado: Autores (2023)

La identificación de bacterias en el agar sangre pueden crecer gran positivas y negativas ya que esta no es diferencial ni selectiva, pero se puede hacer un análisis por la hemolisis que se genera y el color que presenta en este caso en la tabla 8 que corresponde al mes de octubre, presenta beta hemólisis con colonias de color blanco siendo significativa para *Salmonella* y en la tabla 9 que corresponde al mes de noviembre, presenta alfa hemólisis con colonias de color verde opaco siendo significativa para *Proteus marabilis*, estas bacterias puede estar presentes en agua con contaminación fecal, pueden vivir tanto en presencia como ausencia de oxígeno (aerobias).

Tabla 11

Agar MacConkey primeras muestras

PUNTO 1: TIOBAMBA				
MUESTRA	BACTERIA	LACTOSA		COLOR
		I(+)	I(-)	
TIOP1M1	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
TIOP1M2	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
TIOP1M	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
PUNTO 2: SAN RAFAEL				
SANP1M1	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
SANP1M2	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
SANP1M3	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa

Nota: Resultados obtenidos del agar MacConkey en el mes de octubre, donde presenta tres bacterias diferenciales por lactosa positiva o negativa y el color en el que se presenta.

Tabla 12*Agar MacConkey segundas muestras*

PUNTO 1: TIOBAMBA				
MUESTRA	BACTERIA	LACTOSA		COLOR
		I(+)	I(-)	
TIOP1M1	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
TIOP1M2	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
TIOP1M	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
PUNTO 2: SAN RAFAEL				
SANP1M1	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
SANP1M2	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa
SANP1M3	Shigella		X	Transparente
	Salmonella		X	Transparente
	E. Coli	X		Rosa

Nota: Resultados obtenidos del agar nutriente en el mes de noviembre, tomando en cuenta que pueden crecer todo este tipo de bacterias. Elaborado: Autores (2023)

El agar MacConkey es un medio utilizado para el aislamiento de bacilos gran negativos pueden ser aerobio y anaerobios para muestras de agua, hay en tomar en cuenta que se desarrollan todas las bacterias de la familia Enterobacteriaceae, en la tabla 10 y 11 crecieron las mismas tres bacterias en los dos puntos de muestreo, del mes de octubre y noviembre, estas se las identifico por lactosa negativa con un color transparente dando paso a dos bacterias que son: *Salmonella* y *Shigella*, en el caso de las lactosas positivas con un color rosa que representan la bacteria *E. coli*.

Tabla 13

Agar nutriente primeras muestras

BACTERIAS				
	Escherichia	Staphylococcus	Staphylococcus	Enterococcus
PUNTOS	coli	epidernidis	aureus	faecalis
PUNTO				
1	X	X	X	X
PUNTO				
2	X	X	X	X

Nota. Resultados obtenidos del agar nutriente en el mes de octubre, tomando en cuenta que pueden crecer todo este tipo de bacterias. Elaborado: Autores (2023)

Tabla 14

Agar nutriente primeras muestras

BACTERIAS

	Escherichia	Staphylococcus	Staphylococcus	Enterococcus
PUNTOS	coli	epidernidis	aureus	faecalis
PUNTO				
1	X	X	X	X
PUNTO				
2	X	X	X	X

Nota: Resultados obtenidos del agar nutriente en el mes de octubre, tomando en cuenta que pueden crecer todo este tipo de bacterias. Elaborado: Autores (2023)

En el agar nutriente se obtiene todo tipo de microorganismos, este principalmente se lo utiliza para el aislamiento y recuento de microorganismos escasos de nutrientes, es el caso de la tabla 12 y 13 si se presentó crecimiento bueno y se puede dar una presunción de las posibles bacterias presentes en este agar.

Tabla 15

Agar Manitol primeras muestras

BACTERIAS		
	Estafilococos patógenos	Staphylococcus aureus
PUNTOS	sc	sc
PUNTO 1	sc	sc
PUNTO 2	sc	sc

*sc= sin crecimiento.

Nota.: Resultados obtenidos del agar manitol en el mes de octubre, tomando en este agar solo crecen bacterias gran positivas como el *Staphylococcus*.Elaborado: Autores (2023)

Tabla 16

Agar Manitol primeras muestras

BACTERIAS			
	Estafilococos patógenos		Staphylococcus aureus
PUNTOS		sc	sc
PUNTO 1		sc	sc
PUNTO 2		sc	sc

*sc= sin crecimiento

Nota: Resultados obtenidos del agar manitol en el mes de noviembre, tomando en este agar solo crecen bacterias gran positivas como el Staphylococcus. Elaborado: Autores (2023)

El agar manitol es un medio de cultivo selectivo y diferencial, es implementado para el aislamiento y diferenciación de Staphylococcus que es una bacteria gran positivas, por lo que se observa en la tabla 14 y 15 no hay crecimiento de ninguna colonia por lo que se puede interpretar que no hay presencia de bacterias gran positivas en las muestras de agua tomada del río Cutuchi por lo tanto se descarta todo este grupo de bacterias en este efluente.

4.1.3.1 Identificación de bacterias por prueba bioquímica

Es necesario realizar la prueba de movilidad en agar de que las bacterias que ya fueron encontradas en el transcurso de la identificación, estas se las realiza inoculando por picadura la colonia de bacteria en el fondo de los tubos con diferentes agares.

Tabla 17

Bioquímica para colonias

Microorganismo	E. coli	Shigella	Salmonella	Proteus mirabilis
TSI	A/A	A	A/A	K/A
LIA	K/K	-	K/K	R/A
CITRATO	-	+	-	-

UREA	-	-	-	+
SIM	+	-	-	-

*K= alcalino. A= Ácido. + = crecimiento positivo. - = crecimiento negativo.

Nota: Resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas de cada una de las bacterias encontradas en los agares diferenciales. Elaborado: Autores (2023)

Se observa en la tabla 16 las diferentes características que presenta cada bacteria al estar en contacto con estos medios, para realizar la identificación nos basamos en la tabla previa y confirmada por estudios respecto a la lactosa.

