



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y BACTERIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE LA LAGUNA DE OZOGOCHÉ DE LA ZONA CENTRAL DEL ECUADOR”.

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Autora: Tiscama Flores, Denix Alexandra

Tutor: Dr. Mg. Galárraga Pérez, Edison Arturo

Ambato – Ecuador

Febrero 2020

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor del trabajo de investigación sobre el tema:

“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y BACTERIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE LA LAGUNA DE OZOGOCHE DE LA ZONA CENTRAL DEL ECUADOR” de Denix Alexandra Tiscama Flores estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometida a la evaluación del jurado examinador designado por H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Agosto del 2019

EL TUTOR

.....
Dr. Mg. Galárraga Pérez, Edison Arturo

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Proyecto de Investigación “**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y BACTERIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE LA LAGUNA DE OZOGOCHÉ DE LA ZONA CENTRAL DEL ECUADOR**”, como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones y propuesta son de mi exclusiva responsabilidad como autora de éste trabajo de grado.

Ambato, Agosto del 2019

LA AUTORA

.....
Tiscama Flores, Denix Alexandra.

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este proyecto investigativo o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este proyecto investigativo, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta producción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Agosto del 2019

LA AUTORA

.....

Tiscama Flores, Denix Alexandra

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación sobre el tema: **“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y BACTERIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE LA LAGUNA DE OZOGOCHÉ DE LA ZONA CENTRAL DEL ECUADOR”** de Denix Alexandra Tiscama Flores, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Febrero del 2020

Para constancia firman

.....
PRESIDENTE/A

.....
1er VOCAL

.....
2do VOCAL

DEDICATORIA

Dedico el fruto de uno de mis más grandes esfuerzos a la mejor creación sobre la faz de esta tierra, al primer regalo sorpresa cuadruplicado con el que Dios me sorprendido.

A ustedes, familia, quienes me han mostrado irrepetibles ocasiones las razones por las que vale la pena el sacrificio; gracias a ti padre del cielo por haberme puesto en las manos del mejor hombre, a quien admiro desde que nací y por el que no desfallezco en busca de enorgullecer; gracias por el corazón de mi familia, mi madre, la fuerza y el amor personificado y gracias a mis dos hermanos, en cuya unión me han acompañado al abandonar nuestra casa, encaminados a compartir esta dura trayectoria en busca de una misma meta .

No encuentro palabras para demostrar lo mucho que los amo, sin ustedes esto no sería posible, por esto y más se los dedico con amor.

Denix Tiscama

AGRADECIMIENTO

Agradezco el aporte que me ha dado la Universidad Técnica de Ambato a lo largo de todos estos años de formación académica, alado de los mejores guías responsables de mi formación profesional. Especialmente agradezco a unos de sus integrantes, a usted Dr. Mg. Edison Galárraga, por su paciencia y motivación constante desde inicios del proyecto para finiquitar el logro compartido con mis compañeros tesisistas, a los que también dirijo mi gratitud.

Gracias al BQF. Víctor Guangasig por su preciada guía teórico práctica a la que me ha hecho participe en conjunto con mis compañeros. Infinitas gracias al Ministerio del Medio Ambiente por otorgarme el permiso necesario para cumplir mi objetivo de investigación y a mis cuatro personas favoritas, mi familia, quienes me han acompañado sin preámbulo en cada paso dado hasta el día de hoy.

Denix Tiscama

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO.....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	1
1. MARCO TEÓRICO.....	2
1.1. Antecedentes Investigativos	2
1.2. Fundamento Teórico	6
1.3. OBJETIVOS.....	12
1.2.1. Objetivo General	12
1.2.2. Objetivos Específicos	12
CAPÍTULO II.....	14
2. METODOLOGÍA	14
2.1. Tipo de investigación	14
2.2. Nivel o tipo de investigación	15
2.3. Selección del área o ámbito de estudio	16
2.4. Población y muestra	17
2.5. Criterios de inclusión y exclusión	21
2.6. Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de muestras	22
2.7. Materiales	47
CAPÍTULO III	49
3.1. Resultados	49
3.1.1. Discusión de los resultados	79

3.2. Hipótesis.....	81
3.2.1. Hipótesis Nula	81
3.2.2. Hipótesis Alternativa	81
3.2.3. Verificación de la hipótesis	81
CAPÍTULO IV	83
4.1. Conclusiones	83
4.2. Recomendaciones	85
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
ANEXOS.....	93

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Mapa de coordenadas de la Laguna Ozogoche.....	20
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Valores de Potencial de Hidrogeno de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	50
Tabla 2: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Potencial de hidrogeno.	50
Tabla 3:Valores de Temperatura de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	51
Tabla 4: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Temperatura del efluente.	51
Tabla 5:Valores de concentración de Nitratos en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	52
Tabla 6: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Nitratos del efluente.	53
Tabla 7: Valores de concentración de Nitritos en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	54
Tabla 8: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Nitritos del efluente.	55
Tabla 9: Valores de Turbiedad de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.....	56

Tabla 10: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Turbiedad del efluente.....	56
Tabla 11: Valores de concentración de Amoniacó en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019	57
Tabla 12: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Amoniacó del efluente.....	57
Tabla 13: Valores de concentración de Sólidos Totales Disueltos en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	58
Tabla 14: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Sólidos Totales Disueltos del efluente.	59
Tabla 15: Valores de Conductividad eléctrica de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	60
Tabla 16: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Conductividad del efluente.	61
Tabla 17: Valores de Alcalinidad de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	61
Tabla 18: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Alcalinidad del efluente.....	62
Tabla 19: Valores de concentración de Sulfatos en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019	63
Tabla 20: Valores de Demanda Bioquímica de Oxígeno de las aguas de la Laguna de Ozogoche, en conjugado de cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	64
Tabla 21: Valores de concentración de Coliformes Totales en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	65
Tabla 22: Prueba ANOVA para evaluación de diferencia significativa en los resultados de Coliformes Totales del efluente.....	65
Tabla 23: Valores de concentración de Coliformes Fecales (<i>E.coli</i>) en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	67
Tabla 24: Valores de concentración de Aerobios Mesófilos Totales en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.	67
Tabla 25: Prueba ANOVA para evaluación de diferencia significativa en los resultados de Aerobios Mesófilos del efluente.....	68
Tabla 26: Identificación de las cepas aisladas.	70

Tabla 27: Interpretación de resultados del antibiograma, aplicado en las cepas identificadas, frente al punto de corte de la CLSI 2019.....	73
Tabla 28: Estadísticas descriptivas de indicadores de calidad hídrica frente a valores reafereenciales del Texto Unificado de Legislación Secundaria (TULSMA).	76
Tabla 29: Estadísticas descriptivas de los indicadores de calidad hídrica frente a valores referenciales de la Direccion de General de Salud Ambiental.y la NTE INEN 1 108:2006.....	77
Tabla 30: Resultados de los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos frente al Índice de Calidad General de las aguas de la Laguna de Ozogoche.	82
Tabla 31: Criterios Generales del Índice de Calidad del Agua (ICA).	82

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y BACTERIOLÓGICA DE LAS
AGUAS DE LA LAGUNA DE OZOGOCHÉ DE LA ZONA CENTRAL DEL
ECUADOR”**

Autora: Tiscama Flores Denix Alexandra

Tutor: Dr. Mg. Galárraga Pérez Edison Arturo

Fecha: Agosto, 2019

RESUMEN

La Laguna de Ozogoché forma parte del gran sistema lacustre ecuatoriano perteneciente a la Zona Central del Ecuador; se halla situada en la Provincia de Chimborazo, Cantón Alausí al suroeste de los predios del Parque Nacional Sangay, bajo resguardo del Ministerio del Ambiente; entidad que extendió el permiso respectivo para direccionar el estudio en búsqueda de la caracterización físicoquímica y bacteriológica de sus aguas superficiales; en 6 puntos de muestreo, horas de la mañana y tarde, durante el periodo noviembre 2018 – enero 2019. Se analizaron un total de 48 muestras, de las cuales el 100% cumplen con la normativa vigente de los índices de calidad TULSMA, para: temperatura, pH, nitratos, nitritos, turbiedad, sulfatos, amoníaco, DBO, sólidos totales disueltos y coliformes totales; alcalinidad, conductividad eléctrica por debajo de lo establecido y Aerobios Mesófilos Totales en conformidad con la OMS. Así mismo se siguió el proceso de identificación mediante la aplicación de cultivos y pruebas bioquímicas que aportaron en el reconocimiento de 6 cepas distintas, posteriormente inoculadas a fin de evaluar su comportamiento frente a 10 antibióticos (AMC, SAM, CXM, CTX, CN, AK, TE, OFX, F y SXT), interpretando: cepas de *K. ozaenae* sensible en un 100%; *P. vulgaris*, resistente a Tetraciclina y Nitrofurantoina; *E. cloacae* y *E. agglomerans*, sensibles a cefalosporinas, aminoglucósidos, tetraciclina, quinolona, nitrofurantoina y Trimetoprim/Sulfametoxazol; resistencia intrínseca en *S.*

marcescens y *E. aerógenes* resistente a Cefuroxima y β -Lactámicos en combinación, conforme a lo descrito por la CLSI 2019. La aceptabilidad del acuífero, de acuerdo al criterio designado (fines de consumo y uso doméstico), fue afianzada a través del Índice de Calidad de agua, ubicándolo con un 82% en el rango codificado para decretarlo libre de contaminación.

PALABRAS CLAVE: LAGUNA, CALIDAD, FÍSICOQUÍMICO, BACTERIOLÓGICO, ANTIBIÓTICO.

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO

FACULTY OF HEALTH SCIENCES

CLINICAL LABORATORY CAREER

**"PHYSICOCHEMICAL AND BACTERIOLOGICAL
CHARACTERIZATION OF THE LAGUNA DE OZOGOCHÉ WATERS OF
THE CENTRAL ZONE OF ECUADOR"**

Author: Tiscama Flores Denix Alexandra

Tutor: Dr. Mg. Galárraga Pérez Edison Arturo

Date: August, 2019

ABSTRACT

Laguna de Ozogoché forms part of the grand sistema lacustre ecuatoriano which pertain to the Zona Central del Ecuador. It is situated in the Provincia de Chimborazo, Cantón Alausí within the southwest region of the Parque Nacional Sangay and it is under the protection of the Ministerio del Ambiente; the entity that extended the respective permit to direct the study in search of the physicochemical and bacteriological characterization of its surface waters. during the period of November 2018 - January 2019, samples were collected in the morning and evening hours from 6 sampling points. A total of 48 samples were analyzed, 100% of which complied with the current regulations of the TULSMA quality indexes, for: temperature, hydrogen pH, nitrates, nitrites, turbidity, sulphates, ammonia, DBO, total dissolved solids, and total coliforms; alkalinity, electrical conductivity below the established, Total Aerobic Mesophiles were in accordance with the OMS. Likewise, the identification process was followed through the application of cultures and biochemical tests that contributed to the recognition of 6 different strains, subsequently inoculated in order to evaluate their behavior against 10 antibiotics: AMC, SAM, CXM, CTX, CN, AK, TE, OFX, F, and SXT. Result strains: *K. ozaenae* was 100% sensitive; *P. vulgaris* was resistant to tetracycline and nitrofurantoin; *E. cloacae* and *E. agglomerans* were sensitive to cephalosporins,

aminoglycosides, tetracycline, quinolone, nitrofurantoin, and trimethoprim/sulfamethoxazole; *S. marcescens* had intrinsic resistance; and *E. aerogenes* was resistant to a combination of cefuroxime and β -lactams. Results are consistent with what is described by the CLSI, 2019. The acceptance of this aquifer, in accordance with the designated criterion (for purposes of consumption and domestic use), was secured through the Water Quality Index. The aquifer was given a score of 82%, placing it within the codified range to decree it as pollution free.

KEY WORDS: LAGOON, QUALITY, PHYSICAL-CHEMICAL, BACTERIOLOGICAL, ANTIBIOTIC.

INTRODUCCIÓN

La superficie terrestre está formada aproximadamente por un 25% de masa continental dejando un generoso 75 % restante para el alojamiento del líquido más ampliamente distribuido (1). Dicho de este modo la cantidad de agua en el planeta genera una percepción de abundancia, empero, un 97,.5% de ella contiene sales minerales disueltas volviéndola no apta para consumo humano y dejando un modesto 2,5% de su totalidad que, a pesar de ser dulce, tampoco es considerada idónea (1). Son diversos los factores, fuera de nuestro control, que influyen negativamente dejándonos con apenas un 30% de agua en estado líquido disponible para ser consumida (1). No obstante, existen otros tipos de factores provocados por el mismo ser humano de los cuales hoy por hoy limitan aún más un volumen hídrico de calidad. Las estadísticas se tornan cada vez más alarmantes a medida que se profundiza su investigación y hay que recordar además la disposición de los cuerpos que la contienen. Los lagos y lagunas son dos de los representantes más importantes de los tipos de cuerpos hídricos superficiales, que no se han visto amenazados únicamente en países altamente industrializados, sino también en aquellos de menor impacto socioeconómico (2). Ecuador en su intento de preservación, recuperación y más que todo saneamiento de aguas, han creado leyes y normas severas con el fin de atender la problemática que día tras día degrada aún más su calidad. Es por esto por lo que, se ha propuesto limitar el consumo de agua no solo por razones de salubridad y estabilidad ciudadana, sino que también, en un intento de proteger reservas ecológicas enteras del abuso que representan sus habitantes. La Laguna de Ozogoché ubicada en el Cantón Alausí de la Provincia de Chimborazo, es una de las gigantes más enigmáticas pertenecientes a la zona central del Ecuador, misma que bajo la protección del ministerio del Medio Ambiente forma parte del Parque Nacional Sangay (3). A pesar de que por su localización se encuentra aislada de la población en general; esta laguna está rodeada parcialmente por habitantes de una pequeña comunidad, quienes se benefician de su fuente haciendo uso de sus aguas para su consumo y lucro económico apoyados por el impacto turístico del cual es afamada como consecuencia del conocido fenómeno del suicidio de las aves cuvivíes.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

Ríos et al. (2017), realizaron un artículo científico bajo el tema “Pathogens and microbiological indicators of the quality of water for human consumption”, cuyo objetivo consistió en la especificación de los principales microorganismos bioindicadores de calidad hídrica para consumo humano, como base fundamental en la implantación de un nuevo esquema de monitoreo en Colombia. La metodología expuesta en dicha investigación consistió en la exploración y compilación de información, para lo cual, fueron seleccionados varios artículos científicos en bases de datos como: Pubmed, Springerlink, y Science Direct, obteniendo como resultado un esquema conceptual dispuesto en tres grupos. Siendo así, como parte del dominio bacteriano, continuó dándose cabida al subgrupo de las gram negativas que conforman la familia enterobacteriaceae con los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*, entre otros.

Se describió además, a los géneros *Pseudomona* (no enterobacteriaceae) y *Proteus* (enterobacteriaceae), no solo por su gran capacidad para sobrevivir y proliferarse en el medio acuático, sino también, por su acción inhibitoria principalmente sobre Coliformes Totales, permitiendo concluir que, existen grupos no incluidos en el monitoreo habitual y que al influir negativamente sobre otros, llevan a un mal reporte de la calidad hídrica. Corroborando la importancia de un adecuado análisis bacteriológico de mayor amplitud que incluya estos géneros, en búsqueda de mejores resultados (4).

Recalde et al, (2010), en su investigación “Caracterización Ambiental del Sistema Lacustre Ozogoché”, cumpliendo con su objetivo para determinar las características físico – química, microbiológica y macroinvertebrados del agua a través de índices ambientales, establecieron su metodología apoyándose en la selección de los Ríos:

Chaupiurco, Ozogoche, , Arrayan, Pichahuina y Yancocha, así como también, en las Lagunas Magtayan y Boazo, tomándolos como puntos de muestreo para calcular el ICA (Índice de Calidad de Agua) global del sistema. Valores tras determinación de temperatura del agua, coliformes fecales, conductividad eléctrica, sólidos totales, pH, turbidez, demanda bioquímica de oxígeno, nitratos, nitritos y fosfatos fueron incluidos en el cálculo para arrojar un resultado de 77.45 en un rango de 70 – 89 calificándola como buena. Concluyendo con la descripción de un estado hídrico favorable en cuanto a su calidad global; pudiendo destinar el agua de su fuente, con toda seguridad, a la preservación de flora y fauna, riego agropecuario y el consumo tras desinfección con cloro (5).

Murgueitio et al, (2014) “Caracterización fisicoquímica de la Laguna de Mapaguiña, provincia de Chimborazo”, en su afán por conservar y potenciar los recursos naturales estratégicos, se plantearon como objetivo el realizar la caracterización físico-química de las aguas de la Laguna de Mapaguiña para determinar su índice de calidad hídrico. El muestreo estuvo dispuesto en tres campañas, seleccionando varios puntos ayudados con un GPS; en los bordes del acuífero, cerca de sus vertientes, en el centro de la fuente y en su bifurcación que comunica con el Río Chúquirá. Los resultados arrojados para el cálculo del ICA involucraron a los parámetros fisicoquímicos tales como: pH, nitritos, conductividad, alcalinidad, nitratos, sulfatos, fosfatos y turbidez, mismos que al final fueron promediados conforme a los puntos estratégicos ya mencionados. Obteniendo un ICA de 73.64 en los bordes, 86.82 en las vertientes, 89.78 en la bifurcación que comunica con el Río Chúquirá y 72.63 en el centro; se concluyó que, tras análisis del índice de calidad global obtenido de los cuatro valores expuestos, en promedio, el grado de calidad fue de 80.72 puntos. Logrando atender a sus diferentes usos, tales como: abastecimiento público, recreación, navegación y conservación del recurso, entonces se catalogó a la Laguna de Mapaguiña como “Buena” (6).

Rodriguez et al. (2018), plantearon la importancia de un continuo monitoreo de la calidad hídrica, en los ecosistemas acuáticos usados como fuente de abastecimiento

local, por medio de un proceso de valoración microbiológico que involucre la identificación de bacterias, tales como: coliformes totales o fecales y *Pseudomona aeruginosa*. Esto, a través de su trabajo de investigación denominado “Presencia de indicadores microbiológicos en el agua para consumo humano en San Cosme, (Corrientes, Argentina)”, mismo que tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiana del agua de consumo humano proveniente de las fuentes de abastecimiento en la localidad San Cosme, Argentina. La metodología inició por la selección de 12 puntos de muestreo a partir de dos tipos de fuentes, subterránea y superficial, dándose paso al muestreo trimestral del agua de una laguna próxima (superficial), haciendo un total de cuatro repeticiones. En cada viaje, se tomaron datos de temperatura y hora de extracción; codificándolos al costado de un envase plástico previamente tapado, después de haberlo sumergirlo 20cm por debajo de la superficie del acuífero, obteniendo una muestra por estación. A fin de conservar la muestra los envases fueron refrigerados (4-6°C) para lograr retrasar la función metabólica bacteriana, sin causar su muerte, en un tiempo de transporte no mayor a 24 horas. Los resultados dados por el laboratorio, advirtieron: oscilación en los contajes de coliformes fecales, en todo el periodo, aumentándose durante el tercer y cuarto muestreo sumados a la presencia de *Pseudomona aeruginosa* y presencia ocasional de *P. aeruginosa* con recuento nulo de coliformes fecales. Concluyendo finalmente que; a pesar del incremento de coliformes fecales, en épocas de lluvia, acompañada de la presencia de *P. aeruginosa*, atribuida al arrastre de agua típico de la temporada; es necesario el acompañamiento del proceso de identificación para *P. aeruginosa* al análisis bacteriano convencional (coliformes totales y/o fecales) puesto que, por la capacidad inhibitoria de dicha especie oportunista, es muy posible haber sesgado los resultados del análisis aplicado anteriormente en este y cualquier otro tipo de fuente de abastecimiento local (7).

Coello et al. (2013), en su afán por conocer el cambio generado por los factores medioambientales y actividades antrópicas sobre las aguas de superficie más importantes de Parque Nacional Sangay, efectuaron un estudio acerca de la “Aplicación de ICA-NSF para determinar la calidad del agua de los ríos Ozogoché, Pichahuiña y Pomacocho – Parque Nacional Sangay –Ecuador”, mismo que tuvo

como objetivo establecer la calidad de agua utilizando el Índice de Calidad De Agua (ICA) de la National Sanitation Foundation de Estados Unidos (NSF) en los ríos alto andinos que forman parte del parque en mención. En el estudio se incluyeron las muestras más representativas de las microcuencas, correspondientes a: 6 puntos en el Río Ozogoché, 8 en el Río Pichahuiña y 4 en el Río Pomacocho, tomadas mensualmente en el lapso de un año (febrero 2011 a febrero 2012), tratando de cubrir época seca y lluviosa. La metodología empleada consistió en la determinación de parámetros fisicoquímicos como: Demanda Bioquímica de oxígeno (DBO_5), potencial de hidrógeno (pH), temperatura, sólidos totales, coliformes fecales, nitratos y turbiedad, cuyos valores (parámetro a parámetro) fueron promediados e ingresados al software de calidad (NSF), para conocer el estado de calidad de cada punto. Posteriormente, se obtuvo el promedio de la totalidad de los datos de cada parámetro y de la misma forma, se los ingresó al software para obtener el índice de calidad general de las microcuencas. Además, los mismos valores arrojados tras determinación de cada parámetro fueron comparados con los límites máximos permisibles en conformidad con la Norma Técnica Ambiental dispuesta en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA), con el fin de analizar las condiciones del agua en cuanto a uso/calidad. Todos los resultados, a excepción de la DBO_5 (concentraciones desde 1,46 mg/L en Ozogoché hasta 4,48 mg/l en Pochahuiña)⁵, se mostraron dentro de los límites permitidos; con respecto a ICA-NSF, indicaron valores en rangos de 71-90 (71 en el Río Pamachocho y 88 en los Ríos Pichahuiña y Ozogoché). En materia microbiológica, se identificó la presencia de coliformes fecales en el Río Ozogoché como consecuencia de actividad ganadera cercana. Concluyendo una buena calidad general del agua en las microcuencas que, a su vez, en su mayoría cuenta con resultados en conformidad con TULSMA, aptos para descarga en cuerpos de agua o sistemas de alcantarillado. Sin olvidar que, debido a la presencia de coliformes fecales y excesivas cantidades de DBO_5 se hace necesario un monitoreo de las descargas de agua proveniente de las actividades domésticas (8).

