

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA DE OCCIDENTE  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**



**TRABAJO DE GRADO  
ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS COMO INDICADORES  
DE LA CALIDAD DEL AGUA, EN EL RIO SAN ANTONIO, MUNICIPIO DE  
ATQUIZAYA, DEPARTAMENTO DE AHUACHAPÁN**

**PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PRESENTADO POR  
MANUEL ANÍBAL SOLÍS RODRÍGUEZ**

**DOCENTE ASESOR  
LICENCIADO JUAN ARNOLDO AMAYA**

**JULIO, 2021**

**SANTA ANA, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

AUTORIDADES



M.Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

RECTOR

DR. RAÚL ERNESTO AZCÚNAGA LÓPEZ

VICERRECTOR ACADÉMICO

ING. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL

SECRETARIO GENERAL

LICDO. LUIS ANTONIO MEJÍA LIPE

DEFENSOR DE LOS DERECHOS UNIVERSITARIOS

LICDO. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

FISCAL GENERAL

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA DE OCCIDENTE

AUTORIDADES



M.Ed. ROBERTO CARLOS SIGÜENZA CAMPOS

DECANO

M.Ed. RINA CLARIBEL BOLAÑOS DE ZOMETA

VICEDECANA

LICDO. JAIME ERNESTO SERMEÑO DE LA PEÑA

SECRETARIO

LICDO. CARLOS MAURICIO LINARES HERNÁNDEZ

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

## **Dedicatoria y agradecimientos**

Quiero expresar mi eterno agradecimiento con **Dios** todo poderoso, fue él quien me guio por el camino correcto y se manifestó en mi vida derramando las bendiciones necesarias para lograr alcanzar esta meta. Un triunfo que se lo dedico totalmente.

A mi padre **Manuel de Jesús Solís** que Dios lo tiene en el descanso eterno, quien siempre me apoyó para que no me faltara nada en mi trayectoria académica.

Mi madre **Rosa Melis Rodríguez** por su apoyo incondicional y que después de la ausencia física de mi padre, fue quien hizo posible que yo lograra este triunfo.

Mi Esposa **Jessika Guadalupe Valiente de Solís** por su comprensión, su apoyo, por tener las palabras de aliento en aquellos momentos en los que yo desmayaba, por motivarme a seguir y no darme por vencido.

Mis hijos: **Ximena María Solís Valiente y Cristofer Paúl Solís Valiente**, quienes son la inspiración diaria en mi vida, a ellos va dedicado este trabajo les estoy plenamente agradecido.

A mi gran amigo: **Roberto Carlos Aguirre** por demostrarme que los verdaderos amigos siempre están cuando más se necesitan.

A **Licenciada Ana Luisa Rodríguez de González (alcaldesa del municipio de Atiquizaya)** por confiar en mi cuando busqué apoyo en la alcaldía municipal.

A mi asesor de tesis **Lic. Juan Arnoldo Amaya** le agradezco por su apoyo técnico y por su amistad que fueron fundamentales en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al **Lic. Carlos Mauricio Linares Hernández (jefe del Depto. De Biología)** por todo el apoyo brindado. Vayan también mis agradecimientos a todo el personal Docente del Departamento de Biología por instruirme en el amplio terreno de las Ciencias Naturales.

## INDICE

RESUMEN .....	ix
INTRODUCCIÓN .....	x
CAPITULO I: PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	12
1.1 Revisión de literatura .....	12
1.1.1 Calidad del agua .....	12
1.1.2 Parámetros bacteriológicos .....	15
1.1.3 Legislación ambiental con énfasis en la calidad del agua .....	17
1.1.4 Característica de los microorganismos identificados .....	20
1.1.5 Especies importantes: .....	20
1.1.6 Contaminacion del agua de los ríos .....	23
CAPITULO II: MARCO METODOLÓGICO .....	29
2.1 Tipo de Investigación .....	29
2.2 Descripción del Área de estudio .....	30
2.3 Universo, Población y Muestra .....	30
2.4 Metodología .....	31
2.5 Sitios de muestreo y toma de muestras de agua: .....	31
2.6 Procedimiento del muestreo: .....	32
2.7 Preparación de cristalería y reactivos .....	32
2.8 Técnica de tubos múltiples .....	33