4.1.4 Recuento de coliformes fecales

Tabla 18

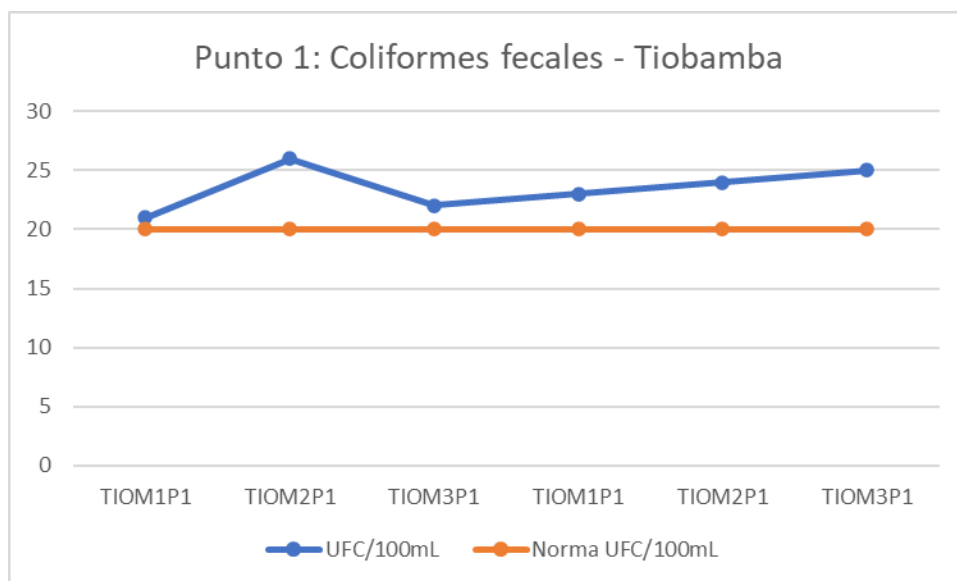
Resultado de coliformes fecales en el mes de octubre

PUNTO 1		PUNTO 2	
Resultado		Resultado	
Muestra	UFC/100 mL	Muestra	UFC/100 mL
TIOM1P1	21	SANM1P2	22
TIOM2P1	26	SANM2P2	24
TIOM3P1	22	SANM3P2	23
TIOM1P1	23	SANM1P2	23
TIOM2P1	24	SANM2P2	26
TIOM3P1	25	SANM3P2	24
Promedio	23.50	Promedio	23.67

Nota: Se presenta los resultados obtenidos de coliformes fecales correspondientes al mes de octubre. Elaborado: Autores (2023)

Figura 11

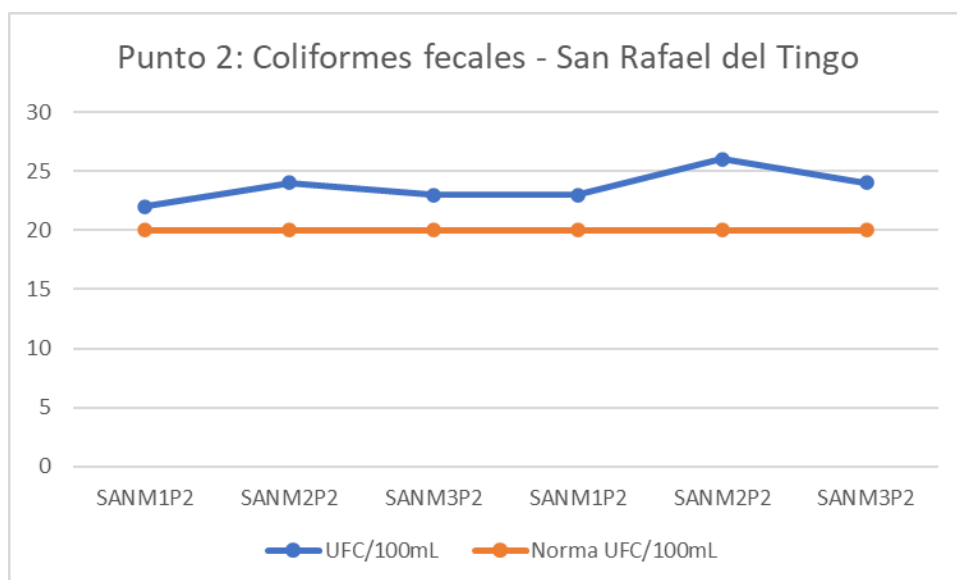
Comparación de coliformes del punto 1 del río Cutuchi con los límites permisibles.



Nota: Se presenta la comparación de los resultados de coliformes fecales en el mes de octubre con los límites permisibles para el punto 1. Elaborado por: Autores (2023)

Figura 12

Comparación de coliformes del punto 2 del río Cutuchi con los límites permisibles.



Nota: Se presenta la comparación de los resultados de coliformes fecales en el mes de octubre con los límites permisibles para el punto 2. Elaborado por: Autores (2023)

Se puede observar los resultados de coliformes fecales en la tabla 13, correspondiente al mes de octubre, obteniendo un promedio de 23.50 UFC/100mL en el punto 1 correspondiente al sector de Tiobamba y en el punto 2 correspondiente sector de San Rafael del Tingo con un promedio de 23.67 UFC/100mL, los cuales se puede comparar con la norma se encuentran por encima de los límites establecidos por el Libro VI Anexo I del TULSMA, donde se especifica que el valor máximo permisible es de 20 UFC/mL, esto quiere decir que existe una fuente de contaminación.

Tabla 19

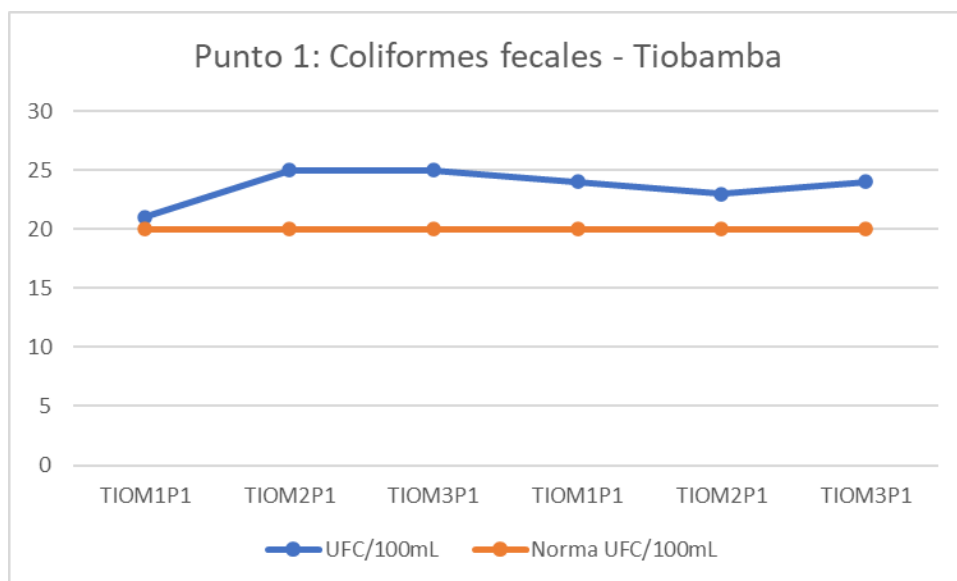
Resultado de coliformes fecales en el mes de noviembre.