Canaquiri et al. (2016), en su investigación denominada “Estudio y análisis Físico-Químicos y Bacteriológicos del cuerpo de agua Lago Morona Cocha, Iquitos -

Loreto” se plantearon como objetivo, estudiar y analizar físico-química y bacteriológicamente el cuerpo de agua del Lago Morona Cocha. Dentro de su metodología describieron su trabajo en tres etapas: pre-campo, estableciendo tres puntos de monitoreo en época seca (estación de verano) y lluviosas (estación medio creciente y estación creciente), punto 1 (frente al Grifo Morona Cocha), punto 2 (frente al Aserradero Morona) y punto 3 (frente a la iglesia Morona Cocha); campo, determinando parámetros de análisis, tales como: temperatura, pH, coliformes totales, coliformes termotolerantes y post-campo analizando los resultados y concluyendo la investigación. De acuerdo a las tres estaciones monitoreadas, los resultados arrojados en cada uno de los tres puntos correspondieron a: temperatura, en verano (28; 28 y 27.5) °C, medio creciente y creciente (27;27 y 27) °C; potencial de hidrógeno, en verano (6,0; 5,8 y 5,9) pH, medio creciente (6,66; 6,62 y 7,67) pH y creciente (7,67; 7,53; y 7,33) pH, coliformes totales, verano (900; 700 y 1400) UFC/100 mL, medio creciente (700; 500 y 1200) UFC/100 mL y creciente (800; 600 y 1000) UFC/100 mL; y coliformes termotolerantes, verano (160; 130 y 320) UFC/100 mL, medio creciente (140; 100 y 240) UFC/100 mL y creciente (100; 90 y 200) UFC/100 mL. En conclusión, los valores paramétricos de: temperatura ligeramente elevada debido a la época de verano; pH ligeramente ácido durante el verano y alcalino en época de lluvias; coliformes de tipo total y fecal, establecieron la calidad de sus aguas, no aptas para consumo humano. Dictando, por ende, la urgencia de darles tratamiento de potabilización, previo aprovechamiento (9).

1.2. Fundamento Teórico

El volumen hídrico disponible en el mundo corresponde al total acumulado de agua subterránea y superficial; a lo que se le conoce como reserva hídrica. Partiendo de este punto es fácil deducir que, la cantidad de agua dulce con la que cuenta un país depende del volumen que recibe por precipitación contra lo que pierde por evaporación de los cuerpos de agua o debido al fenómeno de evapotranspiración de la vegetación. Lo que resta de él, discurre superficialmente a manera de fuente no puntual para abrirse paso formando canales dispersos que confluyen y desembocan

finalmente en corrientes naturales como: arroyos y ríos; o en aglomeraciones de aguas en reposo relativo como: lagos, lagunas, embalses y mares (10).

El efecto preciso que el cambio meteorológico vaya provocando, como principal factor responsable de la cantidad agua dulce, es incierto. Suramérica, sin embargo, es considerada la región con la mayor cantidad de recursos hídricos renovables en el mundo; con cerca del 31.8% del total distribuidos mayoritariamente en: Brasil, Ecuador y Colombia. Países latinoamericanos que, a diferencia de los demás, disponen de mayor volumen por habitante (11).

La aglomeración del recurso hídrico en un solo punto, se halle o no en reposo, puede ser estudiada bajo diversos criterios. Uno de ellos, en lo que al tema respecta, corresponde al estudio del agua como organizador de cuencas hidrográficas en el Ecuador, definiéndolas como; una red de drenajes jerarquizados cuya función es evacuar las aguas dentro de un espacio delimitado por la línea de cumbres. Lagos y lagunas comprenden la parte orgánica de dichas cuencas, conformando el gran sistema lacustre ecuatoriano, para ser estudiadas por las ciencias limnológicas. Dispuesta en 370 fuentes , las lagunas naturales ecuatorianas, pertenecen en gran porcentaje al medio montañoso y se encuentran mayormente ubicadas en páramos dotados por superficies esponjosas retenedoras de agua que contribuyen con la escorrentía para alimentar su cauce (12).

La Laguna de Ozogoché constituye uno de los principales exponentes que atraviesan los límites de las provincias de: Chimborazo, Cañar y Morona Santiago (12). En sí, pertenece netamente a la Provincia de Chimborazo, está alimentada por las estribaciones de la Cordillera Real y complementa su abastecimiento con aguas subterráneas o freáticas (5)

Como parte del Parque Nacional Sangay, una de las áreas protegidas más importantes del Ecuador, fue reconocida por UNESCO en el año 1983 como Patrimonio Natural de la Humanidad; acción que la convirtió en una de las fuentes

naturales más importantes del Ecuador, cuyo impacto socioeconómico dependiente del turismo comunitario sostenible (por su historia, cultura y tradición), hace uso de sus aguas para el abastecimiento hídrico de visitantes y pobladores (13).

La salubridad engloba a todos aquellos factores, cuyo fin persiguen el mejoramiento de las condiciones de vida individual y colectiva del ser humano. Busca adaptar el ambiente físico, en el que cohabita, con las condiciones que le aseguren sanidad y confort; aspecto que se consigue mediante la aplicación de normas sanitarias incluidas al monitoreo periódico de fuentes de agua superficial aledañas a las poblaciones o comunidades (14), (10).

Por ello se establecen normas estandarizadas, en la que se asignan diferentes indicadores de calidad hídrica a ser usados como herramientas de prevención y control, aplicables dependiendo del criterio al que van dirigidas. La República Ecuatoriana en colaboración del Ministerio del Ambiente, para la Prevención y Control de la Contaminación, dan constancia de sus estatutos incluyéndolos dentro del Texto Unificado de Legislación Secundaria Del Ministerio Del Ambiente (TULSMA); así como también en la norma técnica Ecuatoriana NTE INEN1108:2011 (cuarta versión), para que se sirva como aporte técnico en el análisis de aguas de superficie, con fines de consumo humano y uso doméstico, tal y como es el caso (15).

La Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), otro órgano técnico – normativo, establece como punto 3 en su artículo 40; la aprobación del plan de control de calidad, así como el estudio de caracterización inicialmente aplicado en fuentes de abastecimiento hídrico. Esto con el fin de garantizar la inocuidad de sus aguas, a través del análisis de indicadores microbiológicos, cuyos resultados comparados con la regla, no excedan los límites máximos permisibles (16).

Para que un componente químico hallado en el agua cruda represente riesgo considerable sobre la salud, necesita ser consumido con frecuencia y en tiempos muy

prolongados, ya que, son pocos los elementos que pueden ocasionar problemas de salud bajo una única exposición. Empero, en caso de que la contaminación del acuífero sea masiva, lógicamente el número de exposiciones pierde su valor ante la evidente amenaza (17).

Entre las sustancias o compuestos, establecidos como indicadores de calidad, más comúnmente hallados en aguas dulces, corresponden a: sulfatos, ion que resulta de la acción de disolución de yesos y en porcentaje de la oxidación bacteriana de sulfuros (18). En cantidades muy elevadas, tiene la capacidad de producir un efecto laxante ya que actúa a manera de relajante estomacal (17); nitratos, resultan de efectos naturales (disolución de rocas y minerales, descomposición de materia vegetal y animal) o efectos contaminantes (fertilizantes, aguas servidas, estiércol, compost y pozos sépticos) (19). Su excesiva concentración puede provocar metahemoglobinemia e inclusive cáncer gástrico (18); nitritos, al igual que los nitratos, son iones que asociados con la naturaleza forman parte del ciclo del nitrógeno. Su presencia excesiva en aguas de superficie resulta nociva para la salud, por su capacidad de transformar la hemoglobina en metahemoglobina, incapacitando la fijación de oxígeno e impidiendo la respiración celular; sólidos totales disueltos, son moléculas que han logrado disolverse en el medio acuoso. A pesar de su inocuidad, tienden a incrustarse aparatos como: calentadores, calderas y hasta electrodomésticos, dañándolos a largo plazo (17), (19); amoníaco, su presencia en forma libre o iónica es vista como prueba química de contaminación reciente y peligrosa para la salud. Por otra parte, al encontrarse en forma de NH_3 no iónico puede ser perjudicial para los seres acuáticos (18).

Otros parámetros tales como: potencial de hidrógeno, indica el nivel de acidez o alcalinidad en la que se encuentre el acuífero, es usado como determinante microbiológico de gran importancia por el efecto que produce sobre la membrana plasmática de los microorganismos al inhibir sus enzimas y alterar el transporte de sus nutrientes y solutos (20). Además de que, al elevarse sobre el límite, puede llegar a causar daño e irritación con finales procesos de ulceración en mucosa de

órganos internos (21); temperatura, que influye sobre la cantidad de oxígeno en el agua y la supervivencia de algunas especies bacterianas (19); turbidez, medida estrechamente relacionada por la cantidad de partículas de materia orgánica halladas en el agua (17); conductividad eléctrica, indicador de capacidad de un líquido para conducir electricidad y demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), evalúa la cantidad de oxígeno suficiente para deshacer la materia orgánica por medio de la acción bioquímica aerobia (22). Aportan información cuantitativa del estado hídrico del efluente.

La información microbiológica arrojada tras su análisis no puede reemplazar a los análisis fisicoquímicos; pero la respalda y complementa puesto que, se torna factible económicamente y aporta con información para el monitoreo de calidad del agua siempre y cuando obedezca requerimientos relevantes que la consideren como tal : ausencia en agua potable, capacidad de sobrevivir por tiempo prolongados en el agua demostrando igual o mayor resistencia ante factores externos que los patógenos, incapacidad de reproducirse en animales poiquiloterms, presentes en heces y asociación con aguas residuales. Además tienen la facultad para resistir frente al intento de inhibición de su crecimiento por parte de otras especies (4).

Por su parte, las bacterias constituyen un enorme grupo de organismos microscópicos unicelulares pertenecientes al reino monera, carentes de núcleo, pero dotadas de una gran capacidad de reproducción asexual, discreta y rápida denominada; división celular sencilla o esporulación. Están ampliamente distribuidas calculándose cerca de 40 millones de bacterias por cada gramo de tierra y un millón por cada mililitro de agua dulce (4). Con un resultado estimado de más del 90% de intoxicaciones y transmisión de enfermedades como consecuencia del uso de agua contaminada por el grupo bacteriano; la Organización Mundial de la Salud ha decidido direccionar el análisis hídrico destinado a consumo humano, dentro de sus Guías de Calidad, que incluya un exhaustivo control de este grupo. Con el fin de cumplir con los estatutos del buen vivir mediante la impartición de parámetros seleccionados que incluyan un bajo potencial patógeno con su posterior eliminación (23).

Tomando en cuenta lo antes mencionado, el estudio microbiológico va enfocado principalmente en la búsqueda de bacterias, designadas como microbiota saprófita intestinal, entre las que se encuentran: el grupo de las enterobacterias, de tipo coliformes totales, compuesto por 3 géneros representativos (*Enterobacter*, *Escherichia*, y *Klebsiella*). Estructuralmente similares, se caracterizan por ser: bacilos gramnegativos, aerobios o anaerobios facultativos, oxidasa negativos, no esporulados, fermentadores de lactosa con producción de gas; coliformes fecales, denominados termotolerantes por su capacidad para desarrollarse y tolerar temperaturas de incubación de entre 44°C a 45°C ,incluyen al género *Escherichia* y especies de *Klebsiella*; bacterias mesófilas y no enterobacterias (*pseudomonas*, para garantizar la calidad microbiana acuática). Ya que, todas ellas representan un alto potencial zoonótico (24), (25).

Diversos estudios han demostrado la existencia de bacterias ambientales que, al ser genéticamente resistentes a un número considerable de antibióticos, representan verdaderos reservorios capaces de transmitir su información genética a bacterias que habitan e infectan a los seres humanos. Esto se explica mediante la acción de transferencia genética horizontal entre bacterias infectantes y bacterias ambientales filogenéticamente variadas, portadoras de genes de resistencia a betalactámicos, tetraciclinas e inclusive a vancomicina. La *Stenotrophomonas maltophilia* es uno de los ejemplos de bacteria aerobia gramnegativa ambiental, habitante de las raíces de plantas y portadora de una bomba de expulsión que la dota de resistencia a las fluoroquinolonas (26). La transferencia horizontal y la mutación son dos de las propiedades más usadas por las bacterias para crear resistencia. El intercambio genético es, por excelencia, posible dentro del intestino de animal y humano; esto atiende a la aplicación en bajas concentraciones de antibióticos en la dieta del ganado con el propósito de provocar su rápido crecimiento y engorde. Si tomamos en cuenta la presencia de bacterias entéricas en la deposición del ganado, es fácil justificar su relación con la adquisición de resistencia antibiótica en individuos que aprovechen cualquier cuerpo de agua hídrico ubicado cerca de alguna comunidad, como fuente

de consumo doméstico (26).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su política antimicrobiana establece el uso de antibióticos, previa comprobación de su sensibilidad ante el agente infeccioso enfocado (27). Partiendo de dicha exigencia y debido a la dificultad que representa la elección del antibiótico adecuado; nace la guía del Instituto de Estándares del Laboratorio Clínico de los Estados Unidos (CLSI), quienes han tomado la responsabilidad de promover la calidad y las mejores prácticas en los servicios de laboratorio y atención médica mediante el estudio, *in vitro*, del comportamiento de agentes antimicrobianos para cada grupo de microorganismos.

1.3. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo General

- Caracterizar físicoquímica y bacteriológicamente las aguas de la Laguna de Ozogche de la Zona central del Ecuador.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Analizar los parámetros de calidad físicoquímicos (pH, temperatura, conductividad, sólidos disueltos totales y entre otros) de las muestras de agua obtenidas en los puntos seleccionados de la Laguna de Ozogche.
- Determinar la presencia de bacterias de importancia sanitaria (*Pseudomonas*, aerobias mesófilas, coliformes totales y fecales) en las muestras obtenidas, mediante la utilización de placas 3M™ petrifilm™.

- Establecer la sensibilidad o resistencia antibiótica que presentan las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua tomadas en la Laguna de Ozogoché de la Zona central del Ecuador.

1.2.3. Cumplimiento de Objetivos

Se caracterizó físicoquímica y bacteriológicamente las aguas de la Laguna de Ozogoché de la Zona Central del Ecuador, mediante el análisis descriptivo de 13 parámetros de calidad hídrica; datos que tras ser comparados con los límites máximos permisibles (LMP) impuestos por : la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), el Texto Unificado de Legislación Secundaria (TULSMA) y la NTE INEN 1, aportan con la información necesaria; a fin de evaluar su condición en función al criterio de estudio designado, consumo humano y uso doméstico. Determinando, además de la presencia de especies bacterianas de importancia sanitaria, el comportamiento descrito como: resistente o sensible, frente a los diferentes antibióticos seleccionados.

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo exploratoria, descriptiva y experimental.

2.1.1. Enfoque de la investigación

Para el direccionamiento del enfoque en la investigación se dio cabida al tipo cualitativo, puesto que se dieron uso a métodos de identificación bacteriana convencionales, basados en características fenotípicas “observables” tales como: morfología, desarrollo, propiedades metabólicas y bioquímicas que nos puede otorgar el uso de medios de cultivos cromógenos o enriquecidos.

Cabe atribuir que también es de tipo cuantitativo, pues se dio espacio al análisis de parámetros fisicoquímicos, indispensables para la correcta evaluación del índice de calidad del agua. Sin olvidar, el protocolo de uso de las placas 3M Petrifilm en las que con ayuda de un contador de colonias se consiguió medir el valor en UFC/mL de agua de la Laguna de Ozogoché; además de la evaluación final del comportamiento bacteriano frente a antibióticos, usando el método de difusión en agar.

2.1.2. Modalidad básica de la investigación

2.1.2.1. Investigación Experimental

Se ubicó como investigación experimental ya que su variable fue susceptible a ser medida mediante el uso de herramientas disponibles dentro de las instalaciones de la

Universidad Técnica de Ambato en su laboratorio de microbiología, además de otras mediciones de tipo fisicoquímicos analizadas con equipos de las instalaciones de la Empresa de Agua Potable EMAPA en Ambato.

2.1.2.2. Investigación de Campo

Puesto que se extrajeron datos e información directamente de la realidad del lugar in situ a través del muestreo de las aguas de la Laguna de Ozogoché, tomando 2 muestras de agua en un total de 6 puntos preestablecidos, para seguidamente transportarlas al área de microbiología del laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato campus Querochaca donde fueron procesadas siguiendo el protocolo.

2.1.2.3. Investigación Documental

Se siguieron los trámites necesarios para la obtención del permiso otorgado por el Ministerio del Medio Ambiente como prerrequisito para el muestreo. Además, se dio uso de documentos necesarios para el trámite antes dicho y la posterior redacción del trabajo investigativo que respalde los procesos de transporte, recolección, análisis y presentación de resultados tanto fisicoquímicos como bacteriológicos. Dicha información fue obtenida de permisos, normas, artículos, documentos científicos, libros, tesis de grados y demás publicados en sitios web y otros al alcance mediante la plataforma estudiantil de la Universidad Técnica de Ambato.

2.2. Nivel o tipo de investigación

2.2.1. Investigación descriptiva: Debido a que se buscó establecer el estado de la calidad de agua de la laguna, mediante la recolección de muestras en puntos estratégicos por un periodo de 3 meses, la investigación estableció una caracterización o descripción lo más completa posible de las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas del agua.

2.2.2. Investigación Exploratoria

Ya que se trata de una exploración de primer acercamiento. Es decir que, en lo que al tema refiere, la caracterización fisicoquímica y bacteriológica de aguas de la Laguna de Ozogoché; aún no ha sido explorada a profundidad. Por lo tanto, al no contar con información bibliográfica muy detallada, se buscó pautas significativas en los resultados para partir de ellos creando las primeras explicaciones que aporten con una imagen más clara del estado de la situación.

2.3. Selección del área o ámbito de estudio

2.3.1. Campo

Calidad de aguas y microbiología.

2.3.2. Área

Bacteriología.

2.3.3. Aspecto

Parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos.

2.3.4. Objetivo de estudio

Caracterizar fisicoquímica y bacteriológicamente las aguas de la Laguna de Ozogoché de la Zona central del Ecuador, mediante el análisis de 11 parámetros de calidad comparados con los respectivos límites máximos permisibles, expuestos en el reglamento de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), a fin de evaluar su estado de calidad en función al criterio designado como; consumo humano y uso doméstico.

2.3.5. Delimitación espacial

La investigación estuvo dirigida a las aguas de la Laguna de Ozogoche perteneciente a la zona central de Ecuador.

- **Provincia:** Chimborazo.
- **Cantón:** Alausí.
- **Parroquia:** Achupallas.
- **Longitud:** 78°35'07.4''W.
- **Latitud:** 2° 15'40.6''S.
- **Altitud:** 3.800 m.s.n.m
- **Temperatura Normal:** 12 a 20°C.
- **Extensión:** La laguna tiene una extensión 5.4 km de largo por 1.8 km de ancho.

2.3.6. Delimitación temporal

El proyecto de investigación se llevo a cabo durante el periodo Noviembre 2018 – Enero 2019 en muestras de agua captas en la Laguna de Ozogoche, Provincia de Chimborazo.

2.4. Población y muestra

2.4.1. Universo

Aguas de la Laguna de Ozogoche perteneciente a la zona central del Ecuador.

2.4.2. Muestra



Un total de cien muestras de agua de la Laguna de Ozogoche, perteneciente a la zona Central del Ecuador, dispuestas en: doce muestras por duplicado más cuatro muestras en conjugado de los seis puntos; tomadas cada quince días por un periodo de tres meses.

2.4.3. Puntos de muestreo

La selección de estaciones estuvo influenciada por los distintos usos del agua y su ubicación, así como su magnitud e importancia relativa. El grado de riesgo de contaminación accidental también entró como factor importante. El número de puntos dados fue de un mínimo; considerando que pudo ser conveniente tener más puntos de acuerdo con las condiciones y diámetro de la laguna.