2.9	Prueba presuntiva .....	33
2.10	Prueba confirmativa .....	34
2.11	Aislamiento y diferenciación de colonias .....	34
2.12	Prueba bioquímica para identificación de bacterias. ....	35
CAPITULO III: ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....		36
3.1	Resultados de la aplicación del número más probable.....	36
3.2	Conteo de unidades formadoras de colonias .....	37
3.3	Organismos identificados por punto de muestra .....	45
CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		56
4.1	CONCLUSIONES .....	56
4.2	RECOMENDACIONES .....	57
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....		58
ANEXOS.....		61

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Límites para los parámetros de calidad para cuerpos de agua superficiales .....	19
Tabla 2.	Valores límites para los parámetros de la calidad del agua.....	24
Tabla 3.	Número más probable para serie de 3 tubos.....	25
Tabla 4.	Interpretación de colonias de bacterias según su color.....	26
Tabla 5.	Interpretación de resultados obtenidos en la prueba bioquímica.....	27
Tabla 6.	Rangos de calidad para parámetros del agua.....	28
Tabla 7.	Rangos para parámetros del agua .....	28
Tabla 8.	Parámetros de calidad de agua.....	28
Tabla 9.	Resultados de la aplicación del número más probable .....	36
Tabla 10.	Número de unidades formadoras de colonias .....	37
Tabla 11.	Número de unidades formadoras de colonias .....	40
Tabla 12.	Número de unidades formadoras de colonias .....	43
Tabla 13.	Resultados obtenidos de la aplicación de la prueba bioquímica.....	45
Tabla 14.	Resultados obtenidos de la aplicación de la prueba bioquímica.....	48
Tabla 15.	Resultados obtenidos de la aplicación de la prueba bioquímica.....	51

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Mapa del Municipio de Atiquizaya .....	30
Figura 2.	Mapa del Rio San Antonio.....	32
Figura 3.	determina el Número más probable .....	34
Figura 4.	Valores de Unidades Formadoras de Colonias .....	39
Figura 5.	Valores de Unidades Formadoras de Colonias .....	42
Figura 6.	Valores de Unidades Formadoras de Colonias .....	44
Figura 7.	Especies encontradas con Agar triple iron sugar .....	55



## RESUMEN

En esta investigación, se hizo un análisis bacteriológico del agua del río San Antonio del Municipio de Atiquizaya, Departamento de Ahuachapán con el fin de determinar la calidad del agua. Se consideraron parámetros bacteriológicos, enfocados en un grupo especial de bacterias llamadas coliformes totales y fecales, pertenecientes a la familia de las enterobacterias.

La investigación, se realizó durante 5 meses, dando inicio en el mes de julio y finalizando en el mes de noviembre de 2019. Tuvo dos etapas: una de campo, que consistió en la recolecta de las muestras de agua en tres puntos del río y otra de laboratorio, llevada a cabo en los laboratorios del Departamento de Biología, de la Facultad Multidisciplinaria de Occidente, Universidad de El Salvador, ubicado en la ciudad de Santa Ana.

La implementación de pruebas microbiológicas permitió determinar la presencia de bacterias como: *Escherichia coli*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*. De acuerdo con estas pruebas de laboratorio, el agua del río San Antonio se le identificó 5 géneros de coliformes y 14 especies diferentes. El agua del río San Antonio alcanza el valor máximo en la técnica del número más probable que son  $\geq 2400$  microorganismos por 100 ml, además las unidades formadoras de colonias (UFC) resultaron estar por encima de las 1000, debido a estos resultados comparados con los valores establecidos como valores límites en el Reglamento Especial De Normas Técnicas De Calidad Ambiental y al valor máximo en la técnica del número más probable, se puede afirmar que el agua del río San Antonio es de mala calidad.