PUNTO 1		PUNTO 2	
Resultado		Resultado	
Muestra	UFC/100 mL	Muestra	UFC/100 mL
TIOM1P1	21	SANM1P2	23
TIOM2P1	25	SANM2P2	24
TIOM3P1	25	SANM3P2	21
TIOM1P1	24	SANM1P2	25
TIOM2P1	23	SANM2P2	24
TIOM3P1	24	SANM3P2	21
Promedio	23.67	Promedio	23.00

Nota: Se presenta los resultados obtenidos de coliformes fecales correspondientes al mes de noviembre. *Elaborado:* Autores (2023)

Figura 13

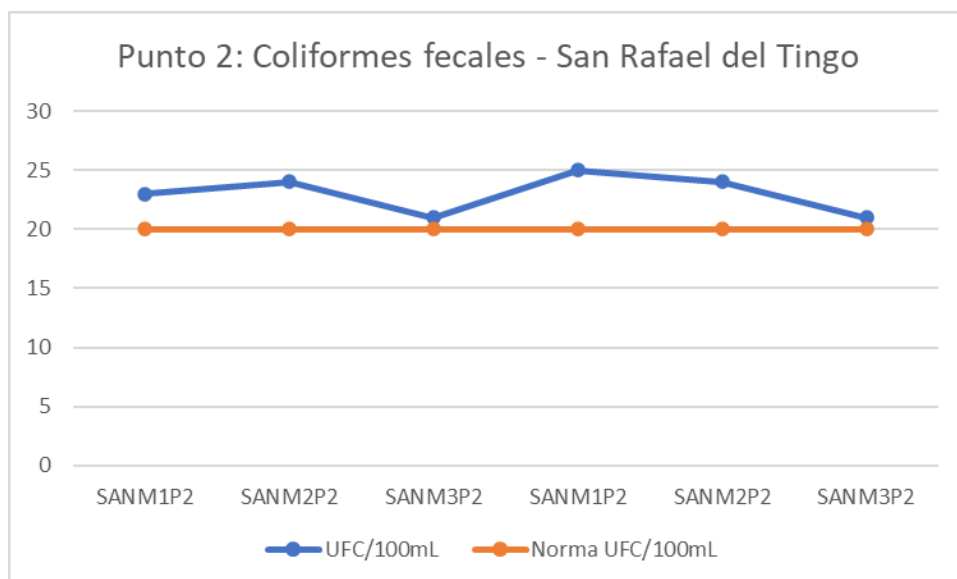
Comparación de coliformes del punto 1 del río Cutuchi con los límites permisibles.



Nota: Se presenta la comparación de los resultados de coliformes fecales en el mes de noviembre con los límites permisibles para el punto 1. Elaborado por: Autores (2023)

Figura 14

Comparación de coliformes del punto 2 del río Cutuchi con los límites permisibles.



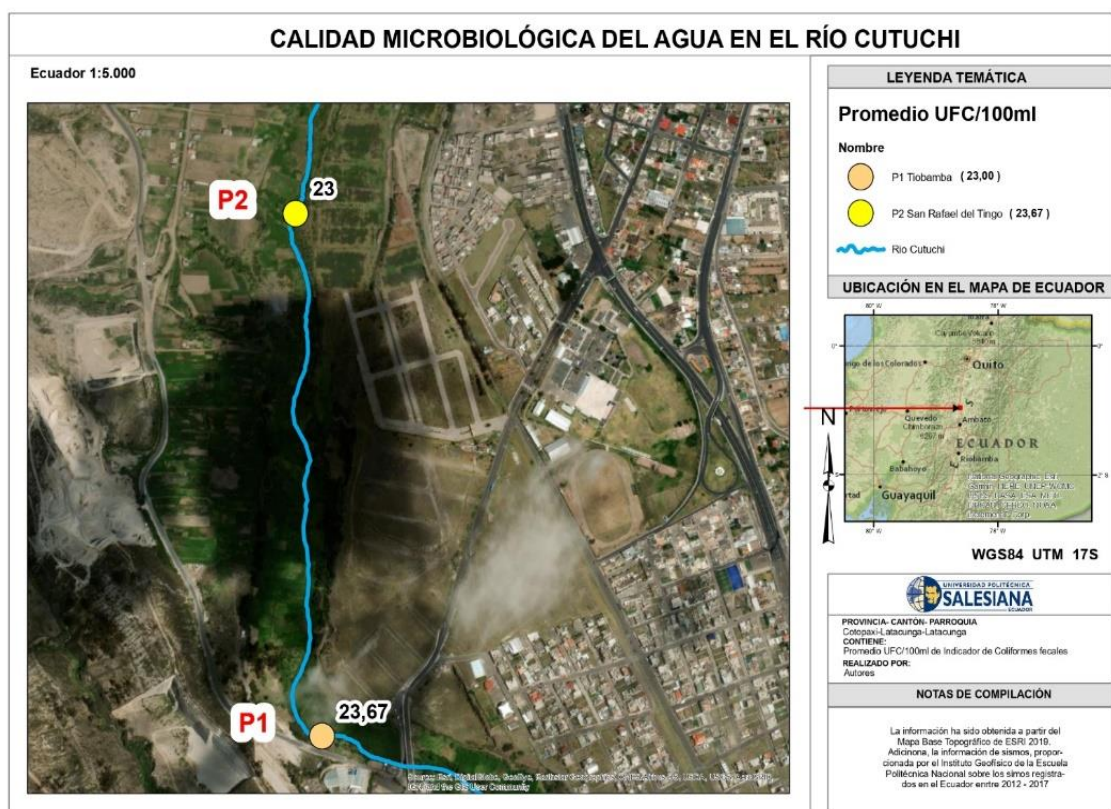
Nota.: Se presenta la comparación de los resultados de coliformes fecales en el mes de noviembre con los límites permisibles para el punto 2. Elaborado por: Autores (2023)

Se puede observar los resultados de coliformes fecales en la tabla 14, correspondiente al mes de noviembre, obteniendo un promedio de 23.67 UFC/100mL en el punto 1

correspondiente al sector de Tiobamba y en el punto 2 correspondiente sector de San Rafael del Tingo con un promedio de 23.00 UFC/100mL, los cuales se puede comparar con la norma se encuentran por encima de los límites establecidos por el Libro VI Anexo I del TULSMA, donde se especifica que el valor máximo permisible es de 20 UFC/mL, esto quiere decir que existe una fuente de contaminación.

Figura 15

Coliformes fecales en el río Cutuchi



Nota.: Presencia de coliformes fecales ubicando el promedio de UFC/100 ml

4.4 Discusión

Según Bustamante, M. (2012) la contaminación de río Cutuchi es afectado por descargas directas de aguas servidas de industrias sin previo tratamiento y a pesar de ser un lugar de estudio recurrente no se ejecutan planes de descontaminación.

Bustamante, M. (2012) presenta en sus resultados determinando que la contaminación en el cuerpo de agua tiene alta aparición de bacterias de coliformes fecales, excediendo ampliamente los criterios de calidad, presentando alta contaminación bacteriana en el río Cutuchi.

Al igual que los resultados obtenidos en el presente estudio se encontró un promedio de 23.67 UFC/100mL en Tiobamba y en el sector de San Rafael del Tingo un promedio de 23.00 UFC/100mL que indica que se encuentran por encima de los límites permisibles para cumplir con el criterio de calidad de aguas para uso agrícola en riego donde especifica que el valor máximo permisible es de 20 UFC/mL.

Los principales microorganismos presentes en los cuerpos de aguas son las bacterias tomando en cuenta que la temperatura y el pH son fundamentales para las mismas

Según Ríos. (2017) varios patógenos son complicados y costosos de cultivar e identificar ya que en ríos contaminados existen alto nivel de materia fecal y a la relación con la presencia de organismos patógenos, un factor importante a destacar es que menciona que los principales bio-indicadores establecidos en todo el mundo incluyen coliformes fecales, *E. coli* o, se ha logrado evidenciar que otros microorganismos que tienen un mejor comportamiento como bioindicadores.