Siendo así y atendiendo ciertas recomendaciones de la norma técnica ecuatoriana INEN (Nte INEN 2226 2000-01) se hizo posible el análisis de cada factor que pudiese influenciar, tanto directa como indirectamente, la calidad del cuerpo de agua. Estableciéndose seis principales lugares de monitoreo que atendieron a su respectivo criterio:

Puntos de geográficos de muestreo de la Laguna de Ozogoché

P	REFERENCIA (UTM)	ALTITUD msnm	CRITERIO	HORA	GRÁFICOS DE COORDENADAS
1	768656 - 9748343	Toma 1 3764.8 Toma 2 3766.2	Punto accesible más alejado y no frecuentado; calidad general de agua de la laguna	Toma 1 7:30 am Toma 2 15:04 pm	
2	767941 - 9749473	Toma 1 3686.8 Toma 2 3772.7	Punto intermedio, accesible y poco frecuentado	Toma 1 7:51 am Toma 2 15:18 pm	

Puntos de geográficos de muestreo de la Laguna de Ozogoché

P	REFERENCIA (UTM)	ALTITUD Msnm	CRITERIO	HORA	GRÁFICOS DE COORDENADAS
3	767788 - 9749888	Toma 1 3760.5 Toma 2 3766.5	Recreación turística.	Toma 1 8:17 am Toma 2 15:46 pm	
4	768108 - 9750114	Toma 1 3763.3 Toma 2 3763.9	Abastecimiento de agua para la comunidad aledaña (saliente)	Toma 1 8:25 am Toma 2 15:55 pm	
5	768357 - 9750419	Toma 1 3767.8 Toma 2 3767.8	Ingreso, relación con la Laguna de Magtayang	Toma 1 8:40 am Toma 2 16:10 pm	
6	768781 - 9750205	Toma 1 3767.2 Toma 2 3766.1	Extremo final de la laguna, cuenta con orilla (caminata turística)	Toma 1 9:00 am Toma 2 16:26 pm	

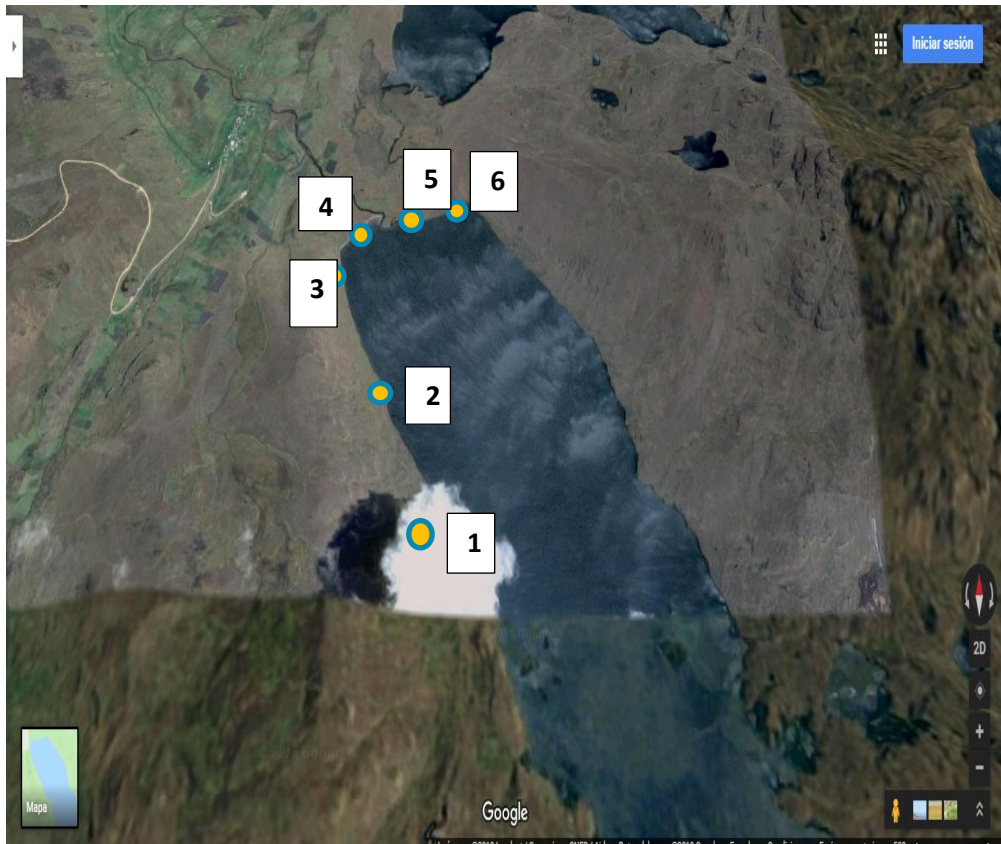
Elaborado por: Denix Tiscama.

Las muestras se colectaron, hasta donde fue posible, por lo menos a 30 cm por debajo de la superficie o 30 cm por encima del fondo; teniendo cuidado para no alborotar el depósito. Cabe mencionar que, además de dichos criterios para la selección específica de los puntos de muestreo, se consideraron otros tres de gran importancia: accesibilidad que facilitó obtención y transporte de material así como también de las muestras, representatividad ya que el cuerpo de agua al estar mezclado totalmente en un solo punto estratégico nos presentó una muestra lo más

homogénea posible y seguridad para minimizar los riesgos de accidentes personales y colectivos (28).

Otro fenómeno característico atendido para la recolección de agua de la laguna que implica procedimientos modificados de muestreo fue la eutrofización térmica, estableciendo una toma por la mañana y una por la tarde (29).

Gráfico 1. Mapa de coordenadas de la Laguna Ozogoche.



Fuente: Google Maps y Autora.

2.4.4. Tamaño de muestra

Se realizaron cuatro muestreos en seis puntos geográficos distintos, previamente establecidos, recolectados en un periodo de tres meses (una vez cada 15 días). El volumen total de agua recolectada fue de 5.200mL por viaje.

La cantidad de agua por muestreo fue dispuesta de acuerdo a la exigencia y al tipo de análisis destinada, es decir que, para el análisis físico-químico la Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato (EMAPA) fijó un volumen de 4.000 ml por muestreo, considerando la determinaciones a efectuar (250 mL por punto en duplicado más 1.000 mL para DBO₅); en cuanto al análisis bacteriológico y en algunos parámetros de tipo físico químicos se hizo necesaria la adquisición de 12 envases estériles de 100 mL por muestreo, mismos que al ser sumergidos fueron sellados dentro del agua para transportar un total de 1.200mL (30).

2.5. Criterios de inclusión y exclusión

2.5.1. Criterios de inclusión

- Muestras de agua obtenidas de la laguna de Ozogoche.
- Muestras captadas para análisis bacteriológicos y fisicoquímicos dispuestas en envases rotulados individualmente.
- Muestras transportadas en envases adecuados. Envase de vidrio, con capacidad de 1.000 mL, buen cierre hermético y de color ámbar (para análisis de DBO₅) y contenedores de plástico o polietileno, para el resto de análisis (31).
- Muestras destinadas para el análisis bacteriológico, colectadas en recipientes estériles con un volumen que ocupe las $\frac{3}{4}$ partes de su total.
- Muestras para determinación físico-química, tomadas tras inmersión del envase a contra flujo, llenadas y tapadas dentro del acuífero (28).
- Muestras adecuadamente transportadas y almacenadas (1° C – 5°C); dispuestas en coolers provistos con gel helado sintético hasta el momento de su almacenamiento previo análisis, no superior a 24 horas.

2.5.2. Criterios de exclusión

- Muestras provenientes de cualquier otra fuente que no se la Laguna de Ozogoche.
- Muestras contenidas por recipientes desprovistos de rótulo que las identifique.
- Muestras extendidas en recipientes inadecuados o destapados.
- Muestras que excedan o no cumplan con la cantidad necesaria, dependiendo del tipo de análisis para el que se hallen destinadas (32).
- Muestras preservadas por más de 24 horas posteriores a su toma. Además de aquellas cuyo medio de transporte incumpla con lo requerido (31).

2.6. Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de muestras

Como primer punto de partida para la realización del proyecto en cuestión, fue necesario desplazarse al campo de investigación, Laguna de Ozogoche, donde se hizo un reconocimiento de su perímetro y con ayuda de un GPS se designaron los puntos de muestreo, propuestos en seis sitios geográficos, tras análisis de factores como: flujo saliente o entrante de agua, presencia de vertientes hidrográficas y tipo de actividades desarrolladas para las que se requiera contacto con la fuente.

Una vez seleccionados los puntos, se dio paso a la recolección de muestras en dos periodos de tiempo (de 7-10am y de 15-17 pm). Para ello, se siguieron adecuadamente los protocolos de: captación, transporte y almacenamiento de muestras hídricas propuestos por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (NTE INEN 2169:2013) (30); esto con el fin de asegurar el cumplimiento de sus condiciones y darles validez hasta el momento de su llegada a los laboratorios de la EMAPA, entidad privada o de la Universidad Técnica de Ambato, campus Querochaca.

2.6.1. Procedimiento y análisis

2.6.1.1. Protocolo de recolección de muestras para análisis fisicoquímico

La captación de agua para análisis fisicoquímico procedió de forma manual y directa, con la utilización del equipo de protección personal y un plástico con capacidad de 200 mL, por punto. Para el cual se aplicaron los siguientes pasos:

- Ubicar el punto de muestreo a 2 m de distancia de orilla a punto (29), (31).
- Introducir el envase, de 2 a 3 repeticiones, con el fin de enjuagarlo usando el agua de la misma fuente.
- Sumergir el envase en la fuente, por lo menos a 30 cm de la superficie, hasta llenarlo completamente (29), (31).
- Tapar el envase sin sacarlo del agua, con el fin de bloquear la interacción con oxígeno del medio y no contaminarla (31).
- Secar el envase y rotularlo.
- Colocarlo en un cooler provisto con gel pack refrigerante, intentado mantener la muestra a 4°C hasta el momento de su análisis (en un período inferior a 24 h) (30).
- Del mismo modo, rebosar una botella ámbar de vidrio (volumen de 1000 mL), previamente enjuagada, para la respectiva Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO). Se debe introducir la misma botella, tapándola dentro del agua, en cada uno de los puntos para conseguir una sola muestra en conjugado.
- Rotular la botella y colocarla en el cooler.

2.6.1.2. Protocolo de recolección de muestras para análisis bacteriológico

Al igual que el muestreo destinado para análisis fisicoquímico, las muestras fueron tomadas de forma manual, directa y equipada en el mismo lapso de tiempo; en seis posiciones geográficas de la Laguna. Aplicando los siguientes pasos:

- Introducir un envase plástico, hermético y de boca ancha con capacidad de 100 mL, de 2 a 3 repeticiones, para enjuagarlo con el agua de la misma fuente.

- Sumergir el envase inclinándolo en un ángulo de 45°, a medida que ingrese a la fuente.
- Llenar las tres cuartas partes de envase evitando la entrada de partículas externas y dejando apertura para una cámara de oxígeno.
- Tapar y secar el envase.
- Codificar el envase con número de registro para proceder colocarlo en un cooler provisto de gel pack refrigerante. Mantener la muestra a 4°C hasta el momento de los análisis (en un período inferior a 24 h) (30).

2.6.2. Aspectos éticos

2.6.2.1. Autorización del Ministerio del Ambiente

Para la ejecución del trabajo investigativo se solicitó una autorización firmada por la autoridad a cargo de la Dirección Provincial del Ambiente de Chimborazo, entidad que, tras revisión del respectivo anteproyecto de investigación, dio su aprobación aduciendo el cumplimiento del artículo 8 del libro IV del TULSMA; que dio por válido el estudio de muestras biológicas con el propósito de caracterizar fisicoquímica y bacteriológicamente las aguas de la Laguna de Ozogoché de la Zona Central del Ecuador. Así como también la determinación de la presencia de bacterias de importancia sanitaria en las muestras obtenidas.

2.6.3. Procedimiento de análisis e identificación bacteriana

2.6.3.1. Análisis Fisicoquímico

Se analizaron un total de 11 parámetros de los cuales, los resultados de: temperatura, se midieron in situ con ayuda de un termómetro de alcohol; pH, sólidos totales disueltos y conductividad eléctrica, fueron arrojados por el equipo Hanna portátil (pH, E.C, conductivity and TDS waterproof tester HI198129) proporcionado en las

instalaciones del laboratorio del área microbiológica de la Universidad Técnica de Ambato; DBO₅, nitrato, nitritos, alcalinidad, amoníaco, turbidez y sulfuro de hidrogeno obtenidos dentro de las instalaciones del laboratorio, en los predio de la Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado (EMAPA).


2.6.3.2. Análisis Bacteriológico

El proceso de análisis bacteriano para Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales/Fecales, se llevó a cabo en 5 etapas:

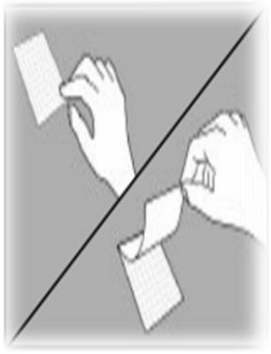

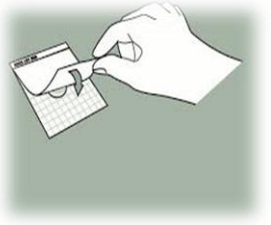

- **Siembra de la muestra por método PETRIFILM™**

El método PETRIFILM™ fue electo tras conocer y considerar los beneficios de aporte en el desarrollo investigativo tales como: reducción de espacio, tiempo, trabajo, costos e incremento de número de análisis y eficiencia al momento de elaborar análisis (33). Para lo cual se aplicó el respectivo instructivo dispuesto en las Guías 3M™ Petrifilm™; tanto para siembra de Aerobios Mesófilos Totales como para E.coli/Coliformes (34).

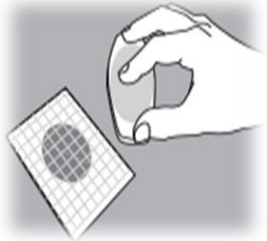
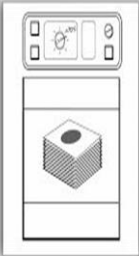


Esquema del protocolo 3M™ Placas Petrifilm™ para la siembra de Aerobios y E.coli/Coliformes.

INOCULACIÓN		
N	DETALLE	GRÁFICO
1.	Colocar el paquete de placas a temperatura ambiente, sacándolos de refrigeración por un lapso de tiempo determinado.	

Esquema del protocolo 3M™ Placas Petrifilm™ para la siembra de Aerobios y E.coli/Coliformes.

INOCULACIÓN		
Nº	DETALLE	GRÁFICO
2.	<p>Una vez colocado el EPP, esterilizada la zona de trabajo y al alcance de todos los materiales necesarios.</p> <p>Abrir el empaque para rotular la placa y ubicarla sobre una superficie plana y nivelada.</p> <p>Seguidamente, levantar la película superior de la placa.</p>	
3.	<p>Con ayuda de una pipeta automática calibrada, dispensar 1mL de la muestra justo en el centro de la película cuadrículada inferior.</p>	
4.	<p>Soltar suavemente la película superior, dejándola caer sobre la alícuota de la muestra evitando deslizarla y desparramarla.</p>	
5.	<p>Colocar la cara del disco esparcidor, del lado liso en caso de sembrar la placa para E.coli/Coliformes o del lado rugoso en caso de sembrar la placa para aerobios, sobre la película superior; presionando ligeramente para lograr dibujar una circunferencia rellena de muestra.</p>	

Esquema del protocolo 3M™ Placas Petrifilm™ para la siembra de Aerobios y E.coli/Coliformes.

INCUBACIÓN		
Nº	DETALLE	GRÁFICO
6.	Retirar el disco suavemente y dejar que la placa repose, al menos 1 minuto, con el fin de solidificar el medio.	
7.	Apilar las placas en grupos de menos de 20 unidades, con la cara superior hacia arriba en la incubadora, a 35°C +/- 1°C por un lapso de 24 horas a 48h (dependiendo si la 3M™ Placas Petrifilm™ es o no rapid).	
ALMACENAMIENTO		
8.	Tras su uso, almacenar el paquete debidamente sellado, doblado en su extremo y compactado con cinta adhesiva. De esta manera se evitará el ingreso de humedad.	
9.	Llevar los paquetes cerrados a una temperatura menor o igual a 25°C, en un espacio con humedad relativa menor o igual al 50%. Una vez abierto el paquete, sus placas pueden ser usadas en un lapso no superior a un mes.	

Elaborado por: La investigadora.

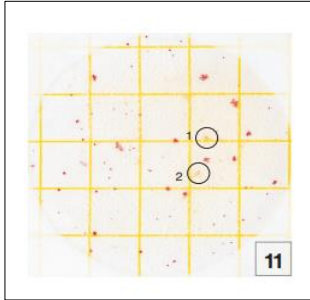
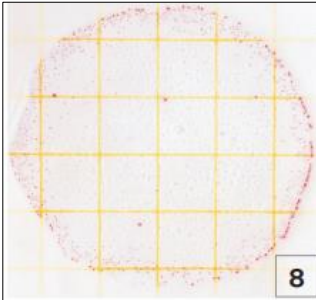
- **Recuento en Unidades Formadoras de Colonias (UFC), a partir de placas de 3M™ Petrifilm™**

○ **Contaje de Aerobios Mesófilos**

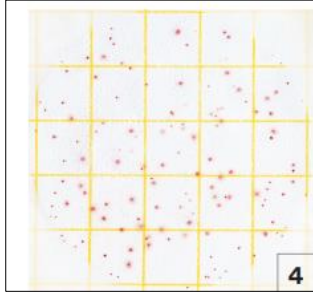
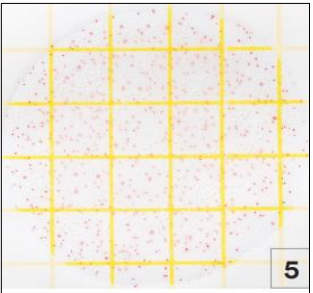
Las placas 3M™ Petrifilm™ para Aerobios contienen un medio de cultivo enriquecido con nutriente *Agar Standard Methods* que actúa a manera de agente gelificante soluble en agua fría. Además, cuentan con tinte indicador de color rojo para facilitar el recuento macroscópico de colonias a través de un contador de colonias (35).

Para la adecuada selección de colonias características, en el recuento de Aerobios Mesófilos, se tomaron en consideración las siguientes instrucciones:

Esquema de la guía técnica para recuento de Aerobios Mesófilos

OBSERVACIÓN	GRÁFICO
<p>Con ayuda de un contador de colonias, hacer el recuento de las colonias rojas de borde regular, haciendo caso omiso a su tamaño o intensidad de color. Características inconfundibles visualmente con partículas o residuos de productos (borde irregular y color opaco).</p>	 <p>Contaje de bacterias aerobias=83</p>
<p>En el caso de observar placas demasiado pobladas (colonias incontables o poco visibles en el centro e innumerables en los bordes), se debe consignar el resultado como Muy Numerosos Para Contar (MNPC).</p>	 <p>Contaje de bacterias aerobias=MNPC</p>

Esquema de la guía técnica para recuento de Aerobios Mesófilos

OBSERVACIÓN	GRÁFICO
<p>Se deben seleccionar las placas que presenten un mínimo de 10 y un máximo de 300 colonias, conforme a la prescrito por el fabricante 3M™ Petrifilm™. Ya que una estimación mayor no cumple con la certificación de NF Validation por ANFOR.</p>	 <p>Contaje de bacterias aerobias=143</p>
<p>En caso de que el número exceda las 250 colonias, efectuar el recuento, promediando el número de colonias en un cuadrado (1cm²) y multiplicándolo X 20 (área de inoculación Petrifilm).</p>	 <p>Contaje de bacterias aerobias=560 “estimado”</p>

Elaborado por: La autora.

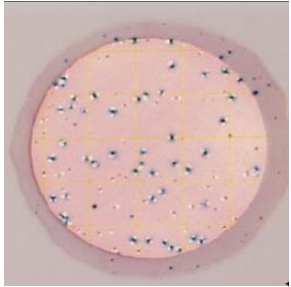
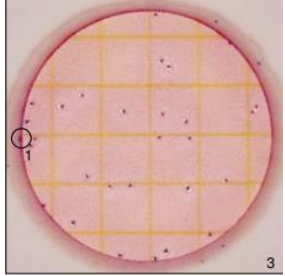
○ **Contaje de *E. Coli* y coliformes totales**

El medio de cultivo con el que cuentan estas placas 3M™ Petrifilm™ contiene principalmente “Bilis Rojo Violeta” para el recuento de *E.coli*/Coliformes, nutriente hidrosoluble que actúa como agente gel solidificante. Además, contiene trifetil tetrazolium, a manera de indicador de la actividad de la glucoronidasa, para aportar en el recuento y diferenciación entre *E.Coli* y coliformes totales. Esto gracias a que, cerca del 97 % de las *E. coli* son capaces de producir beta-glucoronidasa y en reacción con el indicador producen un precipitado de color azul, característico de

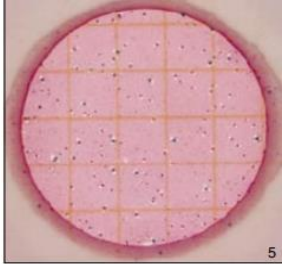
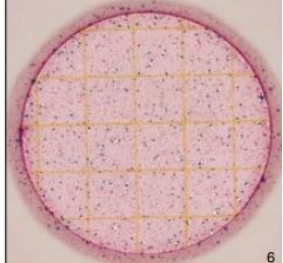
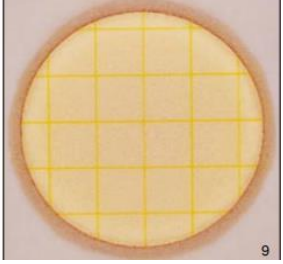
dichas colonias. El film superior está diseñado para atrapar el gas emanado como producto de la fermentación de lactosa dada por los coliformes (33).