## INTRODUCCIÓN

El personal de la Alcaldía Municipal ha realizado actividades de recolección de desechos sólidos en el río mencionado, pero la Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados (ANDA) y otras instituciones gubernamentales, no han apoyado a la municipalidad con el manejo de las aguas residuales y aguas negras. Esto hace que el río se deteriore y la calidad del agua se vea afectada

En esta investigación, se muestra la información obtenida del Análisis de los Parámetros Bacteriológicos como Indicadores de la Calidad del Agua, en el Río San Antonio, del Municipio de Atiquizaya, Departamento de Ahuachapán, en la que se determinó la calidad del agua del río. Para el desarrollo de la misma, se contó con el Apoyo de la Alcaldía Municipal de Atiquizaya, la cual proporcionó los recursos necesarios para la investigación del tema.

Los parámetros bacteriológicos muestran con relación a lo encontrado, información de suma importancia, debido a que la cantidad de coliformes sobrepasan los valores permisibles, por lo que, utilizando los valores obtenidos en las pruebas de laboratorio, se compararon con los valores establecidos como permisibles por el MARN<sup>1</sup>, en el Reglamento especial de aguas residuales; también con los establecidos en la normativa de aguas residuales descargada a cuerpos receptores.

Se determinaron los tres puntos de muestreo, para ello se tomó en cuenta el fácil acceso al río y el nivel de seguridad de cada área, se realizaron tres muestreos. El traslado de la muestra se hizo a través de una hielera, cada muestra se rotulo con la fecha, la hora y el punto de muestra. los meses muestreados fueron: Julio, septiembre, noviembre de 2019

Para conocer el nivel de contaminación del río San Antonio se empleó en el laboratorio la técnica del número más probable que consta de tres partes, las cuales son: Prueba presuntiva, Prueba confirmativa y Prueba completa.

Los resultados de esta investigación impulsarán medidas de higiene, conciencia y de salubridad, tanto con las autoridades competentes, como para todos los que habitan cerca o

---

<sup>1</sup> Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales

frecuentan el río San Antonio y que hacen uso de su agua, ya sea para consumo, para riego de cultivos o para recreación, haciendo uso del río para bañarse, estas actividades antropogénicas pueden dar lugar a la ingesta de microorganismos provenientes de la materia fecal y provocando enfermedades gastrointestinales u otro tipo de infección que pueda provocar daños severos en los seres humanos.

# CAPITULO I: PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1.1 Revisión de literatura

### 1.1.1 Calidad del agua

El agua es el líquido de suma importancia para los seres vivos, puesto que sin beber agua un animal o una planta no podría sobrevivir, pero el agua debe poseer ciertas condiciones para ser consumida y esto determina su calidad, estas condiciones pueden dividirse en factores químicos, físicos y biológicos. El Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2009), afirma que "el término calidad de agua, se refiere a las propiedades físicas, químicas, biológicas y organolépticas del agua para satisfacer los requerimientos de un determinado uso. (Pág. 2)" El mismo manifiesta (2017) "que Las aguas superficiales y subterráneas sufren presiones de los vertidos de aguas residuales de tipo ordinario y especial. (pag.32) "

Según Chapman (citado por García & Godínez, 2009) establece que:

El agua de forma natural cuenta con factores químicos, físicos y biológicos que determinan su calidad la calidad, esta es definida como: "Una lista de concentraciones, especificaciones y particiones físicas de sustancias orgánicas e inorgánicas, así como, la composición y estado de la biota acuática encontrada en el cuerpo de agua. Esta calidad muestra la variación temporal y espacial de los factores tanto internos como externos de los cuerpos de agua. (pág. 5)

Esto quiere decir que un cuerpo de agua posee factores orgánicos e inorgánicos que es común que se encuentren en ella. de acuerdo con Aguilar (citado por Ruano, 2016):

El término de calidad de agua está estrechamente ligado con aquellas características físicas químicas y biológicas, por medio de las cuales puede evaluarse si el agua es apta o no para el uso que se destine. (pág. 13)

El factor biológico del agua puede expresar la cantidad y variedad de organismo presentes en un cuerpo de agua, pero además puede manifestar la calidad del agua desde el punto de vista biológico, es decir que existen bacterias cuya presencia en ciertas concentraciones establecen una calidad mala del agua. Aguilar (citado por Ruano, 2016), establece que:

Los análisis bacteriológicos más comunes, determinan la presencia de bacterias que no son patógenas, pero que se encuentran normalmente en las heces humanas y de animales. Esto implica que, si estas bacterias están presentes en el agua, seguramente ésta, ha estado en contacto con materias fecales, y por lo tanto puede contener también otras bacterias que si son patógenas. Si estas bacterias no se encuentran, podemos tener plena confianza que el agua no ha sufrido contaminación desde el punto de vista bacteriológico. (pág. 13)

El buen estado de salud de una población está relacionado con la calidad del agua, es decir que los factores físicos, químicos y biológicos deben estar en concentraciones que los seres vivos puedan tolerar. Menéndez y Cardona, (2016) expresan que:

Cuando hablamos de calidad del agua nos referimos a la cantidad de gases, sales, partículas y contaminantes disueltos o en suspensión, así como la cantidad de bacterias o microorganismos que contiene. Por lo tanto, al referirnos a la calidad del agua se pretende señalar que por su composición física, química y biológica debe contribuir a mantener la comunidad de organismos que la utilizan y a proteger la salud pública. (Página 147)

El ser humano puede hacer distintos usos del agua, para cada uso existirán valores distintos que marcan el límite máximo el cual no deberá ser rebasado, de pasar esto la calidad del agua no será la adecuada, según el uso al cual este destinada, de acuerdo a Batram & Ballance (citado por García & Godínez, 2009):

La definición de calidad del agua se basa en el uso al que se destina, donde la suma de las características físicas, químicas y biológicas de las aguas superficiales (quebradas, ríos y lagos) y las subterráneas cumplan con los requerimientos establecidos para cada uso, como consumo humano, industrial, abrevaderos, agricultura. (Pag 5)

Al hablar de un valor máximo o límite máximo hace referencia a que existen valores que son permisibles debido a que estos valores no afectaran el uso al que se le dé al agua, El Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2007), establece que:

Los niveles permisibles de concentración son: Valores o parámetros que establecen el grado de concentración de contaminantes que pueden ser vertidos en una fuente, ducto o

chimenea, en lugares en donde se efectúa un monitoreo o control de los contaminantes durante el proceso de Producción o la realización de una actividad. (Página 14)

En el caso del Río San Antonio no existe un monitoreo permanente de parámetros químicos, físicos y biológicos, parámetros que son indicadores de la contaminación, por lo que no existe conocimiento alguno de los niveles de concentración de cada parámetro, es decir que no hay información sobre la presencia o ausencia de coliformes totales y fecales.

Según Alpizar citado por Arce (2011) Un curso de agua se considera contaminado cuando la composición o estado de sus aguas es directa o indirectamente modificado por las actividades del ser humano, en medida tal que disminuyen las posibilidades de uso para todos o algunos de aquellos fines a los podría servir en estado natural. (Pág. 35).

Una de las mayores fuentes de contaminación para un río, son las aguas negras, provenientes de los asentamientos más cercanos, debido a que estas llevan una gran cantidad de material orgánico que alteran la composición biológica del cuerpo de agua.

De acuerdo con Alfaro y Salas citado por Arce, (2011)

Se entiende por aguas negras a todas aquellas de origen urbano, las aguas residuales domésticas, que contienen altas concentraciones de microorganismos fecales, materia orgánica y compuestos de nitrógeno. Es decir, aquella procedente de fuentes tales como los hogares, hospitales, escuelas y los edificios comerciales que contienen residuos de alimentos, excrementos humanos, papel, jabón, detergentes, entre otros. (pág. 36)

Las urbanizaciones en muchos casos no cuentan con un tratamiento adecuado para los desechos y es por ello que las aguas residuales van a para directamente un cuerpo receptor de agua que este más inmediato, alterando la calidad del agua y deteriorando los ecosistemas acuáticos, además estos recursos ya no pueden ser utilizados debido a que han estado en contacto con microorganismos procedentes de la materia fecal. Según Yee-Batista citado por Larios-Meño, González Taranco, & Morales Olivares (2015) afirma que:

el 80% de la población latinoamericana vive en ciudades y una gran proporción en asentamientos próximos a fuentes contaminadas. La autora agrega que, siendo América Latina

una de las regiones más biodiversas del mundo y dueña de un tercio de las fuentes de agua del mundo, la contaminación del agua representa consecuencias ecológicas adversas. (pág. 12)