En el caso del río Cutuchi no muestran estudios de identificación de bacterias ya que la presencia de coliformes es abundante, pero en los resultados presentes en este estudio se realizó la diferenciación de las mismas por agares distintivos y técnicas bioquímicas se

presenció bacterias gram negativas de *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* las causantes de infecciones bacterianas desconocidas por la población.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Se identificó la presencia de coliformes fecales en el río Cutuchi, las misma que puede llegar a causar graves enfermedades a la salud humana, ya que este río es utilizado para riego y consumo de los animales, este río llega a tener un promedio de 23 UFC/100mL a 23,67 UFC/100mL, los cuales comparando con la norma se encuentran por encima de los límites establecidos por el Libro VI Anexo I del TULSMA, el cual especifica que el valor máximo permisible de 20 UFC/100mL.

El río Cutuchi presenta coliformes fecales (*Escherichia coli*), este es un indicador en de contaminación de agua para determinar la calidad del agua de riego según la tabla 4 de la norma de calidad ambiental y descarga de efluentes al recurso agua, en cuanto a los parámetros in situ los resultados obtenidos están dentro de los límites máximos permisible, actualmente con las nuevas tecnologías se puede hacer una identificación y diferenciación completa de otros microorganismos en efluentes contaminados como nuevos bioindicadores para el análisis de aguas.

Estudios epidemiológicos carecen de información importante de la relación entre concentración de bioindicadores y el riesgo que representan para la salud, es fundamental que los análisis y resultados de estudios de calidad de agua sean sociabilizados en toda el área de estudio ya que muchos desconocen sobre criterios de calidad de aguas para sus distintos usos, en el caso las comunidades aledañas al río Cutuchi desconocen si el agua es apta o no apta para el riego de cultivos.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda que la toma de muestras sea en días y meses donde no interfiera la época de lluvia ya que puede existir alta variación de resultados al momento de ser analizadas como es el incremento de caudal, temperatura, pH y además afectando a las condiciones propias que presenta el río y el crecimiento bacteriano normal.

La toma de muestra debe ser almacenado y transportado en condiciones óptimas, es decir que deben estar en un frasco hermético, esterilizado y al momento de ser trasladado situarlo en un ambiente frío como establece en la norma técnica ecuatoriana INEN 2169:2013 que corresponde a agua. Calidad de agua, muestreo, manejo y conservación de muestras.

Se recomienda que al momento de sembrar o inocular una muestra de bacterias se pruebe con varios medios y al igual que sus preparaciones que son sólido (caldo), semi sólido (profundidad) y sólidos (agares) para observar su desarrollo y multiplicación si en alguno no presenta crecimiento.

Se debe tomar en consideración la identificación de bacterias en cualquiera de sus métodos para tener un resultado verídico en cuanto la intoxicación y enfermedades que puede causar a la población.

Se recomienda tener sociabilizaciones con los agricultores anualmente por que es importante que conozcan la calidad de agua que implementan para el uso de riego en sus cultivos y sobre todo como un derecho ambiental, social y de salud.

6. BIBLIOGRAFÍA

Agua, M., Normalmente, P., En, P., & Observar, R. (s. f.). *Pruebas bioquímicas de identificación de bacterias*.

Antonio, J., Nieto, S., & Ramos, S. V. (s/f). *Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón Coordinador: Germán Bou Arévalo Autores: Ana Fernández Olmos Celia García de la Fuente*.

Barrera, A. A., & Cepeda, J. G. (2020). "Evaluación Espacio–Temporal De La Calidad Del Agua Del Río Cutuchi En El Cantón Latacunga, Provincia De Cotopaxi, Período 2019- 2020". [Tesis de pregrado, Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad].

Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. En *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 29, Número 8). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>

Bustamante, M. (2012). Diagnóstico preliminar de la contaminación en el río Cutuchi y propuesta de un sistema de depuración para las aguas residuales de la ciudad de Salcedo (Vol. 33, Número 10) [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador]. http://dx.doi.org/10.1016/j.actamat.2015.12.003%0Ahttps://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/30/027/30027298.pdf?r=1&r=1%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jmrt.2015.04.004

Castillo-Martínez, L. (2012). *Identificación de Bacilos Gram negativo no fermentadores para aplicación en celdas de combustible microbianas y en bioremediación*. 71.

Castro, E. (2020). Universidad técnica de cotopaxi (Vol. 1) [Tesis de pregrado, Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI000727.pdf>

Clavijo, M. (2017). Estimación de la calidad del agua del río Cutuchi, Iatacunga, Cotopaxi, mediante análisis de bioindicadores [Tesis de pregrado, Universidad Internacional SEK]. <https://repositorio.uisek.edu.ec/handle/123456789/2578>

Clinic, M. (2022). Infección por salmonela. Mayoclinic.org. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/salmonella/symptoms-causes/syc-20355329>

Clinic, M. (2021). Infección por shigela. Mayoclinic.org. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/shigella/symptoms-causes/syc-20377529>

Fernández et al. (2017). Aplicación del índice de calidad de agua en el río Portoviejo, Ecuador. *Revista de Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 38(3), 41-51 p.

Gallut, P. (2016). Aislamiento y Cultivo de microorganismos asociados a oncoides de manantiales hidrotermales de Santispac, Bahía Concepción, B.C.S., México. *Centro de Investigacion Biologicas del Noroeste, S.C.*, 1, 1-70.

INSTRUCTIVO INT/SFA/12 MUESTREO PARA ANÁLISIS DE AGUAS. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/agua5.pdf>

Lara, R. (2005). RECURSOS HÍDRICOS y CONTAMINACIÓN DE LA CUENCA DEL RÍO CUTUCHI. Páramo, 18.

Lituma, E. (2016). Diseño Y Elaboración De Un Manual De Toma, Manejo Y Recepción De Muestras De Agua Para El Laboratorio De Calidad De Agua Del Departamento De Recursos Hídricos Y Ciencias Ambientales, Perteneciente A La Universidad De Cuenca [Tesis de pregrado, Universidad de Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/23659/1/TESIS.pdf>

Ríos. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236–247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>

MDM. (2020). SERIES DE IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA (UREA , CITRATO , LISINA , SIM Y TSI) Kit x unidad, 10 unidades, 20 unidades de medio de cultivo en tubo, listo para usar. *MDM Científica S.A.S.*, 4, 6. [https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/03/IS-24-SERIES-DE-IDENTIFICACION-BIOQUIMICA.pdf%0Ahttps://www.mineduc.gob.gt/DIGECADE/documents/Telesecundaria/Recursos](https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/03/IS-24-SERIES-DE-IDENTIFICACION-BIOQUIMICA.pdf%0Ahttps://www.mineduc.gob.gt/DIGECADE/documents/Telesecundaria/Recursos%20Digitales/1o%20Recursos%20Digitales%20TS%20licencia%20CC%20BY-SA%203.0/01%20CIENCIAS%20NATURALES/U4%20pp79) Digitales/1o Recursos Digitales TS licencia CC BY-SA 3.0/01 CIENCIAS NATURALES/U4 pp79

OMS. (2018). E. coli. Who.int. Recuperado el 1 de febrero de 2023, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

Navarro, M. O. (2007). Determinación de escherichia coli y coliformes totales en agua por el método de filtración por membrana en agar Chromocult. *Ideam*, 3, 17. <http://www.ideam.gov.co/documents>

Navntoft, C., Araujo, P., Mendive, C., Cicerone, D. S., Pizarro, R., Soler-illia, G., Dawidowski, L., Litter, M. I., & Blesa, M. A. (2010). Economic Technologies for Water Disinfection and Decontamination , *Advances in Argentina. Técnica*, 20(1), 45-53.