Para la correcta selección de colonias características, en el recuento de *E. coli* / Coliformes, se tomaron en cuenta las siguientes pautas (36).:

Esquema de la guía técnica para recuento de *E. coli* / Coliformes.

OBSERVACIÓN	GRÁFICO
<p>Colocar la placa bajo el lente de un contador de colonias o de algún otro de lente de aumento iluminado, para apreciar las colonias pigmentadas.</p> <p>Realizar el contaje, separando los dos tipos de colonias.</p> <p>Identificación de <i>E. coli</i>: colonias azules con gas.</p> <p>Identificación de Coliformes Totales: colonias rojas y azules con gas</p>	 <p>Contaje de bacterias:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>E. coli</i> =49 • Coliformes totales=87
<p>El rango de contaje en placa <i>E. coli</i>/Coliformes es de entre 15-150.</p> <p>No es válido el contaje de aquellas colonias que crezcan sobre la barrera de espuma.</p>	 <p>Contaje de bacterias:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>E.coli</i> =13 • Coliformes totales=28

Esquema de la guía técnica para recuento de *E. coli* / Coliformes.

OBSERVACIÓN	GRÁFICO
<p>En caso de que el número de colonias sea difícil de contar, el recuento se facilita promediando el número de colonias en un cuadrado (1cm²) y multiplicándolo x 20 (área de inoculación Petrifilm).</p>	 <p>Contaje de bacterias:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>E.coli</i> =17 • Coliformes totales=150
<p>Una gran cantidad de colonias pequeñas, burbujas de gas o el viraje de color del gel, de rojo a azul púrpura, indica una placa cuya interpretación adecuada establece: Muy Numerosas Para Contar (MNPC). Para la obtención de un recuento más preciso, en dicho caso, se debe diluir la muestra.</p>	 <p>Contaje de bacterias:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>E.coli</i> =MNPC • Coliformes totales=MNPC
<p>En caso de presentar un elevado número de colonias no – coliformes, <i>Pseudomonas</i>, tomar atención del viraje en la coloración del gel que pasara de rojo a amarillo.</p>	 <p>Recuento actual aprox. de ~10⁸</p>

Elaborado por: La Autora

- **Aislamiento de las colonias seleccionadas, a partir de las placas 3M™ Petrifilm™, en medios de cultivo**

Ya que las técnicas de aislamiento fueron establecidas con la finalidad de obtener cultivos bacterianos puros a partir de muestras complejas, provenientes de: suelo, agua, alimentos, etc (37). Se hizo necesario el cultivo de las colonias, seleccionadas a partir de las placas 3M™ Petrifilm™, en medios de agar que al contener los nutrientes y las condiciones fisicoquímicas adecuadas para su metabolismo, multiplicación y desarrollo; permitan la visualización de sus características macroscópicas.

Agar MacConkey

Medio de tipo diferencial, seleccionado para aislar específicamente bacilos gramnegativos y entéricos.

- **Fundamento**

Incluye peptonas, necesarias para el desarrollo bacteriano, lactosa (hidrato de carbono fermentable) y una combinación de sales biliares con cristal violeta, encargadas de inhibir gran parte del crecimiento de la flora grampositiva. Como resultado de la fermentación de lactosa el pH, en torno a las colonias, disminuye provocando un cambio de color en el indicador (rojo neutro). Los microorganismos no fermentadores de lactosa desarrollan colonias de aspecto incoloro (38).

- **Protocolo para el aislamiento de colonias en Agar MacConkey**

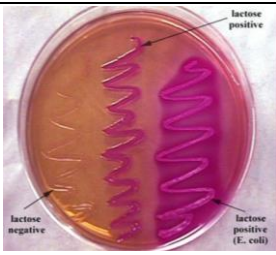
1. Esterilizar el área de trabajo, descontaminando mesones y encendiendo mecheros.
2. Colocar todos los materiales al alcance para proceder a rotular las placas de agar MacConkey, dividiéndolas en 4 cuadrantes codificados de manera ordenada .
3. Tomar las placas 3M™ Petrifilm™ y levantar el film superior para visualizar y seleccionar la colonia adecuada.

4. Con la otra mano, esterilizar un asa de siembra al fuego del mechero y tomar la colonia, sin olvidar enfriarla antes de 20 a 30 segundos.
5. Levantar la placa Petri en ángulo de 45° e inocular la colonia en el cuadrante designado.
6. Realizar el estriado básico, colocando el asa en contacto con el borde superior del plato y la superficie del medio, esparciendo la colonia con movimientos en forma de S compacta de atrás hacia adelante.
7. Tapar el medio y esterilizar nuevamente el asa.
8. Repetir el mismo procedimiento, aplicando una colonia por cuadrante tomadas en cada una de las placas 3M™ Petrifilm™, teniendo cuidado de no pasar los límites trazados para cada cuadrante.
9. Finalmente, llevar las placas sembradas a la incubadora (a 37° C en un lapso de 24 h).
10. Anotar las características macroscópicas observadas en cada cuadrante.

○ **Interpretación macroscópica**

El indicador visual de pH; permitió la diferenciación entre colonias de bacterias gramnegativas, lactosa positiva y lactosa negativa (33), (39).

Esquema de interpretación de las colonias típicas

	
Identificación	Características macroscópicas
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias grandes rojo - fucsia con halo turbio.
<i>Klebsiella pneumoniae/Enterobacte</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias de gran diámetro, rosadas y mucosas.

Identificación	Características macroscópicas
<i>Salmonella typhimurium</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias incoloras, transparentes.
<i>Shigella flexneri</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias incoloras, transparentes.
<i>Proteus mirabilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias incoloras, transparentes.
<i>Enterococcus faecalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias diminutas, aisladas, incoloras y opacas.

Elaborado por: Denix Tiscama

Agar EMB (Eosina y Azul de Metileno)

Medio de cultivo sólido, selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de bacilos gramnegativos, principalmente de la familia Enterobacteriaceae (fermentadoras o no de lactosa).

○ **Fundamento**

Contiene colorantes de azul de metileno y eosina que, inhiben parcialmente la flora grampositiva (exceptuando a los *Streptococcus faecalis*) y actúan a manera de indicadores como consecuencia de la fermentación de sacarosa o lactosa.

○ **Protocolo para el aislamiento de colonias en Agar EMB (Eosina y Azul de Metileno)**


1. Colocarse el equipo de protección personal completo, esterilizar el área de trabajo y colocar todos los materiales al alcance.
2. Seleccionar y marcar con ayuda de un dermo las colonias a sembrar.
3. Rotular las placas de agar EMB y dividir las en 4 cuadrantes, codificados adecuadamente.

4. Esterilizar el asa de siembra al rojo vivo del mechero y dejarla enfriar de 20 a 30 segundos.
5. Destapar la placa con agar MacConkey e inclinarla en ángulo de 45°. Pinchar con el asa el agar, entre cada sector, para cerciorarse de que este fría.
6. Tomar la colonia seleccionada e inmediatamente destapar la placa con agar EMB. Sin olvidar tapar la placa de la que se obtuvo las colonias.
7. Inocular la colonia en el cuadrante designado para proceder a estriarla, colocando el asa en contacto con el borde superior del plato y la superficie del medio, esparciendo la colonia con movimientos en forma de S compacta de atrás hacia adelante.
8. Tapar el medio y esterilizar nuevamente el asa.
9. Repetir el mismo procedimiento con las demás colonias seleccionadas, teniendo cuidado de no pasar los límites trazados para cada cuadrante.
10. Finalmente, colocar las cajas en la incubadora en posición invertida a 37° C durante 24 horas.
11. Anotar las características macroscópicas observadas en cada cuadrante.

○ **Interpretación de resultados**

Manifestación de coliformes con la aparición de colonias de color negro azulado y presencia de *Salmonella* y *Shigella* en tono ámbar transparentes (39).

Esquema de interpretación de resultados

	
Identificación	Características macroscópicas
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Colonias de 2 a 3 mm de diámetro, negro azuladas con brillo verde metálico.

Identificación	Características macroscópicas
<i>Klebsiella /Enterobacter</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias grandes, mucoides y negro azuladas.
<i>Enterobacter aerógenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias de 4 a 6 mm de diámetro, centro pardo grisáceo y refractante, sin brillo metálico.
<i>Shigella /Salmonella</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias grandes, desde incoloras hasta color ámbar.
<i>Pseudomonas</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias irregulares e incoloras
<i>Proteus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias grandes e incoloras.

Elaborado por: Denix Tiscama

SS Agar (*Salmonella* y *Shigella*)

Medio diferencial selectivo parecido al agar Hektoen, utilizado específicamente para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*. Sin embargo, debido a sus cualidades, facilita el desarrollo de algunas otras bacterias representativas (40).

○ **Fundamento**

Contiene sales biliares, elevadas concentraciones de tiosulfato y citrato para interferir en el desarrollo de otro tipo de bacilos gramnegativos y de cocos grampositivos. Incorpora lactosa en su composición, permitiendo diferenciar a las colonias de *Salmonella* y *Shigella* (no fermentadores de lactosa) de aquellas colonias gramnegativas fermentadoras de lactosa.


Además, posibilita la visualización de bacterias capaces de reducir tiosulfato, en presencia de iones hierro, produciendo ácido sulfhídrico con el posterior desarrollo de colonias características con centro negro (37), (39).

○ **Protocolo para el aislamiento de colonias en SS Agar**

1. Colocarse el equipo de protección personal completo, esterilizar el área de trabajo y colocar todos los materiales al alcance.
2. Seleccionar y marcar con ayuda de un dermo las colonias a sembrar.
3. Rotular las placas de SS Agar y dividir las en 4 cuadrantes, codificados adecuadamente.
4. Esterilizar el asa de siembra al rojo vivo del mechero y dejarla enfriar de 20 a 30 segundos.
5. Destapar la placa con agar MacConkey e inclinarla en ángulo de 45°. Pinchar con el asa el agar, entre cada sector, para cerciorarse de que este fría.
6. Tomar la colonia seleccionada e inmediatamente destapar la placa con SS Agar.
7. Inocular la colonia en el cuadrante designado para proceder a estriarla, colocando el asa en contacto con el borde superior del plato y la superficie del medio, esparciendo la colonia con movimientos en forma de S compacta de atrás hacia adelante.
8. Tapar el medio y esterilizar nuevamente el asa.
9. Repetir el mismo procedimiento con las demás colonias seleccionadas.
10. Finalmente, colocar las cajas en la incubadora en posición invertida a 37° C durante 24 horas.
11. Anotar las características macroscópicas observadas en cada cuadrante.

○ **Interpretación de resultados**

Esquema de interpretación de resultados

	
Identificación	Características macroscópicas
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento ligero de colonias de color rosa o rojo

Identificación	Características macroscópicas
<i>Klebsiella /Enterobacter</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Leve crecimiento de colonias con coloración rosa.
<i>Proteus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias incoloras con centros negros.
<i>Enterobacter aerógenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias de mayor diámetro que las colonias de <i>Escherichia coli</i>, mucosas, cremosas, opacas y blanquecinas.
<i>Salmonella</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias incoloras, generalmente con centros de color negro.
<i>Shigella</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias incoloras.
<i>Pseudomonas</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento leve e irregular.
Bacterias gram-positivas	<ul style="list-style-type: none"> • Ausencia de crecimiento.

Elaborado por: Denix Tiscama

- **Identificación bacteriana**

Una vez obtenidos los cultivos formados por un solo tipo de microorganismos (puros), por consiguiente, conocidas las características morfológicas. El paso a seguir se dio tras la elaboración de las pruebas necesarias para medir la actividad bioquímica bacteriana, como parte de una adecuada identificación de su especie.

Pruebas bioquímicas

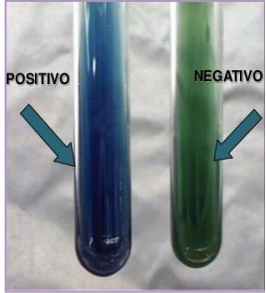
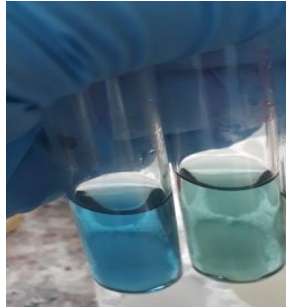
A pesar de la existencia de métodos automatizados y semiautomatizados en el mercado, los ensayos bioquímicos o pruebas bioquímicas tradicionales continúan acaparando el campo de la microbiología, hecho que se atribuye principalmente al elevado costo que representa a largo plazo cualquiera de los métodos propuestos para su competencia. Además, cabe mencionar que aún continúan dando buenos

resultados al momento de demostrar de forma clara alguna característica bioquímica correspondiente a la presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática, grupo de enzimas, crecimiento a una temperatura establecida y en presencia de inhibidores, entre otras (33).

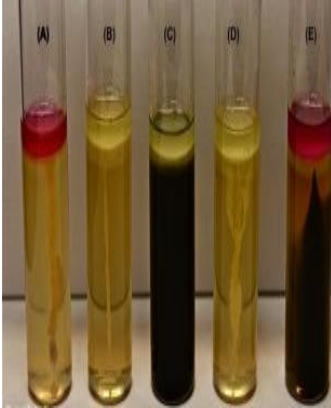
○ **Fundamento e Interpretación**

Constituyen medios de cultivo con determinado sustrato o inhibidor que tras incubación posibilitan el crecimiento bacteriano, posterior a la degradación de un sustrato observable, ya sea por viraje de algún indicador o como consecuente agregado de algún reactivo revelador de la presencia del sustrato (33), (41).


Esquema de fundamento e interpretación de pruebas bioquímicas

PRUEBA BIOQUÍMICA	FUNDAMENTO	GRÁFICO E INTERPRETACIÓN
CITRATO	<p>Establece la capacidad del microorganismo para aprovechar el citrato de sodio, como fuente de carbono.</p> <p>Negativo: medio verde</p> <p>Positivo: viraje de media a color azul</p>	 <p>Positivo - Negativo</p>
MALONATO	<p>Determina la capacidad que posee una bacteria para utilizar el malonato del medio como única fuente de carbono.</p> <p>Por acción del indicador de pH azul de bromilo, al tornarse alcalino el medio produce un viraje de color azul.</p>	 <p>Positivo - Negativo</p>



Esquema de fundamento e interpretación de pruebas bioquímicas.

PRUEBA BIOQUÍMICA	FUNDAMENTO	GRÁFICO E INTERPRETACIÓN
SIM	<p>Sulfuro: establece la actividad de la bacteria sobre aminoácidos que contienen azufre, liberando ácido sulfhídrico.</p>	 <p>PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO (SH₂): positivo: viraje del medio, a color negro negativo: sin viraje de color.</p> <p>MOVILIDAD Positivo: medio turbio, crecimiento disperso. Negativo: crecimiento en una sola línea.</p> <p>INDOL Positivo: formación de anillo rosa. Negativo: ausencia de anillo.</p>
	<p>Indol: determina si la bacteria es capaz o no de desdoblar el indol a partir del aminoácido triptófano mediante la acción de la enzima triptófanasa.</p> <p>El indol al reaccionar con el reactivo de Kovacs forma un complejo rojo, producto de su reacción con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído.</p>	
	<p>Motilidad: determina la capacidad de la bacteria para moverse, ayudada por la presencia de flagelos en su estructura.</p>	

Esquema de fundamento e interpretación de pruebas bioquímicas.

PRUEBA BIOQUÍMICA	FUNDAMENTO	GRÁFICO E INTERPRETACIÓN
<p style="text-align: center;">TSI (Triple Sugar Iron)</p>	<p>Medio nutriente y diferencial. Determina la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un medio único. También detecta la producción de H₂S.</p>	 <p>Photo by Karca M. Kiser</p> <p>FERMENTACIÓN DE:</p> <p>GLUCOSA (fondo del agar) Positivo: Coloración amarilla Negativo: Coloración rosa</p> <p>LACTOSA (pico del agar) Positivo: Coloración amarilla Negativo: Coloración rosa</p> <p>SACAROSA (superficie de agar) Positivo: Coloración amarilla Negativo: Coloración rosa</p> <p>PRODUCCION DE GAS</p> <p>GLUCOSA Positivo: presencia de burbujas Negativo: ausencia de burbujas</p> <p>PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO Positivo: viraje negro del agar Negativo: sin viraje del agar</p>

Esquema de fundamento e interpretación de pruebas bioquímicas.

PRUEBA BIOQUÍMICA	FUNDAMENTO	GRÁFICO E INTERPRETACIÓN
ROJO DE METILO	En caso de que la bacteria pueda fermentar glucosa, por vía ácida mixta, produce metabolitos como: ácido láctico y ácido succínico provocando un descenso en el pH de su medio, de 6.9 a 4.2, perceptible al agregar el indicador rojo de metilo; mostrando un cambio de coloración.	 <p>Positivo - Negativo</p>
UREA	Consiste en detectar la presencia de la enzima ureasa en una determinada bacteria. Con la presencia de enzima, el medio se alcaliniza y da viraje en su coloración, ayudado por el indicador (rojo fenol) incorporado.	 <p>Positivo - Negativo</p>

Elaborado por: La autora.

○ **Protocolo de siembra en baterías bioquímicas**

1. Con el área de trabajo previamente esterilizada, una vez encendidos los mecheros y al alcance de todos los materiales codificados. Con la mano derecha, tomar la aguja de siembra y flamearla por unos segundos, en forma vertical al mechero.
2. Destapar la placa, con la mano izquierda, para luego enfriar la aguja de siembra tras introducirla en los bordes del agar. Sin dañar el medio ni las colonias sobre él.

3. Tomar una colonia e inmediatamente, con ayuda de la mano izquierda, destape el tubo con agar TSI para flamear su boca.
4. Introduzca la aguja, picando hasta donde empieza el declive para luego subirla haciendo un movimiento de zigzag sobre la superficie, dibujando así una serie de estrías.
5. Flamear nuevamente la boca del tubo y taparlo.
6. Esterilizar la aguja de siembra para proceder a repetir los mismos pasos, tomando una nueva colonia, en los siguientes agares en pico de flauta correspondientes a citrato y urea.
7. Al terminar; con el agar SIM en mano y una vez tomada la colonia previa esterilización de la boca del tubo y la aguja de siembra, introducir la punta en el medio semisólido hasta aproximadamente $\frac{3}{4}$ partes de profundidad. En un solo movimiento y retirar.
8. Flamear la boca del tubo y tapar.
9. Para los dos medios líquidos restantes, malonato y rojo de metilo, sin olvidar esterilizar aguja y boca del tubo antes de tomar las respectivas colonias. Basta con inclinar el tubo y después de introducir la aguja, raspar ligeramente la pared del tubo. Se recomienda agitar la aguja dentro del caldo y retirar.
10. Flamear la boca del tubo y tapar.
11. Reunir de manera ordenada los tubos y llevarlos a la incubadora, a 37° C por un lapso de 24 h.
12. Transcurrido el tiempo; anotar los resultados en un recuadro para luego tras compararlo con las tablas prescritas en el manual de técnicas en microbiología clínica, como ejemplo de apoyo bibliográfico, identificar la especie bacteriana.

13. Reportar el resultado.

- **Aplicación de Antibiograma**

Como paso final, pero no menos importante, se estableció el estudio de sensibilidad de las bacterias identificadas anteriormente. Mostrándose la respuesta del microorganismo ante once de los antimicrobianos seleccionados en el laboratorio con el objetivo de definir su actividad individual in vitro. El estudio contempló el uso de uno de los procedimientos cuya metodología, a pesar de ser básica y sencilla, es una de las más utilizadas debido a su grado de aceptación en el estudio de sensibilidad microbiana, así como también en los criterios de interpretación y control.

- **Método de difusión**

El Antibiograma disco-placa constituye un método que, bajo propiedad intelectual de Bauer Kirby, ha logrado posesionarse en el mercado por recomendación de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI),

- **Fundamento**

Básicamente describe la ubicación de discos impregnados, con cantidades conocidas de distintos tipos de antibióticos, sobre la superficie de agar previamente inoculado. Las placas se incuban de 18-24 horas a 37°C; para lograr el esparcimiento del antibiótico que se abre paso, a través del microorganismo, con la formación del halo de inhibición. En la lectura se mide el diámetro de inhibición para interpretarlo como microorganismo sensible, intermedio o resistente (S, I o R) (42).