La contaminación de los cuerpos receptores de agua trae problemas de salubridad para las poblaciones que hacen uso de ellos, Vidaurre (2016) "afirma que el agua está directamente relacionada con la salud de la población, es por esto que es fundamental garantizar la disponibilidad y la calidad de agua para el desarrollo económico" (pág. 46)

### **1.1.2 Parámetros bacteriológicos**

Los parámetros bacteriológicos permiten analizar el estado biológico de un cuerpo receptor de agua para determinar la calidad de este y determinar si es viable para el ser humano. Para estudiar estos parámetros hay que tomar muestras de agua, para que sean sometidas a pruebas de laboratorio. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2006):

El análisis del agua de origen es particularmente importante cuando el agua no se somete a tratamiento. También resulta útil tras producirse averías en el proceso de tratamiento o como parte de la investigación de brotes de enfermedades transmitidas por el agua. La frecuencia de análisis dependerá del motivo por el que se realiza la toma de muestras. (pág. 68)

Los parámetros bacteriológicos a analizar en esta investigación son los "coliformes.". Tanto coliformes totales, como los fecales, son considerados indicadores de la calidad del agua, ya que indican contaminación, en el caso de los primeros, no se puede tener seguridad de su origen y en el caso de los fecales, al provenir del intestino se puede dar fe de su lugar de origen. González y Cardona, (2016) expresan que:

Un parámetro importante de contaminación son las bacterias fecales, y unas de las más importantes en esta categoría son las coliformes, que se introducen al ambiente a través de las heces de los seres humanos y animales. (pág. 150)

Los coliformes fecales de forma natural pueden llegar a ser encontrados en los cuerpos receptores de agua, pero son eliminados a lo largo de un río. Microlab (2020) expresa:

El cuerpo humano excreta gran cantidad de coliformes fecales diariamente. Debido a que uno de los objetivos primarios del tratamiento de aguas residuales es evitar que se conviertan

en foco de enfermedades infecciosas, es de particular interés reducir estos coliformes a niveles que pueden ser eliminados en la naturaleza.

Por lo general los excrementos de la fauna local que habitan en la zona margen de un río van a para a este, a travez de las lluvias, pero el ser humano es el principal causante de contaminación, al desembocar las aguas negras al caudal de un río y por ello los coliformes fecales son introducidos de forma masiva a los ríos.

De acuerdo con el Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba (2020): El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación fecal debido a que estos forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal, tanto del ser humano como de los animales homeotermos. (pág. 26)

Un microorganismo debe de cumplir ciertas características para ser estudiado en el laboratorio como un indicador de contaminación, no basta solo el lugar de origen, tal es el caso de los coliformes totales y fecales, para que estas bacterias se consideren indicadores de contaminación debe de reunir ciertos requisitos, Según Alvarenga & Aragón (citados por Ruano, 2016)):

Fáciles de aislar y crecer en el laboratorio; ser relativamente inocuos para el hombre y animales; y presencia en agua relacionada, cualitativamente y cuantitativamente con la de otros microorganismos patógenos de aislamiento más difícil (pág.19)

Los mismos autores refieren que:

Los coliformes son bacterias con características bioquímicas similares y aunque este grupo indique contaminación, siempre existirá una diferencia entre ellos por su lugar de origen. Esto ha llevado a distinguir entre coliformes totales (grupo que incluye a todos los coliformes de cualquier origen) que fermentan la lactosa a 35°C en 48 horas y coliformes fecales (término que designa a los coliformes de origen exclusivamente intestinal) con capacidad de fermentar lactosa también a 44.5°C. La existencia de una contaminación microbiológica de origen fecal se restringe a la presencia de coliformes fecales, mientras que la presencia de coliformes totales, sólo indica existencia de contaminación, sin asegurar su origen. (Pág. 20)



Los cuerpos de agua tienen la capacidad para depurar o eliminar las bacterias ajenas a ellos, pero cuando las descargas de estos son incesantes, será muy difícil que los cuerpos de agua los depuren. Carpenter (1977) aclara que:

Aunque la sedimentación elimina la mayor parte del material particulado que incluye bacterias, agua corriente y estancada, conviene no confiar en que el agua corriente carezca de microorganismo nocivos. Aunque a simple vista no se logre observar la presencia de coliformes en el agua, es mejor no ingerir este tipo de líquidos o realizar algún otro tipo de actividad que ponga en riesgo la salud. Las bacterias coliformes incluyen *Escherichia coli* y otras bacterias que se asemejan morfológicamente y fisiológicamente. Estos organismos con frecuencia difieren entre sí en características pequeñas; se diferenciaron docenas de especies, pero en la actualidad solamente se reconocen seis. Se sabe que dos aparecen con frecuencia suficiente para mencionarse: *Escherichia coli* y *Aerobacter aerogenes*. (Carpenter, 1977, pág. 295).

### **1.1.3 Legislación ambiental con énfasis en la calidad del agua**

En la legislación de El Salvador, se encuentra una gran cantidad de leyes, normativas, reglamentos, tratados etc. Que conforman la legislación ambiental y en esta última se aborda el tema de la calidad del agua, entonces, de acuerdo con el MARN<sup>2</sup> (2019), en la evaluación de la calidad de las aguas residuales se debe incluir el análisis de cada una de las características físico-químicas y microbiológicas, de conformidad con las normas técnicas de calidad de aguas residuales y monitoreo (pág. 6).

La gestión del recurso hídrico está dividida según sea la utilidad del agua, Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales( 2017) señala que "ANDA en agua potable y saneamiento, MAG en agricultura, CEL en energía, MINSAL en calidad para consumo humano, y el MARN en el desarrollo de acciones que tiendan a proteger, mejorar o mantener las condiciones de disponibilidad (pág. 2)"

El salvador posee una legislación ambiental muy completa, el tema del agua se aborda a través de los distintos cuerpos de ley creados solo para la protección de este recurso, sin

---

<sup>2</sup> Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales

embargo, es necesario actualizarlos, debido a que el contexto va cambiando. El sitio web Iagua (2020) expresa que:

El Salvador cuenta con Reglamento Especial de Manejo de Aguas Residuales, Reglamento Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental y Norma Salvadoreña de Vertido de Aguas Residuales a Cuerpo Receptor; instrumentos que establecen parámetros de calidad y límites con los cuales se puede verter agua a un cuerpo receptor, que están desactualizados.

El Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, (2019) establece que:

Durante el análisis de las características físico-químicas y microbiológicas de las aguas residuales de tipo ordinario, deberán ser determinados, esencialmente, los valores de los siguientes componentes:

- a) Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO'5);
- b) Potencial hidrógeno (pH);
- c) Grasas y aceites (G y A);
- d) Sólidos sedimentales (SSed);
- e) Sólidos suspendidos totales (SST);
- f) Coliformes totales (CT); y
- g) Cloruros (Cl-)

En la actualidad, los ríos reciben una buena parte de los desechos que el ser humano produce, generando cambios sustanciales en la calidad del agua, los parámetros físicos, químicos y biológicos son alterados. Existen límites en los cuales no se pueden exceder los parámetros físicos, químicos y biológicos, estos al ser sobre pasados afecta a toda la vida acuática de cuerpo de agua y a los seres vivos externos que quieren hacer uso del agua, provocando enfermedades.

El MARN (2019) tomando como base la norma técnica de calidad del agua como medio receptor, establece los límites para los parámetros de calidad, para cuerpos de agua superficiales.

A continuación, se muestran los límites por parámetro en la siguiente tabla:

**Tabla 1. Límites para los parámetros de calidad para cuerpos de agua superficiales**

PARAMETRO	LIMITE
<ul style="list-style-type: none"><li>• Bacterias</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Que no exceda una densidad mayor a los 5000UFC por 100 ml de nuestra analizada</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Coliformes Totales</li><li>• Coliformes fecales</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Que no exceda una densidad mayor a los 5000UFC por 100 ml de nuestra analizada</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• DBO</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• No debe permitirse que el nivel de oxígeno disminuya de los 5mg/L</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• pH</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Debe mantenerse un rango de 6.5 a 7.5 unidades o no alterar en 0.5 unidades de pH, el valor ambiental natural</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Turbidez</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• No debe de incrementar más de 5 unidades de turbiedad sobre los limites ambientales del cuerpo de agua</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Temperatura</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Debe mantenerse un rango entre 20° C a 30° C o no alterar un nivel de 5° C la temperatura del cuerpo receptor</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Toxicidad</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• No debe exceder de 0.05mg/L de plaguicidas órgano clorados</li></ul>