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2176. (2013). Obtenido de [https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2176-AGUA.-CALIDAD-DEL-AGUA.-MUESTREO.-T%C3%89CNICAS-DE-MUESTREO.pdf?x42051#:~:text=1.1%20Esta%20norma%20establece%20gu%C3%ADas,aguas%20residuales%20para%20su%20caracterizaci%C3%B3n.&text=2.1%](https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2176-AGUA.-CALIDAD-DEL-AGUA.-MUESTREO.-T%C3%89CNICAS-DE-MUESTREO.pdf?x42051#:~:text=1.1%20Esta%20norma%20establece%20gu%C3%ADas,aguas%20residuales%20para%20su%20caracterizaci%C3%B3n.&text=2.1%20)

Ramírez, C. A. S. (2011). *Calidad del Agua: Evaluación y diagnóstico*. Digiprint Editores

E.U. Digiprint Editores E.U. <https://books.google.at/books?id=2fAYEAAAQBAJ>

Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad*

Nacional de Salud Pública, 35(2), 236-247.

<https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>

SENAGUA. (2016). *Estrategia Nacional de Calidad del Agua*. Ministerio de Ambiente, Ecuador, 97. <https://n9.cl/1klc>

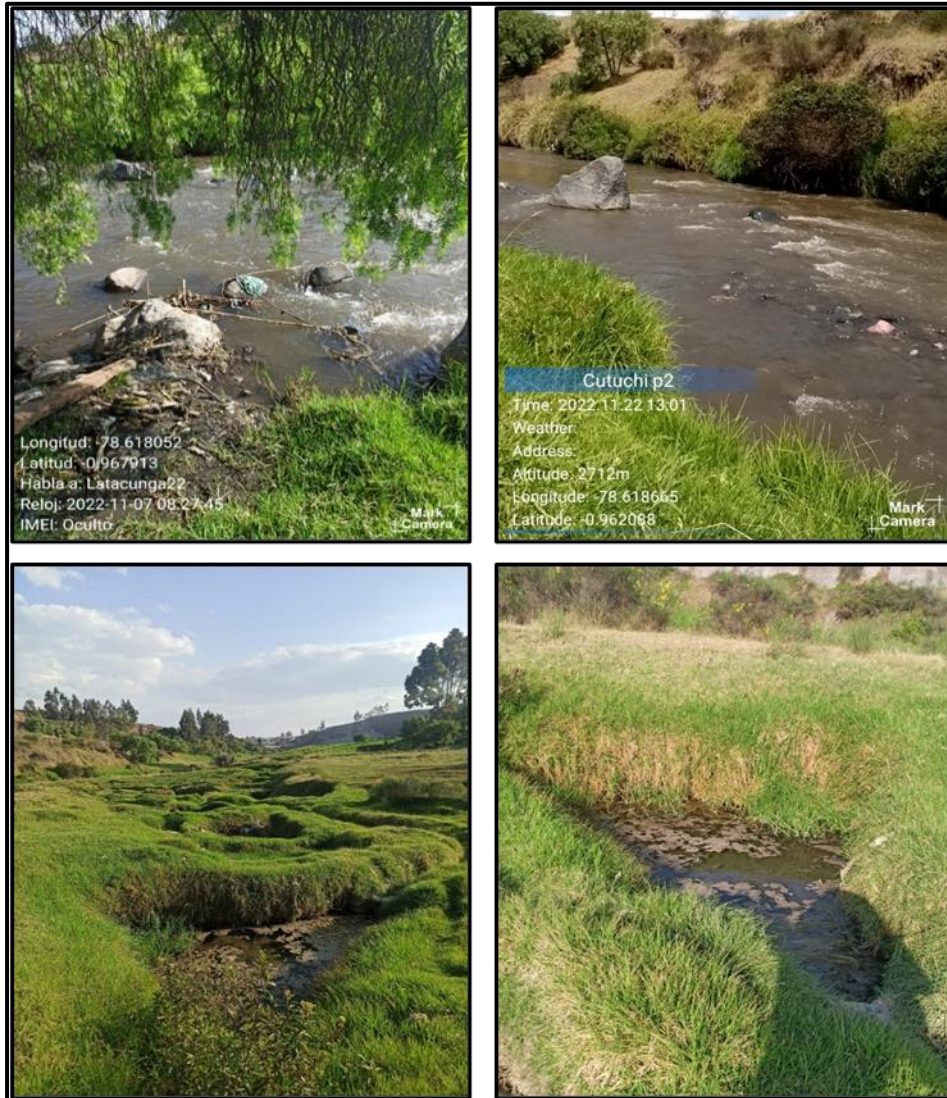
SIVE, (2021). *SUBSISTEMA DE VIGILANCIA SIVE- ALERTA ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR AGUA Y ALIMENTOS ECUADOR*. Salud.gob.ec.

<https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/05/Etas-SE-20.pdf>

7. ANEXOS

Anexo 1

Río Cutuchi puntos de muestreo



Nota: Se observa la geolocalización de los diferentes puntos de muestreo del río Cutuchi de la zona agrícola de Tiombamba y San Rafael del Tingo, con la aplicación móvil mark camera que da coordenadas exactas del lugar. Autores (2023)

Anexo 2

Recolección de muestra



Nota: Se observa el proceso de recolección de muestras en Tiombaba y San Rafael del Tingo del río Cutuchi previos a ser analizado. Autores (2023)

Anexo 3

Etiquetado de muestras



Nota. Se presenta el etiquetado según la norma INEN 2178:98 para calidad, muestreo, manejo y conservación de muestras que se las capto de los dos puntos del río Cutuchi de.