- **Procedimiento**

1. Preparar el área de trabajo, encendiendo un mechero y reuniendo los materiales necesarios.

2. Tomar de 1 o 2 colonias puras, obtenidas de un cultivo que no supere las 24h tras su siembra, con ayuda de un hisopo estéril.
3. Suspender las colonias, en un tubo de ensayo provisto de 4 a 5 mL de solución salina estéril, agitando el hisopo durante 15-20 segundos.
4. Agregar solución salina, de ser necesario, a fin de ajustar la turbidez del inóculo a 0.5 escala de MacFarland.
5. Sumergir el hisopo estéril en la suspensión y eliminar el exceso, rotándolo firmemente contra la pared interna del tubo.
6. Inocular una placa con agar Muller Hinton, preparada con antelación. Frotando el hisopo sobre la superficie del medio de cultivo.
7. Repetir la operación, por tres veces consecutivas, rotando la placa para lograr dispersar uniformemente el inóculo en toda la superficie.
8. Tapar la placa y dejar secar el inóculo de 3 a 5 minutos.
9. Colocar los discos antibióticos de forma manual con ayuda de pinzas esterilizadas al fuego. Teniendo en cuenta el diámetro de la placa, deben estar ubicados por lo menos a 15 mm de distancia del borde, para evitar entrecruzamiento o superposición de los halos entre discos vecinos.
10. Presionar ligeramente los discos sobre la superficie del agar para prevenir su desplazamiento. Recordando, no colocar más de 12 discos en placa de 150mm y no más de 6 en placas de 100mm.
11. Incubar de 18-24 horas las placas invertidas, en columnas de no más de 5 placas.

- **Interpretación de resultados**

Transcurrida las 18 horas de incubación y con ayuda de un pie de rey o una regla, se deben medir los diámetros de los halos de inhibición, de extremo a extremo, en milímetros (mm) para anotar los valores y compararlos con las tablas de puntos de corte publicadas por el manual de las CLSI actualizadas (42).

La interpretación permite clasificar las cepas estudiadas por categorías, tales como:

Sensible: significa que el aislado bacteriano es inhibido, in vitro, por concentraciones del agente antimicrobiano alcanzables. Es decir, cuando la dosis recomendada para tratar el sitio de infección resulta eficaz clínicamente.

Intermedio: quiere decir que la concentración del antimicrobiano, alcanzable en sangre o tejidos, se acerca a la concentración necesaria para inhibirlo. Pudiendo ser eficaz, asociado a un efecto terapéutico incierto.

Resistente: refiere un aislamiento microbiano no inhibido por concentraciones séricas de antimicrobiano, normalmente alcanzadas a dosis normales.

Dichos criterios son sustentados con la comparación de los resultados, tras medida, frente a lo dispuesto en las tablas de la CLSI actualizadas. (43).

Esquema de antibiograma para Enterobacteriácea (CLSI 2019)

ENTEROBACTERIAS					
Prueba/ Grupo	Antibiótico	Gramos	Sensible (mm)	Intermedio (mm)	Resistente (mm)
β-Lactámicos Agentes Combinados					
B	Amoxicilina - a. clavulánico (AMC)	20/10 µg	≥ 18	14 – 17	≤ 13
B	Ampicilina - sulbactam (SAM)	10/10 µg	≥ 15	12 – 14	≤ 11
Cefalosporinas					
B	Cefuroxima (CXM)	30 µg	≥ 18	15 – 17	≤ 14
B	Cefotaxima (CTX)	30 µg	≥ 26	23-25	≤ 22
Aminoglucósidos					
A	Gentamicina (CN)	10 µg	≥ 15	13 – 14	≤ 12
B	Amikacina (AK)	30 µg	≥ 17	15 – 16	≤ 14

Esquema de antibiograma para Enterobacteriácea (CLSI 2019)

Tetraciclinas					
C	Tetraciclina (TE)	30 µg	≥ 19	15 – 18	≤ 14
Quinolonas y Fluoroquinolonas					
O	Ofloxacino (OFX)	5 µg	≥ 16	13 – 15	≤ 12
Nitrofurantoinas					
U	Nitrofurantoina (F)	300µg	≥ 17	15 – 16	≤ 14
Antagonistas de la vía del folato					
B	Trimetoprim/ Sulfametoxazol (SXT)	1.25µg/ 23.75ug	≥ 16	11-15	≤ 10
Carbapenems					
B	Imipenem (IPM)	10 µg	≥23	20-22	≤ 19

Elaborado por: La autora.

2.7. Materiales

2.7.1. Institucionales

Laboratorio de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato, área de microbiología, Campus Querochaca.

2.7.2. Equipos

- Autoclave
- Pipetas semiautomáticas.
- Refrigeradora
- Estufa
- Contador de colonias
- Equipo Hanna portátil (pH, E.C, conductivity and TDS waterproof tester HI198129).
- Espectrofotómetro UV-VS
- Termómetro de alcohol
- Balanza analítica
- GPS

2.7.3. Materiales

- Envases plásticos con tapa hermética de 250 ml de capacidad
- Envases estériles plásticos con tapa hermética de 100 mL de capacidad.
- Cooler
- Gelpack refrigerante
- Botella ambar de vidrio
- Puntas amarillas graduadas
- Puntas azules graduadas
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Mandil
- Guantes de manejo
- Mascarillas
- Tocas
- Zapatones
- Disco esparcidor
- Mecheros bunsen
- Vasos de precipitación
- Probeta
- Erlenmeyers
- Agitador
- Trípodes
- Rejilla
- Tapas para tubo de ensayo
- Hisopos estériles
- Asa de siembra
- Asa en punta o aguja.
- Encendedor
- Escala McFarlan
- Placas petri
- Botas de caucho
- Terno impermeable completo
- Jeringuilla de 5mL

2.7.4. Reactivos

- Placas 3M™ Petrifilm™ (*E. coli* / Coliformes y Aerobios Mesófilos)
- Polvo de Agar (TSI, citrato, SIM, urea, malonato y rojo de metilo).
- Reactivo de Kovac
- Reactivo de rojo de metilo
- Polvo de Agar (MacConkey, EMB y SS agar)
- Solución salina estér.

CAPÍTULO III

3.1.Resultados

Este apartado contiene las tabulaciones y análisis de 13 indicadores de calidad hídrica, dispuestos en dos grupos; 11 parámetros fisicoquímicos y 2 parámetros bacteriológicos. Cada resultado, arrojado tras análisis del volumen obtenido del efluente, ha sido registrado de manera ordenada, de acuerdo a: parámetro analizado, fecha de captación de la muestra, número de punto designado para el muestreo y periodicidad de cada muestreo (horas de la mañana y tarde). Para luego ser comparado con el límite máximo permisible (LMP), conforme a cada indicador, del Libro VI del Texto Unificado De Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA) y del reglamento de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA); ambos usados como guías técnicas de referencia para la valoración del estado hídrico en base al criterio, consumo humano/ calidad, al que se vio orientada la caracterización fisicoquímica y bacteriológica de aguas de la Laguna de Ozogoché de la Zona Central del Ecuador.

- **Análisis de parámetros fisicoquímicos**

Los resultados dados tras determinación individual de los 11 parámetros fisicoquímicos no evidencian diferencias estadísticamente significativas entre: puntos de muestreo, periodos o tiempos de muestreo y tampoco entre muestreos. Puesto que, al existir homogeneidad de varianza en los grupos ya mencionados, los valores de F en la prueba ANOVA resultaron ser menores que los valores del eje F crítico y por consiguiente la significación (probabilidad) cuantificada estableció valoraciones $> 0,05$; tal y como muestran las tablas a continuación.

De acuerdo a esto, se hizo factible la promediación de los resultados en su totalidad, atendiendo a cada parámetro por individual, para finalmente ser comparados frente a los límites máximos permisibles de la norma de calidad ambiental y descarga de agua de efluentes TULSMA y del reglamento de calidad de agua para consumo humano DIGESA, según corresponda.

Tabla 1: Valores de Potencial de Hidrógeno de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

POTENCIAL DE HIDRÓGENO (pH)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	7,27	6,89	8,23	8,39	8,59	7,74	8,80	7,93
P2	6,82	6,95	8,97	8,24	8,25	7,68	7,91	7,78
P3	6,98	7,10	8,65	8,28	8,09	7,70	7,85	7,71
P4	7,05	7,17	8,50	8,21	8,09	8,63	7,75	7,68
P5	7,29	7,40	8,50	8,21	7,92	7,59	7,70	7,69
P6	7,30	7,36	8,32	8,16	7,86	7,54	7,89	7,65
X	7,13		8,39		7,97		7,86	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 2: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Potencial de hidrogeno.

ANOVA de Potencial de Hidrógeno			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	3,12074	0,1186	5,0503
Mañana/Tarde	0,1059	0,7581	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	0,7945	0,5966	5,0503
Mañana/Tarde	5,6160	0,0640	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	1,1575	0,4382	5,0503
Mañana/Tarde	2,8235	0,1537	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	2,5401	0,1646	5,0503
Mañana/Tarde	3,54745	0,1183	6,6079
TOTAL			
Muestra	01,8024	0,1564	2,7581

Elaborado por: La investigadora.

Análisis

La presencia del ión hidrogeno es uno de los más importantes indicadores de calidad de aguas naturales puesto que, a pesar de no haberse registrado daños producidos sobre el consumidor directamente, el proceso de desinfección puede verse afectado; en caso de presentar una concentración superior a 8. Para causar irritación ocular o de mucosas con posterior agravación, las concentraciones de pH del acuífero, deben ser superiores a 11(44).La presente investigación denota aguas alcalinas durante todo el muestreo, con concentraciones no superiores a 8,39 pH, de fácil desinfección previo aprovechamiento; sin que pudieran causarle daño al consumidor.

Tabla 3: Valores de Temperatura de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

TEMPERATURA (°C)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	14	15	13	15	12	13	13	14
P2	14	16	14	15	13	14	12	15
P3	15	16	14	14	13	14	13	13
P4	15	14	15	16	14	14	12	14
P5	14	15	16	15	14	13	14	14
P6	15	16	13	15	13	15	14	15
X	15		15		14		14	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 4: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Temperatura del efluente.

ANOVA de Temperatura			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	1,3333	0,3800	5,0503
Mañana/Tarde	5,0000	0,0756	6,6079
M2			

ANOVA de Temperatura			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
Puntos de muestreo	1,5854	0,3127	5,0503
Mañana/Tarde	3,0488	0,1412	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	1,1250	0,4502	5,0503
Mañana/Tarde	2,5000	0,1747	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	1,0000	0,5000	5,0503
Mañana/Tarde	5,9756	0,0583	6,6079
TOTAL			
Muestra	2,5274	0,0658	2,7581

Elaborado por: La investigadora

Análisis

El conocer la temperatura puede ayudar en la predicción y confirmación de otras condiciones en las que se encuentre el recurso hídrico. Dada la influencia directa que ejerce sobre otros factores como: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), donde a mayor temperatura menor es la cantidad de DBO₅ y supervivencia de especies bacterianas. La concentración bacteria resulta ser directamente proporcional a la temperatura hídrica (19), (44). La valoración obtenida tras promediación denota, no por mucho, temperaturas superiores en los dos primeros muestreos (15°C) en contraste con los subsiguientes (14°C). Conducta que se atribuye directamente al cambio de estado climático, comprendido por verano (junio - noviembre) e invierno (diciembre - mayo). Por efecto se podría predecir mayor concentración bacteriana con aumento de DBO₅ para el mes de noviembre, designado para el primer y segundo muestreo y menor concentración bacteriana con disminución en la DBO₅ para los meses de diciembre y enero, en los que se llevó a cabo el tercer y cuarto muestreo.

Tabla 5: Valores de concentración de Nitratos en las aguas de la Laguna de Ozogoché, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

NITRATOS (mg/l)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MUESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	0,60	0,90	0,50	0,60	0,40	0,40	0,60	0,40
P2	0,30	0,10	0,30	0,60	0,50	0,50	0,20	0,60
P3	0,40	0,06	0,30	0,40	0,20	0,40	0,20	0,70
P4	0,06	0,07	0,30	0,60	0,10	0,40	0,00	0,70
P5	0,80	0,07	0,40	0,70	0,30	0,50	0,30	0,60
P6	0,70	0,05	0,50	0,40	0,60	0,30	0,70	0,30
X	0,34		0,47		0,38		0,44	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 6: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Nitratos del efluente.

ANOVA de Nitratos			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	1,4856	0,3373	5,0503
Mañana/Tarde	2,8086	0,1546	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	0,8500	0,5686	5,0503
Mañana/Tarde	6,2500	0,0545	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	0,7429	0,6239	5,0503
Mañana/Tarde	0,5714	0,4838	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	0,7522	0,9935	5,0503
Mañana/Tarde	1,5505	0,2682	6,6079
TOTAL			
Muestra	0,0211	0,9958	2,7581

Elaborado por: La investigador.

Análisis

Las concentraciones de nitratos en aguas superficiales no suelen exceder los 10 mg/l no obstante, el uso abusivo de fertilizantes para la producción agrícola aledaña así como la contaminación por acopio de excremento humano y animal contribuyen en su elevación (35), (44). Si bien es cierto, la cantidad de nitratos en mg/dl depende del grado de contaminación de la fuente por absorción e infiltración de estos compuestos a través de la porosidad del suelo. El análisis de nitratos del presente trabajo investigativo apunta hacia una excelente condición de las aguas de la Laguna de Ozogoché, libre de contaminantes filtrados, aspecto que puede deberse a la aplicación de técnicas orgánicas para el cultivo dentro de la comunidad; así como también de la cultura de preservación ambiental impuesta, por el Ministerio del Ambiente en colaboración de los guardaparques del Parque Nacionala Sangay, a turistas y pobladores.

Tabla 7: Valores de concentración de Nitritos en las aguas de la Laguna de Ozogoché, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

NITRITOS (mg/l)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MUESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	0,004	0,007	0,003	0,007	0,005	0,006	0,003	0,005
P2	0,001	0,001	0,001	0,005	0,006	0,006	0,001	0,004
P3	0,004	0,006	0,004	0,006	0,004	0,004	0,003	0,005
P4	0,007	0,005	0,010	0,006	0,004	0,005	0,004	0,005
P5	0,005	0,004	0,004	0,002	0,005	0,003	0,005	0,004
P6	0,010	0,007	0,002	0,005	0,001	0,005	0,001	0,002
X	0,005		0,005		0,005		0,004	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 8: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Nitritos del efluente.

ANOVA de Nitritos			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	4,6183	0,0593	5,0503
Mañana/Tarde	0,0525	0,8278	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	1,2815	0,3961	5,0503
Mañana/Tarde	0,7185	0,4353	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	1,2414	0,4091	5,0503
Mañana/Tarde	0,6897	0,4441	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	3,2143	0,1129	5,0503
Mañana/Tarde	5,7143	0,0623	6,6079
TOTAL			
Muestra	2,4908	0,9999	2,7581

Elaborado por: La investigadora

Análisis

Al igual que los nitratos, las elevadas concentraciones de nitritos se deben principalmente a la contaminación fecal de animales. En condiciones normales es posible hallar niveles menores a 0,1 mg/L de nitratos en aguas de superficie, sin representar daño alguno al ser consumidas en estado crudo ; empero, en exceso dicho ion resulta sumamente peligroso por su capacidad de reaccionar con la hemoglobina de la sangre para impedir su oxigenación (32), (44).Dentro de los promedios calculados se expresan niveles de nitritos sumamente bajos con un máximo de 0,005 mg/l, valor constan en los tres primeros muestreos, con tendencia disminitiva para el cuarto día (valorado en 0,004 mg/l).Por lo que es facil deducir una buena condición del recurso hídrico,libre de contaminates orgánicos, aceptable para consumo humano.

Tabla 9: Valores de Turbiedad de las aguas de la Laguna de Ozogoché, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

TURBIEDAD (UTN)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MUESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	2,03	1,37	1,05	1,54	1,05	1,26	0,69	0,44
P2	5,08	0,27	0,75	0,64	0,78	0,84	0,9	0,65
P3	1,37	0,3	0,84	0,93	0,86	1,09	0,68	0,47
P4	1,37	0,5	0,79	1,01	0,79	0,98	0,55	0,58
P5	0,77	0,42	0,91	0,74	0,86	0,86	0,86	0,81
P6	1,65	0,4	0,97	0,85	1,22	1,01	0,54	0,99
X	1,29		0,92		0,97		0,68	

Elaborado por: La investigadora.

Tabla 10: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Turbiedad del efluente.

ANOVA de Turbiedad			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	0,8724	0,5577	5,0503
Mañana/Tarde	4,9639	0,0763	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	2,4834	0,1704	5,0503
Mañana/Tarde	0,4098	0,5502	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	2,8127	0,1405	5,0503
Mañana/Tarde	1,3483	0,2980	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	0,8593	0,5641	5,0503
Mañana/Tarde	0,1805	0,6886	6,6079
TOTAL			
Muestra	0,3655	0,7781	2,7581

Elaborado por: La investigadora

Análisis

La turbiedad se analiza como condición favorecedora de otros indicadores de calidad hídrica. Es decir, al ser producto de la suspensión de materia orgánica e inorgánica contribuye en la determinación de microorganismos patógenos, que la aprovechar a favor de su proliferación (44). Para el estudio en cuestión, se observan promediaciones en Unidades Nefelométricas de Turbidez que van desde 0,68- 1,29. Aspecto que sugiere una posible disminución de microorganismos bacterianos asociados a su concentración, en cada muestreo. De tal manera, la apreciación del buen estado de calidad hídrica de la Laguna de Ozogoché se ve fortalecida con los resultados presentes.

Tabla 11: Valores de concentración de Amoniacó en las aguas de la Laguna de Ozogoché, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019

AMONIACO (mg/l)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,01	0,01	0,00
P2	0,02	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,01	0,01
P3	0,04	0,04	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01
P4	0,03	0,01	0,02	0,03	0,01	0,02	0,01	0,02
P5	0,01	0,04	0,01	0,04	0,02	0,04	0,01	0,03
P6	0,03	0,04	0,02	0,05	0,03	0,04	0,02	0,01
X	0,03		0,03		0,02		0,01	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 12: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Amoniacó del efluente.

ANOVA de Amoniaco			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	1,0000	0,5000	5,0503
Mañana/Tarde	0,2500	0,6383	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	0,5248	0,7519	5,0503
Mañana/Tarde	1,2376	0,3165	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	1,7547	0,2761	5,0503
Mañana/Tarde	0,0943	0,7711	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	0,6666	0,6664	5,0503
Mañana/Tarde	1,3553	1,0000	6,6079
TOTAL			
Muestra	0,0003	1,0000	2,7581

Elaborado por: La investigadora

Análisis

La presencia de amoníaco en aguas de superficie se debe al proceso de transformación que sufre el nitrógeno liberado a partir de vegetales, animales y excrementos en estado de descomposición. Cantidades no superiores a 0,100 mg/l resultan de la degradación de materia netamente orgánica (36). Por acción del oxígeno disuelto, presente en grandes cantidades, el proceso da continuidad convirtiendo el amoníaco en nitrito y finalmente en nitrato (44). En este estudio se pueden denotar concentraciones, en el promedio de nitratos (**Tabla 5**), mayores a las concentraciones de amoníaco. Mostrando una fuente rica en oxígeno disuelto, cuya acción coadyuvante hace que se eleven las concentraciones de nitratos, en cierta proporción, derivados de amoníaco. La baja concentración de amoníaco en el agua del acuífero no resulta perjudicial para la salud del consumidor.

Tabla 13: Valores de concentración de Sólidos Totales Disueltos en las aguas de la Laguna de Ozogoché, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

SÓLIDOS TOTALES DISUELTOS (ppm ó mg/l)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MUESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	76	43	44	27	28	25	30	27
P2	31	33	62	30	25	31	27	30
P3	30	29	27	31	27	24	28	25
P4	30	25	38	26	24	24	25	25
P5	32	23	25	24	23	23	23	24
P6	26	29	28	28	25	30	28	29
X	34		33		26		27	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 14: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Sólidos Totales Disueltos del efluente.

ANOVA de Sólidos Totales Disueltos			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	3,5576	0,0950	5,0503
Mañana/Tarde	1,7105	0,2478	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	1,2613	0,4026	5,0503
Mañana/Tarde	3,0693	0,1402	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	1,0356	0,4851	5,0503
Mañana/Tarde	0,2784	0,6203	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	3,1734	0,1154	5,0503
Mañana/Tarde	0,0289	0,8717	6,6079
TOTAL			
Muestra	2,4265	0,0743	2,7581

Elaborado por: La investigadora

Análisis

Los sólidos totales disueltos corresponden a la suspensión de productos tras erosión del suelo, detritus orgánico y plancton aglomeradas en aguas de superficie. Constituye un indicador de calidad muy poco requerido para análisis de aguas crudas, por su gran parecido con el análisis del indicador turbiedad. No representan daño al consumidor pero resulta desagradable en la ingesta de aguas demasiado concentradas (32), (35) Los datos obtenidos del proyecto investigativo indican valores promediados en descenso; aspecto que se atribuye al cambio estacional que se atravesó en cada muestreo. Es decir, para la época de verano, del primer y segundo muestreo, el volumen de agua del acuífero disminuyó con una consecuente acumulación de SDT; hallados también en menor proporción, debió al aumento del caudal provocado por lluvias, en el tercer y cuarto muestreo realizados en época invernal. En general, por su baja concentración, no logra disminuir la palatabilidad tras su consumo (44).

Tabla 15: Valores de Conductividad eléctrica de las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA ($\mu\text{mho/cm}$)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	157	80	87	54	58	49	59	53
P2	61	64	59	61	52	63	52	52
P3	58	56	52	62	54	49	52	49
P4	58	50	76	51	49	48	49	45
P5	61	46	49	46	48	44	44	56
P6	51	55	55	55	50	58	55	58
X	66		59		52		52	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 16: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Conductividad del efluente.