Autores (2023)

Anexo 4

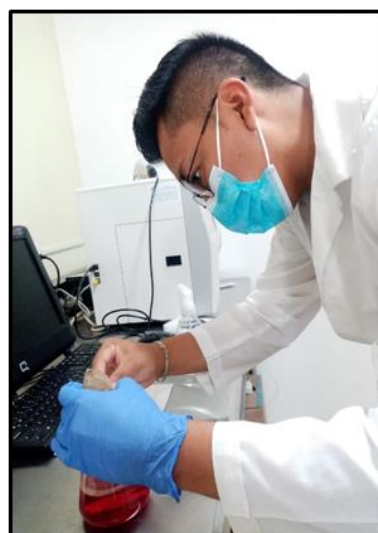
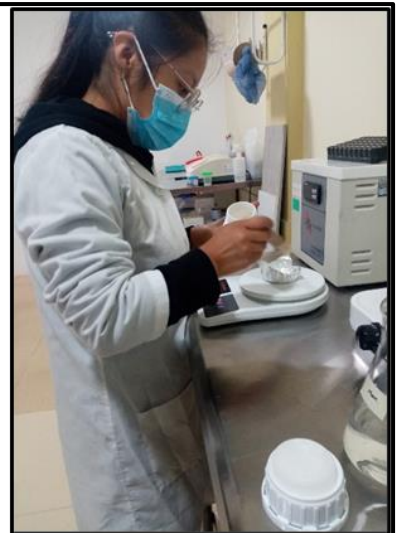
Medición de pH y temperatura



Nota: Se observa el resultado del pH y temperatura para realizar las respectivas estadísticas in situ para conocer los criterios de calidad de aguas para uso agrícola en riego, las mismas se midió tres diferentes horas del día correspondiente. Autores (2023)

Anexo 5

Preparación de diferentes agares





Nota: Proceso paso a paso para la elaboración de agares: manitol, MacConkey, nutriente y sangre desde el aforo de agua destilada, peso de polvo de agres, homogenización, para dar

lugar a la esterilización, verter en las cajas Petri y finalmente esterilizar en la cámara de fluido. Autores (2023)

Anexo 6

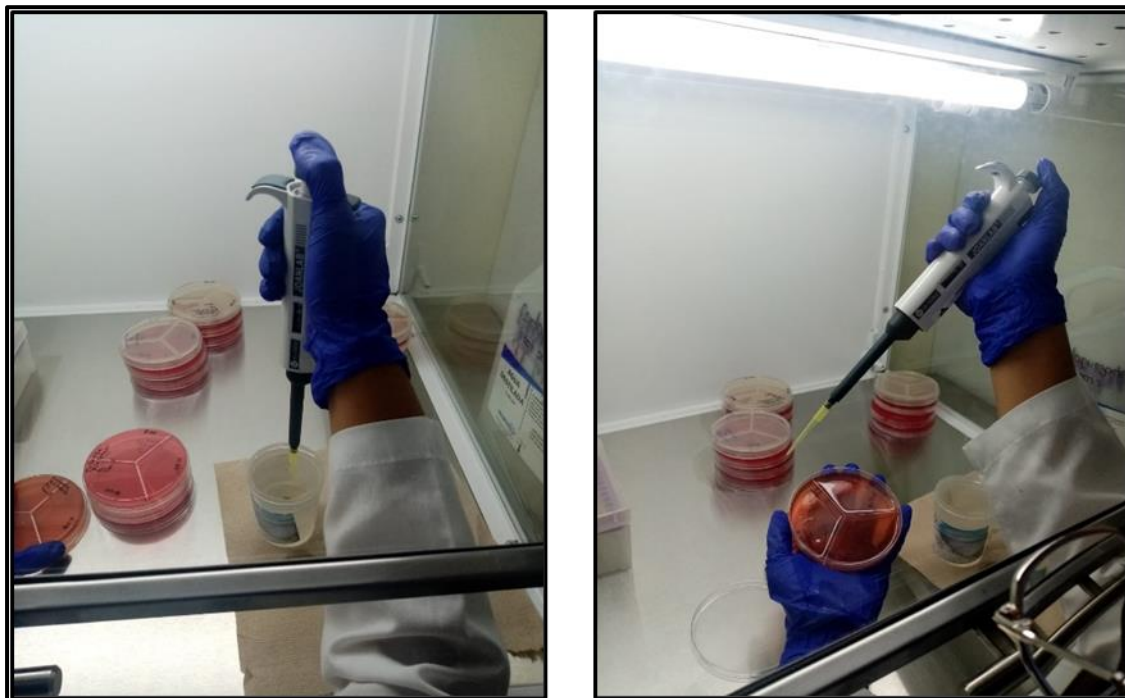
Siembra por estriado de las muestras del río Cutuchi



Nota: Se observa el estriado para las diferentes muestras en los agares esterilizados por la técnica de cultivo en caja Petri.

Anexo 7

Siembra de muestras por la técnica de disolución en tubos



Nota: Técnica de dilución en los tubos seriados para el recuento de bacterias para el NMP. Autores (2023)