ANOVA de Conductividad eléctrica			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	2,7981	0,1416	5,0503
Mañana/Tarde	1,5857	0,2635	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	0,8570	0,5652	5,0503
Mañana/Tarde	1,4023	0,2896	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	1,1017	0,4590	5,0503
Mañana/Tarde	3,6911	1,0000	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	1,2656	0,4012	5,0503
Mañana/Tarde	0,0156	0,9054	6,6079
TOTAL			
Muestra	2,0965	0,1101	2,7581

Elaborado por: La investigadora

Análisis

La medida de conductividad indica la presencia de sales en el agua y se ve estrechamente relacionada con la concentración de sólidos totales disueltos (SDT) (44). Por tanto, atendiendo el presente estudio, se pueden observar niveles promediados de STD (**Tabla 13**) directamente proporcionales a los promedios obtenidos de conductividad eléctrica. Al igual que en el análisis de SDT, la escasa conductividad sugiere un estado puro en calidad de aguas de la Laguna de Ozogoché; aceptables para aprovechamiento humano.

Tabla 17: Valores de Alcalinidad de las aguas de la Laguna de Ozogoché, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

ALCALINIDAD (mg/l)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	78	46	45	44	48	46	62	47
P2	46	41	40	48	41	47	41	44
P3	28	44	43	44	41	46	44	45
P4	44	47	48	42	47	41	48	47
P5	49	42	42	46	43	45	50	48
P6	60	46	52	61	53	60	49	51
X	48		46		47		48	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 18: Prueba ANOVA para determinación de diferencia significativa a partir de los resultados de Alcalinidad del efluente.

ANOVA de Alcalinidad (mg/l)			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	1,2155	0,4178	5,0503
Mañana/Tarde	0,9709	0,3697	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	3,1548	0,1165	5,0503
Mañana/Tarde	1,1610	0,3305	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	3,9385	0,0794	5,0503
Mañana/Tarde	0,9231	0,3808	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	1,6364	0,3010	5,0503
Mañana/Tarde	0,5455	0,4934	6,6079
TOTAL			
Muestra	0,1381	0,9369	2,7581

Elaborado por: La investigadora.

Análisis

La alcalinidad refiere un indicador asociado con el potencial de hidrógeno, carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos presentes en el agua de superficie. Su análisis va orientado en la elección de un adecuado tratamiento químico para aguas de efluentes candidatas a potabilización y expendio poblacional (44). El proyecto de investigación en cuestión permite observar valores promediados de alcalinidad no superiores a 48 mg/l. Proponiendo su aceptabilidad de acuerdo al criterio de estudio, en función uso/consumo humano, sin representar riesgo a la salud ni generar rechazo. Cabe acotar que, a pesar de ser una muy buena candidata a potabilización, esta resguardada por el Parque Nacional Sangay bajo nominación de Patrimonio Natural de la Humanidad.

Tabla 19: Valores de concentración de Sulfatos en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019

SULFATOS (ppm)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MUESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	0	0	0	0	0	0	0	0
P2	0	0	0	0	0	0	0	0
P3	0	0	0	0	0	0	0	0
P4	0	0	0	0	0	0	0	0
P5	0	0	0	0	0	0	0	0
P6	0	0	0	0	0	0	0	0
X	0		0		0		0	

Elaborado por: La investigadora

Análisis

Los sulfatos están ampliamente distribuidos en la naturaleza pudiendo presentarse en aguas superficiales, adoptando formas de minerales o como resultado de

contaminación por descarga de desechos industriales y depósitos atmosféricos (44). Para la valoración de sulfatos no se considera necesaria la aplicación de ANOVA en búsqueda de diferencia estadísticamente significativa, entre grupos o categorías, debido a la ausencia del compuesto en las aguas de la Laguna de Ozogoche. Los datos obtenidos del proyecto investigativo indican valores promediados, nulos (0ppm), en su totalidad, sugestivos de aguas puras ; libres de contaminación por efecto de desechos industriales.

Tabla 20: Valores de Demanda Bioquímica de Oxígeno de las aguas de la Laguna de Ozogoche, en conjugado de cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (mg/l)			
MUESTREO #1 (4-11-2018)	MUESTREO #2 (18-11-2018)	MUESTREO #3 (02-12-2018)	MESTREO #4 (06-1-2019)
0	0	0	0

Elaborado por: La investigadora

Análisis

Al igual que en la valoración de sulfatos , para el análisis de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) tampoco se considera necesaria la aplicación de ANOVA.

En la determinación de DBO₅ se observan valores nulos, en los cuatro muestreos, obtenidos tras análisis de un conjugado de doce muestras. Dada esta cantidad se puede predecir una buena condición del efluente, en relación al subsecuente análisis bacteriológico. Es decir, al cuantificar un promedio de 0mg/L de DBO₅, en las aguas de la laguna de Ozogoche, se prueba la escases de materia orgánica necesaria para el aprovechamiento de microorganismos bacterianos (heterótrofos). Indica también, altas concentraciones de oxígeno disuelto desperdiciado; puesto que, los agentes bacterianos heterótrofos no lograron su aprovechamineto a falta de materia orgánica necesraia para su proliferación (44). El presente trabajo investigativo denota , en la evaluación de sus 11 parametros fisicoquímico seleccionados, un recurso hídrico de calidad aceptable para consumo humano.

- **Análisis de los parámetros bacteriológicos**

Los resultados dados tras determinación individual de los indicadores bacteriológicos, a partir de muestras de agua de la Laguna de Ozogoché, siguieron la misma conducta de los valores mostrados en los parámetros fisicoquímicos. Es decir, tampoco evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre: puntos de muestreo, periodos o tiempos de muestreo y muestreos; tal y como describen las tablas del ANOVA trazadas a continuación.

También se promediaron los resultados a ser comparados frente al límite máximo permisible del reglamento de calidad de agua de consumo humano DIGESA, para *E.coli* / Coliformes Totales y de la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108:2011 cuarta versión, para Aerobios Mesófilos Totales .

Tabla 21: Valores de concentración de Coliformes Totales en las aguas de la Laguna de Ozogoché, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

COLIFORMES TOTALES (UFC/100ml)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	400	600	100	300	200	500	0	0
P2	500	0	300	100	100	200	0	200
P3	800	0	300	100	0	0	100	100
P4	400	300	200	400	200	300	100	500
P5	0	500	1400	600	500	500	100	0
P6	104	200	0	0	100	1200	200	300
X	317		317		317		133	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 22: Prueba ANOVA para evaluación de diferencia significativa en los resultados de Coliformes Totales del efluente.

ANOVA de Coliformes Totales (UFC/100ml)			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	0,2729	0,9098	5,0503
Mañana/Tarde	0,2671	0,6274	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	3,5096	0,0972	5,0503
Mañana/Tarde	0,7692	0,4206	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	1,2463	0,4075	5,0503
Mañana/Tarde	2,3881	0,1829	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	1,7083	0,2855	5,0503
Mañana/Tarde	1,8750	0,2292	6,6079
TOTAL			
Muestra	1,1512	0,3359	2,7581

Elaborado por: La investigadora.

Análisis

La presencia de Coliformes Totales en efluentes se da de forma natural debido a factores como: aguas ricas en nutrientes, suelos o materia vegetal en descomposición. Pero también puede verse ligada a contaminación con deposiciones humanas o animales (44). El presente estudio denota promedios ,tras contaje bacteriano en Unidades Formadoras de Colonias (UFC/100ml), de Coliformes Totales en su mayoría constantes. Es decir, para el primer, segundo y tercer muestreo un recuento de 317 UFC/100ml puede verse asociado ala presencia de materia orgánica en descomposición sea o no de tipo natural (vegetales) o contaminante (heces o animales muertos). Ya que durante la inspección del terreno donde se asienta la Laguna de Ozogoche no se evidenciaron vertederos, conecciones o posibles vertientes de desechos industriales y agrícolas; se descarta la presencia de estas bacterias asociada con actividades constantes enemigas al medio ambiente. Las bacterias en promedio del cuarto muestreo se presentaron en cantidades mucho

menores (133 UFC/100ml) debido al temporal propio del invierno, en el que se presentaron lluvias incesantes el día completo. Logrando aumentar el caudal del acuífero con la posterior disminución de su temperatura y turbiedad; asociados a la disolución de materia orgánica necesaria para su multiplicación.

Tabla 23: Valores de concentración de Coliformes Fecales (*E.coli*) en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

<i>E. COLI</i>/COLIFORMES FECALES (UFC/100ml)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	0	0	0	0	0	0	0	0
P2	0	0	0	0	0	0	0	0
P3	0	0	0	0	0	0	0	0
P4	0	0	0	0	0	0	0	0
P5	0	0	0	0	0	0	0	0
P6	0	0	0	0	0	0	0	0
X	0		0		0		0	

Elaborado por: La investigadora

Análisis

Para la valoración de *E. coli* (exponente sanitario de Coliforme Fecal) no se considera necesaria la aplicación de ANOVA en búsqueda de diferencia estadísticamente significativa puesto que, los datos obtenidos del proyecto investigativo indican valores nulos (UFC/100ml) en su totalidad, sugestivos de aguas libres de contaminación por efecto de excremento de humanos o animales.

Tabla 24: Valores de concentración de Aerobios Mesófilos Totaes en las aguas de la Laguna de Ozogoche, promediados en cuatro muestreos, durante el período noviembre 2018 – enero 2019.

AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES (UFC/ml)								
PUNTOS	MUESTREO #1 (4-11-2018)		MUESTREO #2 (18-11-2018)		MUESTREO #3 (02-12-2018)		MESTREO #4 (06-1-2019)	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
P1	92	90	58	19	26	98	4	56
P2	57	43	27	15	17	14	20	15
P3	100	13	30	10	37	14	24	10
P4	13	4	49	19	14	13	4	12
P5	3	45	53	88	33	53	10	18
P6	24	14	13	14	12	95	14	28
X	42		33		36		18	

Elaborado por: La investigadora

Tabla 25: Prueba ANOVA para evaluación de diferencia significativa en los resultados de Aerobios Mesófilos del efluente.

ANOVA de Aerobios Mesófilos			
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
M1			
Puntos de muestreo	2,1505	0,2103	5,0503
Mañana/Tarde	0,6168	0,4678	6,6079
M2			
Puntos de muestreo	2,4443	0,1745	5,0503
Mañana/Tarde	1,0098	0,3611	6,6079
M3			
Puntos de muestreo	0,8830	0,5526	5,0503
Mañana/Tarde	1,9499	0,2214	6,6079
M4			
Puntos de muestreo	0,4177	0,8200	5,0503
Mañana/Tarde	1,2783	0,3095	6,6079
TOTAL			
Muestra	1,5907	0,2010	2,7581




Elaborado por: La investigadora

Análisis




El estudio de Aerobios Mesófilos Totales descrito en el presente proyecto de investigación muestra oscilación en sus concentraciones, muestreo a muestreo, que van descendiendo desde 42 hasta llegar a 18 UFC/ml; aspecto que se entiende por el cambio de estación . Al igual que en los contajes de Coliformes Totales (**Tabla 21**), el comportamiento de los resultados se ve asociado con la disolución de materia orgánica en el acuífero debido a lapresencia de lluvias y al consecuente cambio de temperatura de la fuente. Se puede acotar que a pesar del incremento de oxígeno disuelto en agua; laesaces de materia organica en el medio acusos impide la multiplicacion de estas bacterias afines a temperaturas de 30-37° dependientes de oxígeno.

• **Análisis de pruebas bioquímicas e identificación bacteriana**

Tabla 26: Identificación de las cepas aisladas.

N°	TRI SUGAR IRON					SIM			CITRATO	UREA	MALONATO	ROJO DE METILO	CARACTERÍSTICA MACROSCÓPICA	IDENTIF.	GRÁFICO
	Glucosa	Sacarosa	Lactosa	Gas glucosa	SH ₂	SH ₂	Movilidad	Indol							
1	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	Agar MacConkey: Colonias grandes, mucosas, rosadas (fermentadoras de lactosa).	<i>Klebsiella ozaenae</i>	
REF:	+	V-	V-	V	-	-	-	-	V-	V-	-	+			
2	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	Agar MacConkey: Colonias grandes, mucosas, rosadas. Fermentadoras de lactosa. Agar EMB: Colonias grandes, mucoides y negro azuladas.	<i>Enterobacter cloacae</i>	
REF:	+	+	+	+	-	-	+	-	+	V+	V+	-			
3	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Agar MacConkey: Colonias grandes, mucosas, rosadas. Fermentadoras de lactosa. Agar EMB: Colonias con centro pardo grisáceo y refractante, sin brillo metálico.	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
REF:	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	V+	-			

Continuación de la tabla 26: Identificación de las cepas aisladas.

N°	TRI SUGAR IRON					SIM			CITRATO	UREA	MALONATO	ROJO DE METILO	CARACTERÍSTICA MACROSCÓPICA	IDENTIF.	GRÁFICO
	Glucosa	Sacarosa	Lactosa	Gas glucosa	SH ₂	SH ₂	Movilidad	Indol							
4	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	Agar MacConkey: Colonias grandes, mucosas, rosadas. Fermentadoras de lactosa. Agar EMB: Colonias grandes, mucoides y negro azuladas.	<i>Enterobacter agglomerans</i>	
REF:	+	V ⁺	V ⁻	+	-	-	V ⁺	V ⁻	V	V ⁻	V ⁺	V			
5	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	Agar MacConkey: Colonias pequeñas y de fermentación lenta de lactosa	<i>Serratia marcescens</i>	
REF:	+	+	-	V	-	-	+	-	+	V ⁻	-	V			
6	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	Agar MacConkey: Colonias incoloras transparentes. No fermentadoras de lactosa. SS Agar: Colonias incoloras con centros negros.	<i>Proteus vulgaris</i>	
REF:	+	+	-	V ⁺	+	+	+	+	V ⁻	+	-	+			

Elaborado por: La investigadora.

Análisis

Puesto que, el proceso de identificación fenotípica bacteriana requiere la descripción de diversas cualidades “visibles”, tales como: morfología, crecimiento, propiedades bioquímicas y metabólicas (**Tabla 26**). El presente proyecto describe la información necesaria como aporte investigativo evidenciando la presencia de 6 diferentes cepas bacterianas en las aguas de la Laguna de Ozogoche, correspondientes a: *Klebsiella ozaenae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia marcescens* y *Proteus vulgaris*.

En primera estancia, el aislamiento de las colonias en agar MacConkey mostraron características macroscópicas, propias de los géneros : Enterobacter; Serratia y Proteus. Para continuar con la apreciación del comportamiento metabólico de cada género que le designaría su especie; la interpretación de resultados de las colonias, sembradas en baterías bioquímicas, fueron comparados con las tablas referenciales de las bacterias prescritas en el Manual de Técnicas en Microbiología Clínica; apartado “características para la diferenciación de las especies de la familia Enterobacteriaceae”. Finalmente buscado afianzar la identificación, tras la activación e inoculación de las cepas puras en medios selectivos de diferenciación (Agar Eosina y Azul de Metileno y SS Agar), se recolectó la información necesaria para corroborar los resultados de cada especie bacteriana.

- **Análisis de antibiogramas aplicados a cepas identificadas**

El siguiente apartado describe el comportamiento de las seis diferentes cepas bacterianas previamente identificadas, frente a 10 antimicrobianos seleccionados en el laboratorio. Para ello se abrevia la interpretación, como: sensible (S), intermedio (I) o resistente (R); apoyada por los puntos de corte prescritos por la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2019) .A fin de determinar la susceptibilidad de cada una de ellas, in vitro, frente antibióticos de uso terapéutico; así como su respectiva resistencia natural (RN), sirviéndose de ella como aporte investigativo, en control de calidad de las cepas identificadas (43).

Tabla 27: Interpretación de resultados del antibiograma, aplicado en las cepas identificadas, frente al punto de corte de la CLSI 2019.

BACTERIA	RESPUESTA AL ANTIBIÓTICO (CONT. ug)																					
	Amoxicilina + a.clavulánico AMC (20/10)		Ampicilina + Sulbactam SAM (10/10)		Cefuroxima CXM (30)		Cefotaxima CTX (30)		Gentamicina CN (10)		Amikacina AK (30)		Tetraciclina TE (30)		Ofloxacino OFX (5)		Nitrofurantoina F (300)		Trimetoprim / Sulfametoxazol SXT 1.25 /23.75		Imipenem IPM (10)	
	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta
<i>Klebsiella Ozaenae.</i>	18	S	21	S	21	S	28	S	34	S	26	S	32	S	30	S	35	S	26	S	-	S
<i>Proteus vulgaris</i>	18	S	23	S	-	-	26	S	25	S	26	S	12	RN	37	S	14	RN	30	S	25	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	15	RN	11	RN	-	-	36	S	25	S	28	S	31	S	37	S	25	S	35	S	33	S
<i>Enterobacter agglomerans</i>	12	RN	11	RN	-	-	35	S	35	S	23	S	28	S	29	S	35	S	26	S	37	S

Continuación de la Tabla 27 : Interpretación de resultados del antibiograma, aplicado en las cepas identificadas, frente al punto de corte de la CLSI 2019.

BACTERIA	RESPUESTA AL ANTIBIÓTICO (CONT. ug)																					
	Amoxicilina + a.clavulánico AMC (20/10)		Ampicilina + Sulbactam SAM (10/10)		Cefuroxima CXM (30)		Cefotaxima CTX (30)		Gentamicina CN (10)		Amikacina AK (30)		Tetraciclina TE (30)		Ofloxacino OFX (5)		Nitrofurantoina F (300)		Trimetoprim / Sulfametoxazol SXT 1.25 / 23.75		Imipenem IPM (10)	
	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta	Diámetro mm	Respuesta
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	R	23	S	14	R	31	S	30	S	29	S	27	S	32	S	28	S	34	S	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	7	RN	8	RN	7	RN	35	S	29	S	37	S	26	S	26	S	12	RN	32	S	-	-

Elaborado por: La investigadora

Análisis

Mediante la comparación in vitro del diámetro de los halos de inhibición, de cada uno de los antibióticos aplicados sobre las cepas inoculadas en agar Muller Hinton, se pueden evidenciar: cepas de *Klebsiella Ozaenae*, sensibles a la totalidad de los antibióticos, desmostrando su eficacia in vivo en caso de ser seleccionados a manera de tratamiento; cepas de *Proteus vulgaris* sensibles a 8 de 10 antibióticos, con resistencia natural frente a Tetraciclina (TE) y Nitrofurantoina (F), corroborando su correcta identificación; cepas de *Enterobacter cloacae* y *Enterobacter agglomerans*, sensibles a 8 de los ejemplares, con resistencia inherente comprobada a los 2 β -Lactámicos combinados restantes; cepas de *Serratia marcescens*, sensible a 6 de los 10 agentes, con resistencia innata ante Amoxicilina + Ac. Clavulánico (AMC), Ampicilina + Sulbactam (SAM), Cefuroxima (CXM) y Nitrofurantoina (P), reafirmando su identificación; Finalmente cepas de *Enterobacter aerogenes*, sensible ante 8 de los 10 antibióticos, con resistencia frente a Amoxicilina + Ac. Clavulánico (AMC) y Cefuroxima (CXM), mostrando ineficacia en la aplicación de ambos para uso terapéutico. De esta última especie no se describe resistencia intrínseca, dentro del apartado Enterobacterias, por parte de la CLSI 2019.

- **Análisis descriptivo de los indicadores de calidad fisicoquímicos y bacteriológicos frente a límites permisibles**

Tras elaboración de la prueba ANOVA, necesaria para comparación de varios grupos en cada una de las variables cuantitativas (indicadores de calidad); en búsqueda de diferencia significativa. El presente trabajo investigativo planteó la elaboración de estadísticas descriptivas con el fin de conocer la distribución de los datos compilados en cada variable y establecer comparación entre el promedio general y su respectivo Límite Máximo Permissible (LMP); en conformidad con las distintas normas de calidad en criterio de aguas para consumo humano y aprovechamiento doméstico.

Tabla 28: Estadísticas descriptivas de indicadores de calidad hídrica frente a valores reafereenciales del Texto Unificado de Legislación Secundaria (TULSMA).

PARÁMETRO	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTANDAR	MÁXIMO	MÍNIMO	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES TULSMA
Potencial de hidrogeno (pH)	7,84	0,53	8,97	6,82	6-9
Temperatura (°C)	14	1,07	16	12	Condición natural 15 (+/-3 grados)
Nitratos (mg/l)	0,41	0,22	0,90	0,00	50
Nitritos (mg/l)	0,004	0,002	0,010	0,001	0,2
Turbiedad (UTN)	0,96	0,70	5,08	0,27	100,0
Sulfatos (mg/l)	0	0,00	0	0	500
Amoniacó (mg/l)	0,02	0,01	0,05	0	1,0
Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/l)	0	0,00	0	0	<2
Sólidos Totales Disueltos (ppm o mg/l)	30	9,52	76	23	1000

Elaborado por: La investigadora

Análisis

El potencial de hidrógeno, de las aguas de la Laguna de Ozogóche, denota un promedio de 7,84 \pm 0,53 con un límite máximo de 8,97 y mínimo de 6,82. Para lo cual se establece una dispersión de datos oscilantes hallados dentro de los límites máximos permisibles (15).

El indicador de calidad temperatura establece un promedio de 14 \pm 1,07°C llegando a elevarse a los 16°C y disminuir hasta alcanzar 12°C, dependiendo del temporal.

Aspecto que indica aceptabilidad, puesto que, no traslimita los límites trazados por la norma (12-13°C) (15).

Para indicador que establece concentraciones de nitratos , no superiores a 50mg/l, en aguas destinada a consumo humano . Se establece aceptabilidad, evidenciando un promedio de 0,41 ±0,22 mg/l con concentraciones máximas de 0,90mg/l y mínimas nulas (0,00 mg/l) (15).

Las concentraciones nitritos en las aguas del acuífero arrojaron un promedio de 0,004±0,002 mg/l, logrando una máxima acumulación de 0,010mg/l y mínima de 0,001mg/l. Valores muy por debajo del límite trazado por la normativa (15).

Los valores tras análisis deTurbiedad en UTN, cuantificaron un promedio de 0,96 ±0,70 en las aguas del efluente,descendieron a 0.27 y se elevaron hasta llegar a 5,08. Resultados aceptables de acuerdo al límite máximo permisible de la norma (15).

La nula concentración de sulfatos (0ppm) evidencian aceptabilidad en cuanto al criterio, consumo humano y uso domestrico, de la normativa TULSMA (15).

Las cantidades de amoniaco promediaron 0,002 ±0,01mg/l ,con un límite máximo de 0,05 md/l y un mínimo nulo (0mg/dl), para asignarles aceptabilidad conforme al límite máximo mpermisible no superado de la normativa (15).

Las concentraciones nulas en la totalidad del indicador de DBO₅,se establecieron dentro del límite normado para adquirir aceptabilidad del recuso hídrico estudiado (15).

En cuanto a las concentraciones promediadas del parámetro sólidos totales disuelto; valores de 30 ±9,52 ppm, con un máximo de 76 ppm y un mínimo de 23 ppm, se establecieron dentro del límite máximo de la normativa (15).

Tabla 29: Estadísticas descriptivas de los indicadores de calidad hídrica frente a valores referenciales de la Direccion de General de Salud Ambiental.y la NTE INEN 1 108:2006.

PARÁMETRO	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTANDAR	MÁXIMO	MÍNIMO	LÍMITE MAXIMO PERMISIBLE DIGESA/ NTE INEN 1 108:2006
Alcalinidad (mg/dl)	47	7,42	78	28	200 - 500
Conductividad Electrica (µmho/cm)	57	16,99	157	44	1500
Coliformes totales (UFC/100ml)	271	296,71	1400	0	0
Aerobios mesófilos (UFC/ml)	32	28,03	100	3	100

Elaborado por: La investigadora

Análisis

Los valores tras análisis de Alcalinidad dados en mg/dl , cuantificaron un promedio de $47 \pm 7,42$ en las aguas del efluente, descendieron a 28 y se elevaron hasta llegar a 78. Resultados aceptables de acuerdo al límite máximo permisible de la DIGESA (44).

Los niveles de conductividad eléctrica se establecieron en promedio de $57 \pm 16,99$ µmho/cm con un límite máximo de 157 µmho/cm y mínimo de 44 µmho/cm; designándoles aceptabilidad dentro de los límites trazados por la DIGESA (44).

Finalmenet los promedios calculados a partir de los valores resultantes, tras contaje bacteriano, evaluados en relación al límite máximo permisible, denotaron : contajes de Coliformes Totales superiores a lo requerido por la DIGESA, $271 \pm 296,71$ UFC/100ml con una concentración máxima de 1400 UFC/100ml y mínima de 0 UFC/100ml, considerados inaceptables. y contaje respectivo de Aerobios Mesófilos Totales, aceptables de acuerdo a lo dispuesto por la NTE INEN 1 108:2006, 32

$\pm 28,03$ UFC/ml con concentraciones máximas de 100 UFC/ml y mínimas de 3 UFC/ml (44),(45).

3.1.1. Discusión de los resultados

La contaminación hídrica es un problema que día a día se hace más común en nuestra población; por ello la implementación de leyes constitucionales buscan garantizar la sostenibilidad y el buen vivir, reconociendo el derecho de sus habitantes de cohabitar en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, Sumak Kawsay (15). Partiendo de este punto, los hallazgos obtenidos en este proyecto dieron apertura a la aplicación de normas descritas por: el Texto Unificado de Legislación Secundaria, la Dirección de Salud Ambiental y la NTE INEN 1 108:2006; estableciéndolas como pie de apoyo en sumatoria al cálculo de Índice de Calidad de Agua, para darle mayor validez al estudio.

Aspecto que guarda relación con la investigación que sostiene Recalde et al. (2010), al señalar la aplicación de matrices comparativas para identificar los resultados del sistema lacustre, mediante la utilización del ICA como herramienta de cálculo. Refiriendo también al TULSMA como normativa de comparación. Concluyendo con esto que el análisis de calidad de aguas general ICA no proporciona la información completa, debido a que no puede evaluar, por sí solo, todos aquellos factores fuera de control (ambientales) que pudieran presentarse entre periodos de muestreo alterando los resultados finales (46). Cabe mencionar que la Laguna de Ozogоче no se incluyó dentro de dicho análisis retrospectivo.

El estado climatológico constituyó uno de los factores ambientales de gran importancia en el estudio de calidad hídrica, provado por más de una ocasión a través de la elevación en las concentraciones de parámetros fisicoquímicos, tales como: sólidos totales disueltos, turbiedad e inclusive conductividad eléctrica; datos que concuerdan con los resultados obtenidos por Coello et al. (2013), en los que se evidencian picos máximos de STD con correspondiente aumento de conductividad eléctrica en los meses de baja precipitación (verano), a consecuencia de la disminución del caudal del Río Pichahuiña debido a la sequía. Por otro lado se

comprueba además, la relación directamente proporcional entre concentraciones de nitratos y nitritos con la ejecución de actividades antrópicas .

En lo que respecta a la interpretación de bacterias, más específicamente hablando de Coliformes Totales ,en el presente trabajo resultó imperante la aplicación de procesos metodológicos (baterías bioquímicas) utilizados para identificación de género y especie tanto de bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae como aquellas que al no pertenecer son poco consideradas, pasando por inapercibidas .Tal y como prueba Rios et al . (2017), en su estudio compilativo de patógenos indicadores microbiológicos de calidad de agua para consumo humano; en el que menciona la utilidad de identificar al género *Pseudomona* (no Enterobacteriaceae) y *Proteus* (Enterobacteriaceae), dada su capacidad poco conocida para inhibir Coliformes Totales. Concluyendo que existe la probabilidad de que las cepas de *Proteus vulgaris*, presentes en la aguas de la Laguna de Ozogoche, hayan inhibido en cierta proporción la multiplicación de Coliformes Totales.

Se ha demostrado la presencia de bacterias patógenas en las aguas de la Laguna de Ozogoche. Empero, eso no la convierte en una fuente de mala calidad hídrica en criterio de consumo humano y uso doméstico. En vista de que, no se considera que todas las bacterias patógenas transmitidas por agua tiene igual significado para la salud; aspecto que concuerda con el estudio realizado por Aurazo (2015), por lo tanto se evidencia que la presencia de algunas representan un verdadero riesgo, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella*, *Yersinia entero colítica*, entre otras, haciéndose prioritaria su eliminación debido a que su ingestión podría desembocar en una epidemia con graves consecuencias para la salud poblacional (47). Otras en cambio, como las halladas en las aguas del acuífero en cuestión, correspondientes a Enterobacterias que habitan el intestino de mamíferos y se pueden presentar como saprófitos en el ambiente, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Proteus* son de tipo oportunistas pudiendo causar enfermedades en muy raras ocasiones. Es decir, causan daño en individuos en situaciones de riesgo como: ancianos, pacientes que reciben terapias que disminuyen las defensas, inmunodeprimidos y portadores de VIH; *Pseudomona* es una de las ejemplares de la familia no Enterobacteriaceae patógena oportunista, no obstante, a diferencia de las otras pueden multiplicarse en el aguas tratadas ya que tienen resistencia entre leve y moderada al cloro.

3.2. Hipótesis

3.2.1. Hipótesis Nula

La Laguna de Ozogoche, por su caracterización fisicoquímicas y bacteriológica, no cuenta con un recurso hídrico de calidad para ser considerada apta para consumo humano y aprovechamiento doméstico

3.2.2. Hipótesis Alternativa

La Laguna de Ozogoche, por su caracterización fisicoquímicas y bacteriológica favorable, cuenta con un recurso hídrico de calidad para ser considerada apta para consumo humano y aprovechamiento doméstico.

3.2.3. Verificación de la hipótesis

Para la verificación de la hipótesis, la presente investigación se valió de los resultados dados tras análisis de dos tipos de indicadores de calidad hídrica, físicoquímicos y bacteriológicos. Mediante el ingreso de cada uno de sus promedios al Software (NSF) (48), establecido para la determinación del Índice de Calidad de Agua (ICA), se pudo designar un estado hídrico libre de contaminación en un rango de 81-100; teniendo como resultado un ICA de 82. Por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, tras determinar que la Laguna de Ozogoche, por su caracterización fisicoquímicas y bacteriológica favorable, cuenta con un recurso hídrico de calidad para ser considerada apta para consumo humano y aprovechamiento doméstico. Hecho que también se corrobora con los resultados expuestos en los análisis paramétricos donde se muestra la aceptación de la normativa correspondiente, cuyos límites máximos permisibles no fueron translimitados en casi su totalidad. Como aporte investigativo se contó con información bibliografía para sustentar una calidad hídrica aceptable en base al análisis e identificación bacteriana.

Tabla 30: Resultados de los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos frente al Índice de Calidad General de las aguas de la Laguna de Ozogoche.

PARÁMETROS	DATOS OBTENIDOS	ICA DE PARÁMETROS
Coliformes totales UFC/100ml	271	21
Potencial de hidrogeno (pH)	7.84	84
Conductividad eléctrica	57	100
Sólidos Totales Disueltos (ppm o mg/l)	30	100
Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/l)	0	100
Nitratos (mg/l)	0.4	100
Turbiedad (UTN)	0.98	100
Alcalinidad (mg/l)	47	51
Amoniac (mg/l)	0.02	100

Elaborado por: La investigadora

Tabla 31: Criterios Generales del Índice de Calidad del Agua (ICA).

ICA GENERAL = 82

ICA	CRITERIO GENERAL
81-100	No Contaminado
71-80	Aceptable
51-70	Poco Contaminado
31-50	Contaminado
0-30	Excesivamente contaminado

Elaborado por: La investigadora.

CAPÍTULO IV

4.1. Conclusiones

- A través de la pesquisa orientada hacia el grupo de lagunas de la Zona Central del Ecuador se hizo posible caracterizar fisicoquímica y bacteriológicamente las aguas de la Laguna de Ozogoché; misma que a pesar de servir como fuente de abastecimiento hídrico para la realización de actividades socioeconómicas entre pobladores y turistas, no ha conseguido verse alterada significativamente. Dicha aseveración está respaldada por valores promediados, obtenidos tras análisis de 13 indicadores de calidad, hallados dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo a cada una de las normas establecidas; en criterio de calidad de aguas con fines de consumo humano y uso doméstico. A esto se le suma la valoración ICA generalizada, que la califica con una puntuación de 82 en rango de aceptabilidad de entre 81-100, más el aporte bibliográfico para describirla como fuente libre de contaminación. Es decir, apta para consumo y uso doméstico previa desinfección convencional.
- En el presente estudio se llevó a cabo el análisis de un total de 11 parámetros fisicoquímicos a los que primeramente se les aplicó la prueba del ANOVA, sin evidenciar diferencias estadísticamente significativas entre grupos o criterios. Dada la homocedasticidad en los resultados se consideró factible la promediación de cada indicador por individual, mostrando concentraciones típicas de aguas dulces de superficie durante todo el análisis. Por lo cual, se logra demostrar la final aceptación del recurso hídrico en base a la descripción estadística favorable de cada uno de ellos, previamente comparada con los límites máximos permisibles normados.
- El adecuado estado ecológico de la Laguna de Ozogoché, se vio determinado por la presencia o ausencia de bacterias de importancia sanitaria. Al igual que los parámetros fisicoquímicos los resultados bacterianos, tras conteo de colonias a

partir de placas 3M™ Pterifilm™, no denotaron diferencia estadísticamente significativa; aspecto que permitió su promediación y posterior comparación estadística descriptiva con los valores impuestos por las normas sugeridas. El conteo de Coliformes Totales, superior a lo requerido por la DIGESA (OUFC/ml), marcó inaceptabilidad en contraposición a lo valorado en el conteo respectivo de Aerobios Mesófilos Totales, frente a lo dispuesto por la NTE INEN 1 108:2006. Sin embargo, debido a la ausencia notoria de *Echerichia coli*, considerado como único coliforme fecal de importancia sanitaria, se dispone de aporte bibliográfico para respaldar la aceptabilidad de la fuente a pesar de contener 6 diferentes especies bacterianas, patógenas oportunistas de la familia *Enterobacteriaceae*, que muy rara vez podrían ocasionar daños al consumidor. De todos modos, se insiste en el aprovechamiento de la fuente hídrica, previa desinfección convencional.

- Para establecer el grado de susceptibilidad bacteriana, de las cepas identificadas, se hizo necesaria la utilización de la información expuesta por la Clinical and Laboratory Standards Institute 2019; iniciando por la selección de los antibióticos, sugeridos por la misma, a fin de tratar las especies bacterianas de la familia Enterobacteriaceae abordadas en este estudio. La interpretación de los halos de inhibición atendieron el punto de corte respectivo, denotando sensibilidad a la gran mayoría de antibióticos aplicados en cada especie. Es decir que, cinco de las seis cepas (*Klebsiella ozaenae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia marcescens* y *Proteus vulgaris*) mostraron comportamientos predictivos; evidenciando únicamente resistencia intrínseca (RN) antes comprobada y usada como control de calidad en la correcta identificación de sus especie. Los antibióticos a los que fueron sensibles podrían ser usados como tratamiento clínico, en caso de ser necesario. En cuanto a las cepas de *Enterobacter aerógenes*, al no encontrarse con información sugestiva de resistencia natural, se deduce la eficacia en su eliminación con la aplicación de todos los antibióticos expuesto a excepción de AMC y CXM. Cabe descartar la posible resistencia extrínseca, adquirida por transferencia horizontal de genes, por parte de las bacterias mencionadas.

4.2. Recomendaciones

- A pesar del resultado satisfactorio, obtenido por la investigación en cuestión, es recomendable darle al agua obtenida de la laguna de Ozogoche una ligera purificación antes de ser consumida o usada para preparar alimentos. La aplicación de cloro sería una forma fácil y sencilla.
- Es recomendable implantar formas de monitoreo para dar seguimiento en la calidad hídrica del acuífero, ya que, a pesar del plan dado por el Ministerio del Medio Ambiente a través del Parque Nacional Sangay; para evitar su contaminación, se sabe de factores diversos no controlables, ambientales, que podrían alterar la calidad hídrica de sus aguas esporádicamente consumidas por pobladores aledaños y turistas.
- Se recomienda, elaborar planes de investigación acerca del tipo de alimentación que recibe ganado, de todo tipo, perteneciente a los pobladores. Puesto que con ello se puede descartar o evitar la aplicación de antibióticos por vía oral que ocasionen a largo plazo resistencia bacteriana horizontal tras contaminación por deposiciones fecales en las aguas de la laguna de Ozogoche.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarez M, Bouquet E, De Fez M. Manual de Técnicas de Microbiología Clínica. 2a.Edición. Guzman M, editor. Madrid: Editorial Garsi S.A.Madrid; 1990. 330 p. (7)
2. Cervantes-Zepeda AI, Cruz-Colín MR, Aguilar-Corona R, Castilla-Hernández P, Meraz-Rodríguez M. Caracterización físicoquímica y microbiológica del agua tratada en un reactor UASB escala piloto. Rev Mex Ing Qum. 2011;10(1):67–77. (46)
3. Institute C and LS (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Estados Unidos; 2019.(43)

LINKOGRAFÍA

4. Alós J-I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2015;33(10):692–9. Available from: <http://twinkl.hub.tw/6971/bb9e4f5c19ffd77fb6064cbc2ffac854/10.1016@j.eimc.2014.10.004.pdf#view=FitH> Mostrar en carpeta.(26)
5. Apella M, Araujo P. Microbiología de agua. In: Microbiología del agua, conceptos básicos [Internet]. Argentina: Solar Safe Water; 2008. p. 33–50. Available from: https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf.(20)
6. Aurazo de Zumaeta M. Manual para análisis básicos de calidad del agua de bebida. Cent Panam Ing Sanit y Ciencias del Ambient [Internet]. 2004;1–147. Available from: <http://www.cepis.ops-oms.org>.(47)
7. Ayora M. Tema: Análisis De Aguas [Internet]. Departamento de Química Física y Analítica Universidad de Jaén. Universidad de Jaén; 2010. Available from: http://www4.ujaen.es/~mjayora/docencia_archivos/Quimica_analitica_ambiental/tema_10.pdf.(18)
8. Barrero Cuevas L. Microbiología clínica. In: Editorial Síntesis S., editor.

- Microbiología Clínica [Internet]. Única edic. España-Madrid; 2016. p. 21. Available from: <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>.(40)
9. Benavides H. Propuesta De Guía De Aplicación De Técnicas De Microbiología (Bacterias Y Hongos) Para Ser Utilizado En Microbiología General. [Internet]. Universidad de el Salvador; 2007. Available from: <http://ri.ues.edu.sv/4768/1/16100029.pdf>.(33)
 10. Benavides R. “Caracterización de Enterobacterias en *Cavia porcellus* en Huachi Grande” [Internet]. Universidad Técnica de Ambato; 2018. Available from: http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27022/1/Tesis_114_Medicina_Veterinaria_y_Zootecnia_-CD_544.pdf.(38)
 11. Castro M, Almeida J, Ferrer J, Díaz D. Indicadores de la calidad del agua : evolución y tendencias a nivel global. *Ing Ambient* [Internet]. 2014;10:111–24. Available from: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/in/article/download/811/770/>.(14)
 12. Center 3M. Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes [Internet]. Vol. 3, Microbiology Products. 2008. p. 1–6. Available from: <https://multimedia.3m.com/mws/media/4449500/3m-petriefilm-e-coli-coliform-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf>0Ahttp://multimedia.3m.com/mws/media/4449500/3m-petriefilm-e-coli-coliform-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf.(36)
 13. Coello DF. Plan de conservación para las lagunas de cubillín y magtayán en el parque nacional sangay [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2009. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/706/1/33T0059.pdf>. (3)
 14. Coello JR, Ormaza RM, Recalde CG, Rios AC. Aplicación del ICA-NSF para determinar la calidad del agua de los ríos Ozogoche , Pichahuiña y Pomacocho- Parque Nacional Sangay-Ecuador. *Revista del Instituto de Investigación RIIGEO* [Internet]. 2013 Jun;15(February 2011):1–6. Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/11281/10118>.(8)
 15. Conca B. Funcionamiento Neuropsicológico de niños escolares infectados verticalmente por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) en la región metropolitana. Universidad de Chile; 2010.(48)

16. Coraspe H, Tejera S. Procedimiento para la toma de muestras de suelos [Internet]. Fonaiap. 2008. Available from: https://www.celec.gob.ec/transelectric/images/stories/baners_home/EIA/cap42_lt_santo_domingo_esmeraldas.pdf.(28)
17. Dirección General de Salud Ambiental. Parámetros Organolépticos Y Físico - Químico [Internet]. Digesa- Gesta Agua. Lima; 2017. Available from: http://www.digesa.minsa.gob.pe/DEPA/informes_tecnicos/GRUPO_DE_USO_1.pdf.(44)
18. Dirección General de Salud Ambiental. Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano [Internet]. Lima, Perú; 2011. Available from: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Reglamento_Calidad_Agua_D.S_N°031-2010-SA.pdf.(16)
19. Fernandez A. La actuación pública sobre el agua dulce en el contexto mundial [Internet]. Madrid; 2015. Available from: https://huespedes.cica.es/gimadus/16/07_articulo_agua.htm. (1)
20. Gallo L, Domingo S, Nicksch M. Protocolo de Muestreo, Transporte y Conservación de Muestras de Agua con Fines Múltiples (consumo humano, abrevado animal y riego) [Internet]. Argentina; 2011. Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/agua_bebida/107-Protocolo_Aguas_INTA.pdf.(31)
21. García L, Iannacone J. Pseudomonas Aeruginosa Un Indicador Complementario de la Calidad de Agua Potable: Análisis Bibliográfico a Nivel De Sudamérica. Biol [Internet]. 2014;12(1):133–52. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4755797>.(24)
22. INEN NTE. Agua potable. requisistos [Internet]. Nte Inen 1 108:2006-03, 1 108:2006 Ecuador; 2006 p. 10. Available from: http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/10608/8/Norma_Inen_Agua1108-2.pdf.(45)
23. INEN. NTE INEN 2169. Agua, calidad de agua, muestreo, manejo y conservacion de muestras [Internet]. NTE INEN 2 169:98 Ecuador; 2007 p. 25. Available from: <https://ia801903.us.archive.org/13/items/ec.nte.2169.1998/ec.nte.2169.1998.pdf>.(30)