Anexo 8

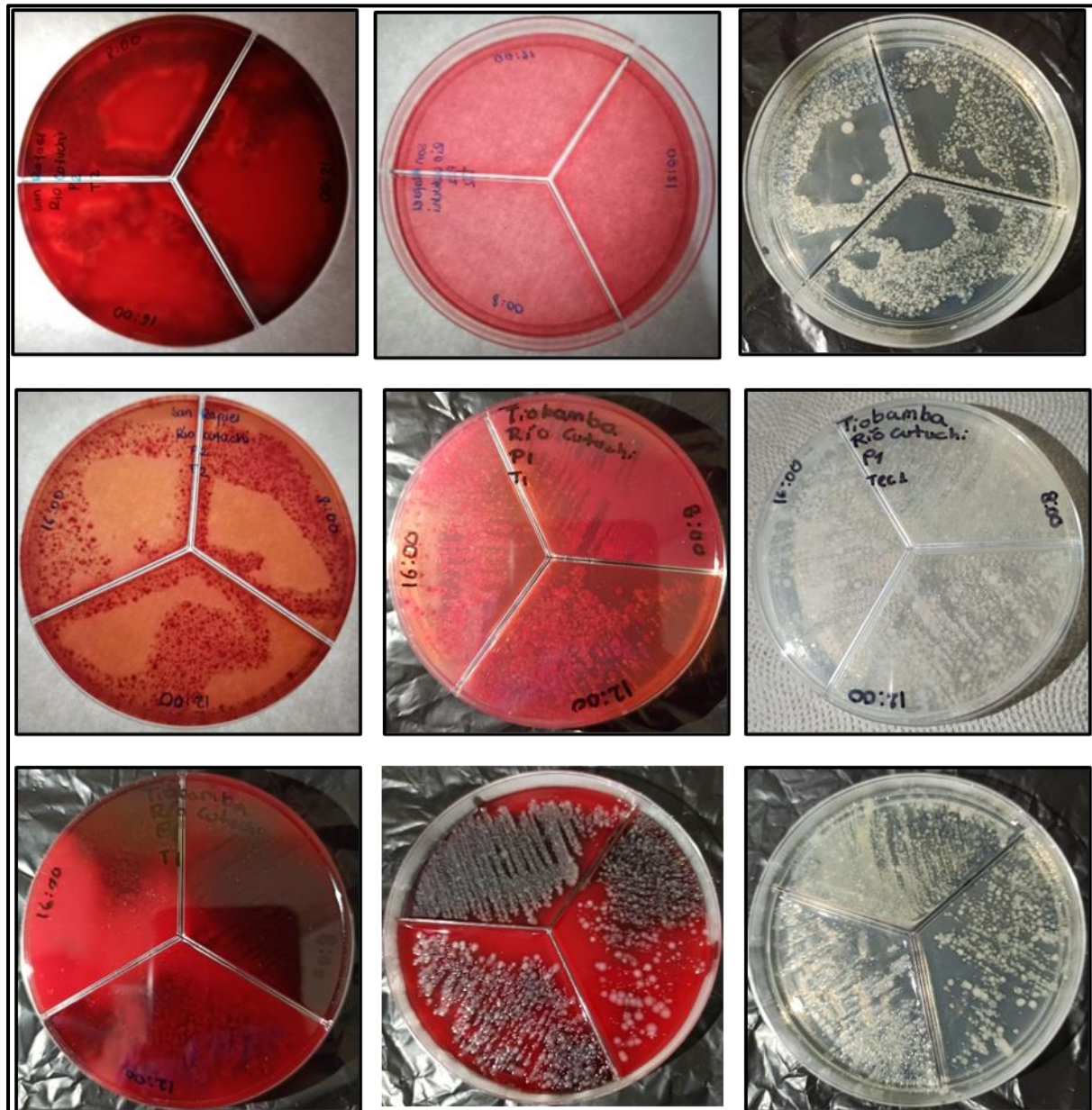
Siembra de muestra en caldo de cultivo



Nota: En un tubo que contiene medio de tioglicolato, previamente esterilizado se vierte una parte de la muestra con el fin que las bacterias aerobias se aíslen y poder hacer un pase tío en caso de que no crezca en los agares por siembra de estriado. Autores (2023)

Anexo 9

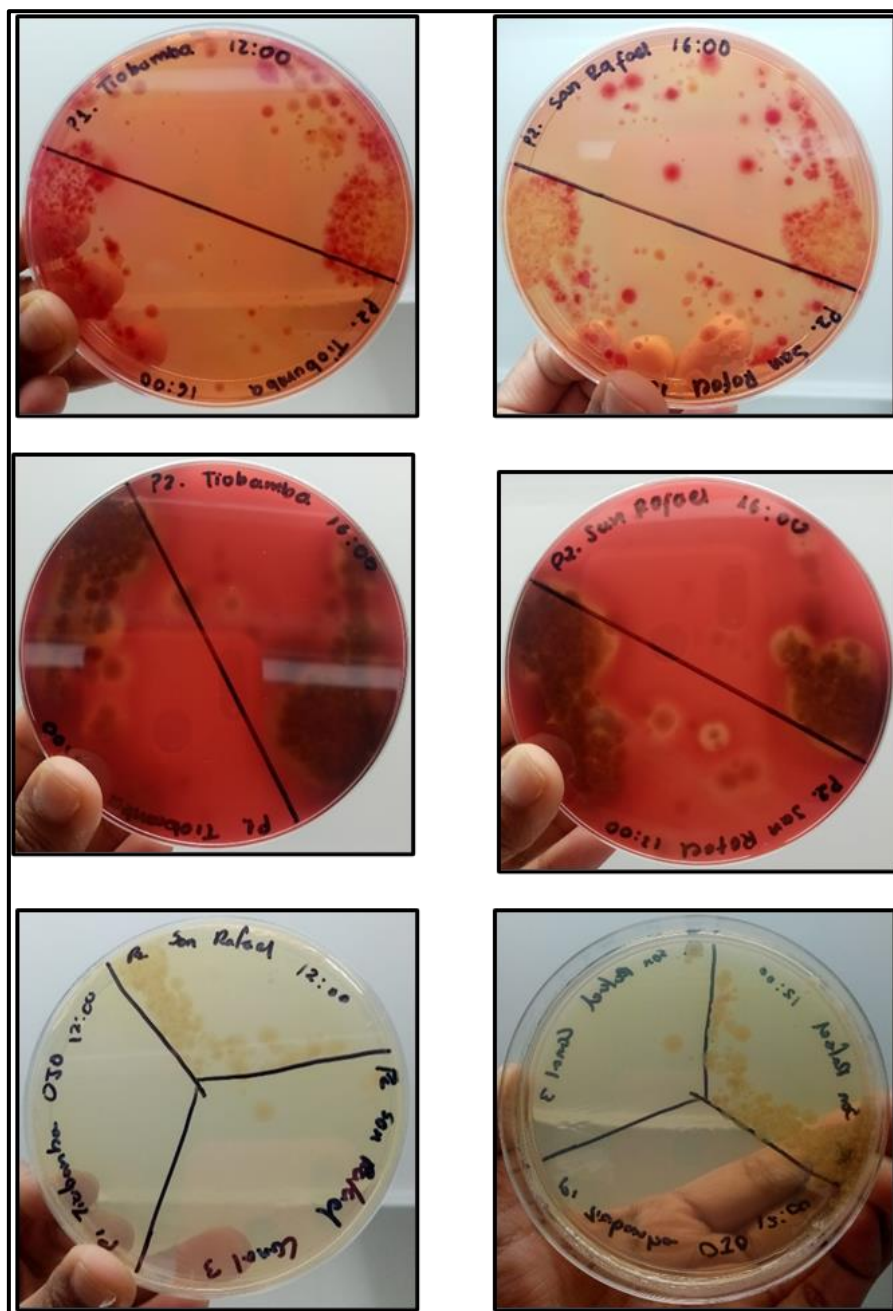
Siembra por estriado de primeras muestras



Nota: Se presenta los resultados de la siembra por estriado y disolución por tubos para hacer el recuento por NMP de cada uno de los agares ala igual que la identificación de las bacterias por lactosa, color. Autores (2023)