24. Instituto de Toxicología de la Defensa. Protocolo De Toma De Muestras De Agua Residual [Internet]. 2016. Available from: http://www.defensa.gob.es/itoxdef/Galerias/documentacion/protocolos/ficheros/PROTOCOLO_DE_TOMA_DE_MUESTRAS_DE_AGUA_RESIDUAL_ver_2.pdf.(32)
25. José Tacuri OV. Control Microbiológico y Físico Químico del Agua Potable del Sistema de Abastecimiento del Cantón Santa Isabel [Internet]. Universidad de Cuenca. Universidad de Cuenca; 2012. Available from: dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2418/1/tq914.pdf.(25)
26. 3M Food Safety. Recuento de Aerobios AC Recomendaciones de uso [Internet]. 2017 [cited 2019 May 22]. p. 6. Available from: <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409674O/guia-interpretacin-petrfilm-aerobios.pdf>.(34)
27. Mendoza B. Caracterización ambiental del sistema lacustre ozogoché. Rev Prax [Internet]. 2011;(January 2017). Available from: https://www.researchgate.net/profile/Benito_Mendoza2/publication/312191783_CHARACTERIZACION_AMBIENTAL_DEL_SISTEMA_LACUSTRE_OZOGOCHE/links/5875512c08ae8fce49282266/CARACTERIZACION-AMBIENTAL-DEL-SISTEMA-LACUSTRE-OZOGOCHE.pdf. (5)
28. Minaya Vela RJ. Parámetros Físicos, Químicos, Microbiológicos para Determinar la Calidad del Agua en la Laguna Moronacocha, Época de Transición Creciente-Vaciante, Iquitos - Perú 2016 [Internet]. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2017. Available from: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4690/Reynaldo_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1.(19)
29. Ministerio del Ambiente del Ecuador. Reforma del Libro IX del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente. [Internet]. Registro oficial TULSMA 2015 p. 7–13. Available from: [http://gis.uazuay.edu.ec/ierse/links_doc_contaminantes/REGISTRO_OFICIAL_387 - AM 140.pdf](http://gis.uazuay.edu.ec/ierse/links_doc_contaminantes/REGISTRO_OFICIAL_387_-_AM_140.pdf).(15)
30. Murgueitio E, Powney EK. Caracterización fisicoquímica de las aguas de la laguna de Mapaguiña, provincia de Chimborazo. :8. Available from: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/9701/1/AC-GMA-ESPE->

048158.pdf. (6)

31. Orellana M. Ecolodge en las lagunas de ozogoché [Internet]. Espíritu Santo; 2017. Available from: <http://repositorio.uees.edu.ec/handle/123456789/1739>.(13)
32. Organización Mundial de la Salud (OMS). Monitoreo mundial de la calidad de agua.pdf. In: UNESCO/OMS, editor. Selección de lugares de monitoreo [Internet]. 2005. p. 36. Available from: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/scan/018591/018591-02.pdf>.(29)
33. Organización Mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable [Internet]. Tercera ed. 2006. 1-398 p. Available from: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf.(17)
34. Pachon D. Aislamiento, identificación y serotificación de enterobacterias del Género Salmonella [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana; 2009. Available from: <https://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis198.pdf>.(41)
35. Pérez-López E. Control de calidad en aguas para consumo humano en la región occidental de Costa Rica. Rev Tecnol en Marcha [Internet]. 2016;29(3):5–7. Available from: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v29n3/0379-3982-tem-29-03-00003.pdf>.(21)
36. Pezo WC, Calderón RV. “Estudio y análisis Físico-Químico y Bacteriológico, del cuerpo de agua del Lago Morona Cocha-Iquitos- Loreto ”. [Internet]. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.; 2016. Available from: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4855/Weyser_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y.(9)
37. Picazo J. Procedimientos en Microbiología Clínica [Internet]. Picazo J, editor. Vol. 11, Seimc. España-Madrid: Sociedad Española de Enfermedades infecciosas; 2000. 54 p. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.(42)
38. Pullés R, Pullés MR. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. CENIC Ciencias Biológicas [Internet]. 2014;45:25–36. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181230079005.pdf>.(23)
39. Ríos-tobón S, Agudelo-cadauid RM, Gutiérrez-builes LA. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano

- Pathogens and microbiological indicators of the quality of water for. 2017; Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnsp/v35n2/0120-386X-rfnsp-35-02-00236.pdf>. (4)
40. Rodríguez S., Asmundis C., Ayala M., Arzú O. Presencia de indicadores microbiológicos en agua para consumo humano en San Cosme (Corrientes , Argentina). Revista veterinaria [Internet]. 2018;29(1):1–4. Available from: <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/2779/2460>.(7)
 41. SAG M de A. Instructivo Técnico para recuento de microorganismos aerobios mesófilos mediante técnica petrifilm ® afnor 3m 01/01-09/89 [Internet]. Versión:01 Chile; p. 1–15. Available from: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/instructivo_tecnico_para_el_recuento_aerobios_mesofilos_petrifilm_afnor.pdf.(35)
 42. Schlegel HG. Microbiología General. In: Omega, editor. Microbiología General [Internet]. Nueva Edic. Barcelona; 1997. p. 669. Available from: <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microgeneral/wp-content/uploads/2017/02/10-anexo-MEDIOS-DE-CULTIVO.pdf>.(39)
 43. SEMARNAT. Agua. Inf la situación del medio Ambient en México [Internet]. 2012;258–316. Available from: http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/06_agua/cap6_1.html.(11)
 44. Serra MÁ. La resistencia antimicrobiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev Habanera Ciencias Médicas [Internet]. 2017;5(3):1–18. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011.(27)
 45. Universidad Politécnica de Cartagena; Análisis de Aguas [Internet] Available from: https://www.upct.es/~minaees/analisis_aguas.pdf.(22)

Citas bibliográficas, base de datos U.T.A

46. EBOOK CENTRAL.Brooks DB. Agua, manejo a nivel local [Internet]. Centro Int. ProQUEST , Ebook Central. Colombia: International Development Research Centre; 2004. 1-79 p. Available from: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/uta-ebooks/detail.action?docID=259182>. (2).
47. EBOOK CENTRAL.Pedro LA. Abastecimiento de agua potable: y disposición y eliminación de excretas [Internet]. Alfaomega. Nacional IP, editor. Impresa en Mexico; 309 p. Available from: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/utasp/reader.action?docID=3186921>. (10).
48. EBOOK CENTRAL.Velasco JL. Geografía del Ecuador: medio natural, población y organización del espacio. In: UASB-E CEN-, editor. Quito: Corporación Editora Nacional; 2014. p. 334. Available from: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/utasp/detail.action?docID=5102867&query=agua en el planeta#>. (12)

ANEXOS.

Anexo1. Resistencia intrínseca en la familia *Enterobacteriaceae*.

Appendix B. (Continued)

B1. *Enterobacteriaceae*

Antimicrobial Agent	Organism	Ampicillin	Amoxicillin-clavulanate	Ampicillin-sulbactam	Piperacillin	Ticarcillin	Cephalosporins I: Cefazolin, Cephalothin	Cephamycins: Cefoxitin, Cefotetan	Cephalosporin II: Cefuroxime	Imipenem	Tetracyclines	Tigecycline	Nitrofurantoin	Polymyxin B Colistin	Aminoglycosides	
Antimicrobial Agent	<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	R			R	R	R							
	<i>Citrobacter koseri</i> ,	R				R										
	<i>Citrobacter amalonaticus</i> group^a															
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex ^b	R	R	R			R	R								
	<i>Escherichia coli</i>	There is no intrinsic resistance to β -lactams in this organism.														
	<i>Escherichia hermannii</i>	R				R										
	<i>Hafnia alvei</i>	R	R	R			R	R								
	<i>Klebsiella</i> (formerly <i>Enterobacter</i>) <i>aerogenes</i>	R	R	R			R	R								
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .	R					R									
	<i>Klebsiella oxytoca</i>, <i>Klebsiella varicola</i>															
	<i>Morganella morganii</i>	R	R				R		R		^c		R	R		
	<i>Proteus mirabilis</i>	There is no intrinsic resistance to penicillins and cephalosporins in this organism.														
	<i>Proteus penneri</i>	R						R		R	^c		R	R	R	
	<i>Proteus vulgaris</i>	R						R		R	^c		R	R	R	
	<i>Providencia rettgeri</i>	R	R					R			^c		R	R	R	
	<i>Providencia stuartii</i>	R	R					R			^c		R	R	R	
<i>Raoultella</i> spp.^e	R					R									^d	

Anexo 2. Resolución y aprobación del tema de investigación, CD-P-20182794

CONSEJO DIRECTIVO

F.C.S.
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Ambato, 20 de septiembre de 2018.
Resolución CD-P-2018-2794

Doctor Mg.
Vicente Noriega Prieto
COORDINADOR
Carrera de Laboratorio Clínico
Escuela de Ciencias de la Salud
Psicología

De mi consideración:

El H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud, en sesión ordinaria de fecha 19 de septiembre de 2018, en conocimiento del memorando CTA/CI-FCS-2018-0687M, solicitando se admita la modalidad de titulación mediante **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN** de la señorita **HISCAMA FLORES DENIX ALEXANDRA**, estudiante del ciclo septiembre 2018 - febrero 2019, al respecto:

CONSEJO DIRECTIVO, RESUELVE:

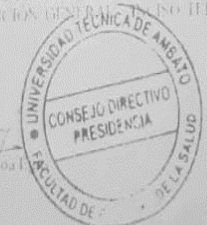
- AUTORIZAR A LA SEÑORITA HISCAMA FLORES DENIX ALEXANDRA ESTE DIANTE DEL CICLO SEPTIEMBRE 2018 - FEBRERO 2019, OPTAR POR LA MODALIDAD DE GRADUACIÓN **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN** CON EL TEMA "CARACTERIZACIÓN FISIQUÍMICA Y BACTERIOLOGICA DE LAS AGUAS DE LA LAGUNA DE OZOGUICHE DE LA ZONA CENTRAL DEL ECUADOR", PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO.
- DESIGNAR COMO TUTOR DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN, AL DR. MG. EDISON ARTURO GALÁRRAGA PÉREZ, QUIEN DEBERÁ PRESENTAR UN INFORME BIMENSUAL DE SU AVANCE Y UNO AL FINAL DE CONFORMIDAD CON EL ART. 14 DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO TERMINAL DE TERCER NIVEL DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.
- AUTORIZAR A LA SEÑORITA ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO A LA ELABORACIÓN DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN EN LOS PLAZOS ESTABLECIDOS EN LA DISPOSICIÓN GENERAL NÚMERO CINCO (TERCERO Y CUARTO) DEL REGLAMENTO DE REGIMEN ACADÉMICO.


Atentamente,

Dr. Mg. Marcela Ochoa
Presidenta

Anexo
cc

memorando CTA/CI-FCS-2018-0687M documentación correspondiente
Carpeta estudiantil
DR. MG. EDISON ARTURO GALÁRRAGA PÉREZ Tutor



 UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE AMBATO C. Ila. Ingaburu Teléfono: 051 3736168 Ext. 5911 www.uta.edu.ec

Anexo 3. Permiso del Ministerio del Medio Ambiente de la República del Ecuador.

MINISTERIO DEL AMBIENTE

Oficio Nro. MAE-DPACH-2018-2342-O
Riobamba, 03 de diciembre de 2018

Asunto: RESPUESTA: Autorización de tema de trabajo .

Denix Alexandra Tiscama Flores
En su Despacho

De mi consideración:

En respuesta al Documento No. MAE-DPACH-2018-2572-E, donde solicita la emisión de la autorización de investigación científica con el tema: "Caracterización físico química y bacteriológica de las aguas de la Laguna de Ozogoché de la zona central del Ecuador", para optar por el título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Me permito informar que una vez que se verificó que el proyecto cumple con lo establecido en el artículo 8 del libro IV del TULSMA y ha cumplido con el pago establecido en el Libro IX, se elaboró la Autorización de Investigación científica, Nro. 26-IC-DPACH-MAE-2018, con el tema: "Caracterización físico química y bacteriológica de las aguas de la Laguna de Ozogoché de la zona central del Ecuador". La misma que adjunto para su lectura y conocimiento de las obligaciones que adquiere en calidad de investigadora.

Favor tomar en cuenta las fechas de vigencia y entrega de informe final.

Se recomienda poner en conocimiento con copia del presente proyecto de investigación a SENAGUA, para su posterior pronunciamiento.

Cabe recalcar que esta solicitud que es atendida en base al Memorando Nro. MAE-VMA-2018-0095-M, de fecha 18/05/2018, el mismo que menciona "(...) El MAE continuará otorgando los permisos de colecta, guías de movilidad de recursos biológicos y demás permisos o autorizaciones relacionadas con manejo ex situ de recursos biológicos (...)".

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Documento firmado electrónicamente
Ing. Marcelo Patricio Pino Cáceres
DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE CHIMBORAZO, ENCARGADO

Referencias:
- MAE-DPACH-2018-2572-E

Anexos:
- img1760287081001542642166.pdf
- nro_026-ic-dpach-mae-2018-1.pdf


Copia:
Señor Ingeniero
Alberto Paul Castelo Castelo
Responsable de la Unidad de Patrimonio Natural
Señor Licenciado

Dirección Provincial de Chimborazo • Código Postal: 060103 / Riobamba - Ecuador • Teléfono: (593 3) 2610029
Dirección: Av. 9 de Octubre y Duchicela, Quinta Macaji

* Documento firmado electrónicamente por Oespar

1/2

Continuación anexo 3. Permiso del Ministerio del Ambiente de la República del Ecuador.

AMBIENTE 


SE AUTORIZA EL ESTUDIO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS CON EL PROPOSITO DE:
Caracterizar fisicoquímica y bacteriológicamente las aguas de la Laguna de Cubillin del Complejo lacustre Ozogoché y determinar la presencia de bacterias de importancia sanitaria en las muestras obtenidas.

SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA INVESTIGACIÓN:

Materiales y equipos	
GPS	Envases estériles
Termómetro	Gel pack refrigerante
Cooler	Estufa
Autoclave	Agares
Placas petrifilm	Material de Laboratorio
Material de Oficina	Equipo de protección personal

OBLIGACIONES Y CONDICIONES PARA LA VIGENCIA DE ESTA AUTORIZACIÓN:

1. LAS MUESTRAS PRODUCTO DE ESTA INVESTIGACIÓN DEBERAN SER CATALOGADAS POR INDIVIDUO O LOTES.
2. ESTA AUTORIZACIÓN FACULTA LA COLECCIÓN, MANIPULACIÓN DE ESPECIMENES VIVOS, MISMOS QUE NO PODRÁN SER UTILIZADOS COMO MATERIAL PARENTAL PARA MANEJO COMERCIAL.
3. ESTA AUTORIZACIÓN ES EMITIDA BAJO LOS TÉRMINOS EXPRESADOS EN LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN, EN TAL SENTIDO HABILITA EL MANEJO DE FLORA QUE HAYAN ESTADO EXPRESADOS EN LA PROPUESTA TÉCNICA TANTO EN TAXONES COMO EN NUMERO DE INDIVIDUOS.
4. LOS INVESTIGADORES DEBERÁN REALIZAR SUS INTERVENCIONES EN CAMPO BAJO UN MANEJO RESPONSABLE Y ÉTICO CON LOS ESPECIMENES ASÍ COMO CON LOS EQUIPOS Y MATERIALES UTILIZADOS DURANTE LA INVESTIGACIÓN.
5. PARA EL INGRESO A AREAS DE PROPIEDAD PRIVADA LOS INVESTIGADORES DEBERAN CONTAR CON LA AUTORIZACIÓN DEL RESPECTIVO PROPIETARIO.
6. NO SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE ARMAS DE FUEGO, EXPLOSIVOS O SUBSTANCIAS VENENOSAS COMO METODOLOGÍA DE ESTA INVESTIGACION.
7. ESTA AUTORIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA PODRÁ SER RENOVADA ANUALMENTE, PREVIO AL CUMPLIMIENTO DE LAS OBLIGACIONES CONTRAIDAS POR EL INVESTIGADOR, ENTREGA Y APROBACIÓN DE INFORMES PARCIALES O FINALES EN LAS FECHAS INDICADAS.
8. SE SOLICITARÁ PRÓRROGA QUINCE DÍAS ANTES DE LA FECHA DE VENCIMIENTO QUE INDICA ESTE DOCUMENTO.
9. TODO USO INDEBIDO DE ESTA AUTORIZACIÓN, ASÍ COMO EL INCUMPLIMIENTO DE ASPECTOS LEGALES, ADMINISTRATIVOS O TÉCNICOS ESTABLECIDOS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS DE ACUERDO A LA CODIFICACIÓN A LA LEY FORESTAL Y DE CONSERVACIÓN DE AREAS NATURALES Y VIDA SILVESTRE Y AL TEXTO UNIFICADO DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIA, Y DEMAS NORMATIVA PERTINENTE.
10. EL INCUMPLIMIENTO DE CUALQUIERA DE ESTAS DISPOSICIONES ASÍ COMO EL USO INDEBIDO DE ESTE DOCUMENTO, O EL INCUMPLIMIENTO DE LAS DISPOSICIONES LEGALES, ADMINISTRATIVAS O TÉCNICAS ESTABLECIDAS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS CONFORME A LA NORMATIVA LEGAL VIGENTE Y CON LA SUSPENSIÓN INMEDIATA DE LA PRESENTE AUTORIZACIÓN.
11. TASA POR AUTORIZACIÓN: 20 VEINTE DÓLARES DEPOSITADOS EN BANECUADOR CUENTA 0010000785, CON REFERENCIA 679993039 RECIBO DE CAJA 1621.



Ministerio del Ambiente

DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE CHIMBORAZO

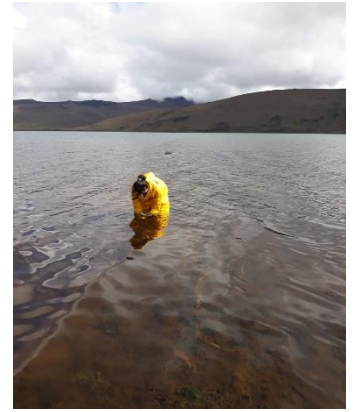
Ing. Marcelo Pino Cáceres
DIRECTOR PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE CHIMBORAZO (E)

MA: 01/12/2018
AC: 01/12/2018

Dirección: Av. 9 de Octubre y Sacha, s/n, sector Macaqui - Ríofrío
Tel. (Fijo): 0647179
Teléfono: 071 2619129
Twitter: @DIAEChimborazo Facebook: MAE Chimborazo

Anexo 4. Fotografías

FOTOGRAFÍA 1,2 Y 3: RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LAS LAGUNA DE OZOGOICHE



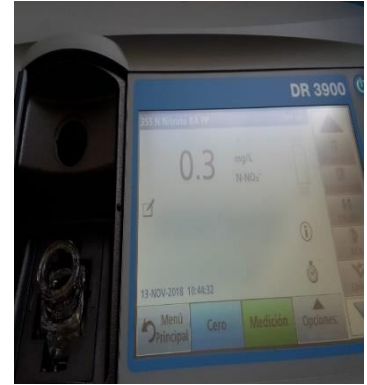
FOTOGRAFÍA 4, 5 Y 6: MEDICIÓN PARAMÉTRICA IN SITU



FOTOGRAFÍA 7,8 Y 9: ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS PARA TRANSPORTE.



FOTOGRAFÍA 10,11 Y 12: ANÁLISIS DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.



ANÁLISIS DE PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS

FOTOGRAFÍA 13: Siembra en placas PETRIFILM™ colonias



FOTOGRAFÍA 14: Contaje de colonias en UFC/ml



FOTOGRAFÍA 15: Selección de



FOTOGRAFÍA 16: Siembra en agar MacConkey. macroscópica



FOTOGRAFÍA 17: Incubación de bacterias



FOTOGRAFÍA 18: Observación



FOTOGRAFÍA 19: Siembra de Pruebas Bioquímicas.



FOTOGRAFÍA 20: incubación de Pruebas Bioquímicas



FOTOGRAFÍA 21 interpretación de bioquímicas



FOTOGRAFÍA 22: Siembra en medios de conservación



Elaborado por: Autora
Autora

FOTOGRAFÍA 23: Siembra en agar MacConkey

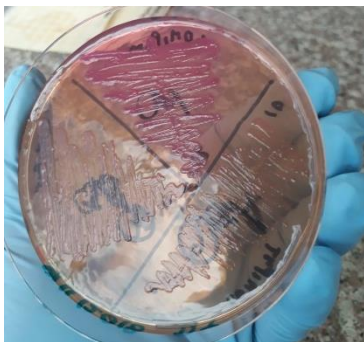


Elaborado por: Autora

FOTOGRAFÍA 24: Siembra en EMB y S.S. Agar



FOTOGRAFÍA 25, 26 Y 27: Visualización macroscópica de colonias en MacConkey, EMB y S.S. Agar.



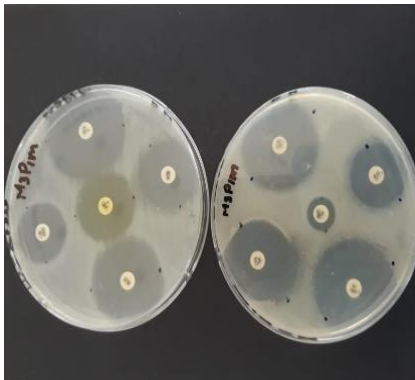
FOTOGRAFÍA 28: Suspensión de colonias y ajuste escala de McFarland.



FOTOGRAFÍA 29: Siembra y colocación de discos antibióticos.



FOTOGRAFÍA 30: Interpretación antibiograma.



FOTOGRAFÍA 31: Codificación de cepas para almacenamiento.