Anexo 10

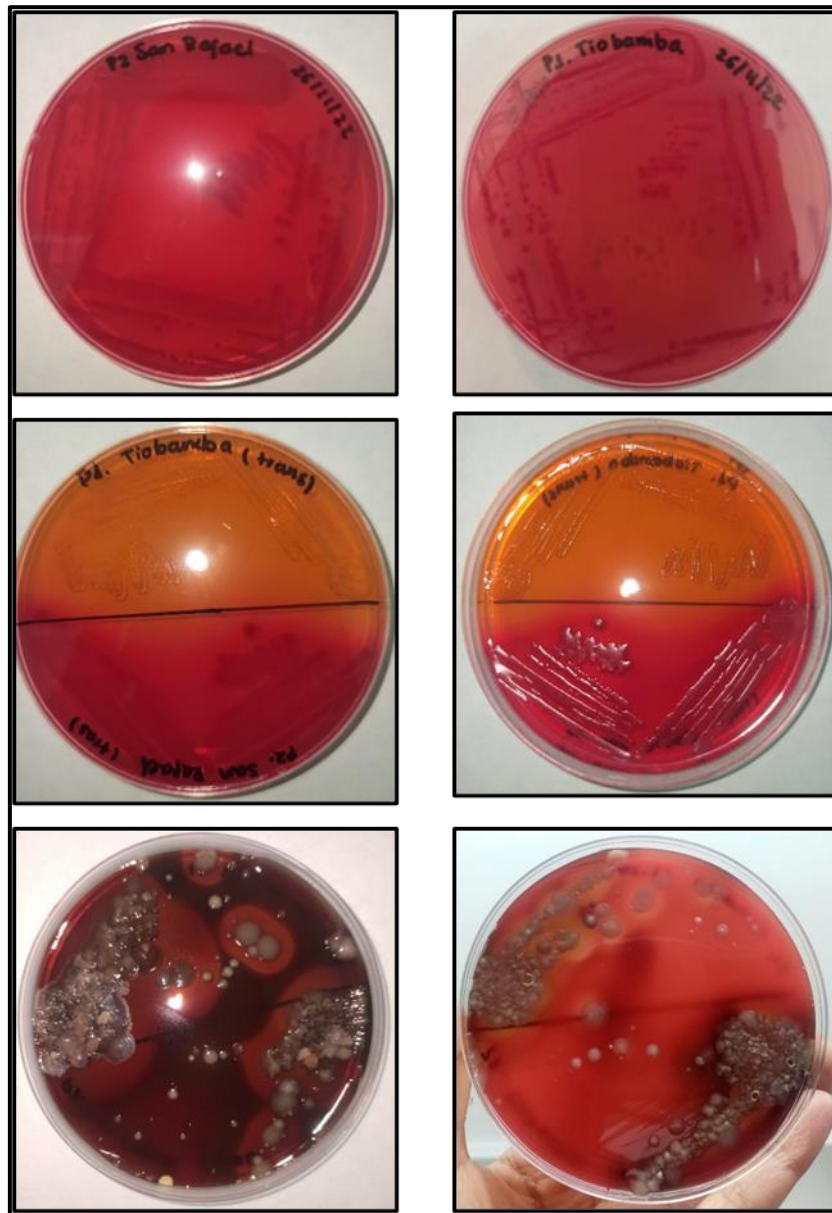
Resultados de segundas muestras en agares



Nota: Se observó crecimiento bacteriano en los dos puntos de muestreo, incluido un canal de riego cerca del punto dos, además fue necesario hacer la respectiva identificación de bacterias por la técnica de aislamiento ya que se encontraban colonias mezcladas, al igual se pueden hacer el recuento de bacterias.

Anexo 11

Aislamiento de las segundas muestras



Nota: Se observa presencia de bacteria *Escherichia coli* y *Shigella* en el agar MacConkey por lactosa negativa y positiva, además la presencia de una nueva bacteria en el agar sangre con alfa hemolisis llamada *Proteus*, resultados de los dos puntos del río Cutuchi incluidos los caudales.

Anexo 12

Identificación bioquímica de bacterias



Nota: Se observa los resultados obtenidos por la inoculación en cada uno de los agares en tubo de: TSI, LIA, CITRATO, UREA y SIM, confirmando que las bacterias son las que ya identificadas previos a los análisis anteriores.

Anexo 13

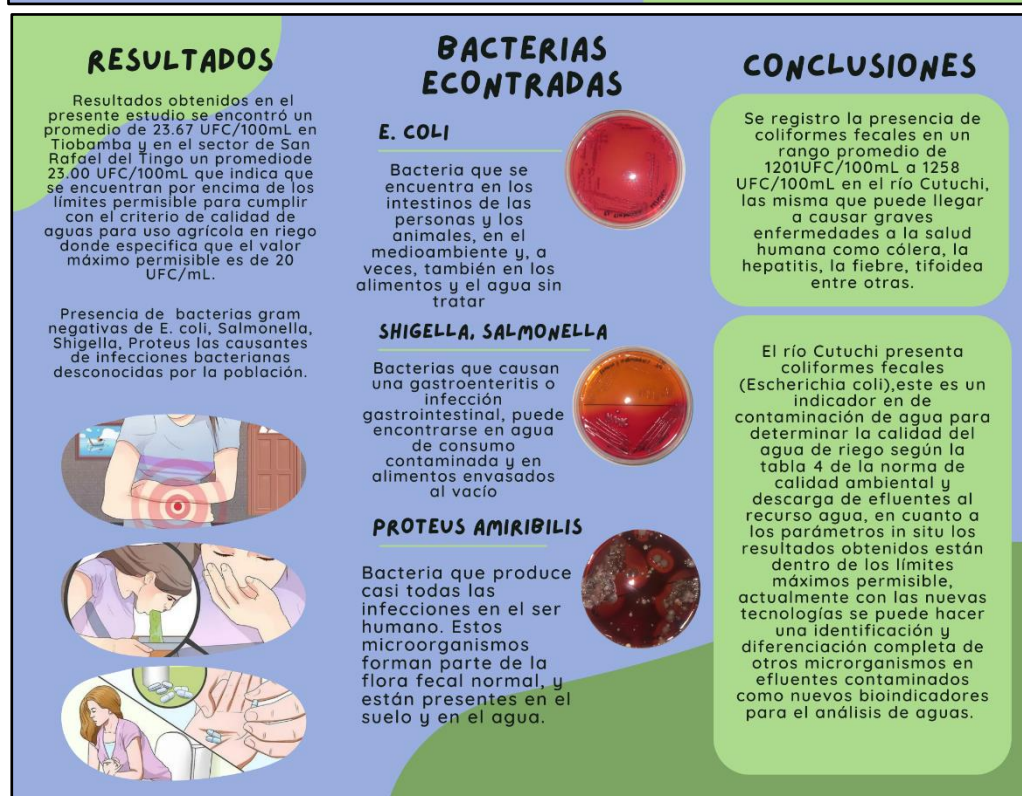
Valores permisibles de la norma del libro VI del texto unificado de legislación secundaria del ministerio del ambiente: norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua

TABLA 4: CRITERIOS DE CALIDAD DE AGUAS PARA USO AGRÍCOLA EN RIEGO			
PARAMETRO	EXPRESADO COMO	UNIDAD	CRITERIO DE CALIDAD
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico	As	mg/l	0,1
Berilio	Be	mg/l	0,1
Boro	B	mg/l	0,75
Cadmio	Cd	mg/l	0,05
Cinc	Zn	mg/l	2,0
Cobalto	Co	mg/l	0,01
Cobre	Cu	mg/l	0,2
Cromo	Cr ⁺⁶	mg/l	0,1
Flúor	F	mg/l	1,0
Hierro	Fe	mg/l	5,0
Litio	Li	mg/l	2,5
Mercurio	Hg	mg/l	0,001
Manganeso	Mn	mg/l	0,2
Molibdeno	Mo	mg/l	0,01
Níquel	Ni	mg/l	0,2
pH	pH		6-9
Plomo	Pb	mg/l	5,0
Selenio	Se	mg/l	0,02
Vanadio	V	mg/l	0,1
Coliformes fecales	NMP	NMP/100ml	1000
Huevos de parásitos			Ausencia
Aceites y grasas	Película Visible		Ausencia
Materia flotante	Visible		Ausencia

Nota: Se observa los valores máximos permisibles del libro VI del texto unificado de legislación secundaria del ministerio del ambiente: norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua.

Anexo 14

Tríptico utilizado para la sociabilización



Nota: Información puntual y en lenguaje claro usado en la sociabilización con los agricultores de Tiobamba y San Rafael del Tingo.