El MARN, será responsable de supervisar la disponibilidad y la calidad del agua. Cada parámetro tiene límites los cuales no deben ser sobre pasados, si estos límites se sobrepasan el agua está contaminada y se vuelve no apta para su uso o para la vida acuática.

Si bien la institución responsable de velar por el buen estado de los ríos es el MARN, este, puede apoyarse de otras instituciones como: el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), la Administración de Alcantarillados y Acueductos (ANDA), el Ministerio de Salud (MINSAL), Alcaldías Municipales, Asociaciones de Desarrollo Comunal (ADESCOS), ya que la calidad del agua es un interés común. Vidaurre. (2016) expresa que:

En marzo de 2009 el país adoptó la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.49.01:09. Aguas residuales descargadas a un cuerpo receptor, la cual define los valores máximos permisibles de parámetros selectos para aguas residuales ordinarias y especiales vertidas a cuerpos receptores como ríos, quebradas, lagos y el mar. (pág. 54)

#### **1.1.4 Característica de los microorganismos identificados**

los microorganismos identificados son: coliformes totales y fecales, son un grupo de bacterias gramnegativas que pertenecen a la Familia de las *Enterobacteriaceae*, además son indicadoras de la contaminación del agua por su lugar de origen. Los géneros que pertenecen al grupo de los coliformes son: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*. De acuerdo con Ramírez (citado por Ruano, 2016),

La mayoría de las bacterias coliformes probablemente no causaran alguna enfermedad, sin embargo estas bacterias son usadas como indicadores en prueba de agua, porque su presencia señala que organismos, que pueden causar enfermedades patógenos también pueden estar en el agua. La presencia de algunos tipos de bacterias coliformes en el agua señala la presencia de excremento o desechos de alcantarillas, los organismos que causan enfermedades usualmente vienen en los incrementos y los desechos de alcantarillas.

Existen bacterias que se pueden encontrar en el cuerpo humano realizando una función en específico, es decir forman parte de la flora normal bacteriana y adentro de un ser humano en su área respectiva, le traen ciertos beneficios, pero fuera del cuerpo humano pueden crear problemas; esto es lo que ocurre cuando encontramos bacterias provenientes del tracto gastrointestinal en el agua, según Carpenter, (1977) “las bacterias coliformes suelen encontrarse en el aparato intestinal del hombre y animal. *Escherichia coli*, muy pocas veces, si es que acontece, se le encuentra fuera del intestino, excepto cuando ha ocurrido contaminación por excreta humanas o de animales. (pág. 295)

#### **1.1.5 Especies importantes:**

Es común que cuando se habla de contaminación del agua, siempre se mencione a *Escherichia coli*, entre los coliformes no será el más común, pero tiene la habilidad de poder

sobrevivir fuera del cuerpo del ser humano y es por eso que se puede encontrar en el agua, aun después de un tiempo.

### *Escherichia coli*

Schlegel (1992) plantea que

Es un habitante intestinal. No es con mucho el más abundante numéricamente, sino que esta por detrás de Bacteroides y Bifidobacterium. No obstante, *Escherichia coli* se mantiene viable un cierto tiempo fuera del intestino y es fácilmente demostrable. Por ello es apropiado utilizarla como demostración de contaminación fecal en las aguas de bebida (Pág. 314).

*Escherichia coli* es el coliforme más conocido y no todas cepas son patógenas, pero existen algunas que causan infecciones en el ser humano.

3 M Ciencia aplicada a la vida, (2020) El Coliforme más conocido, *Escherichia coli* (*E. coli*), es un residente común de los intestinos de los animales de sangre caliente, pero también se puede encontrar en el entorno natural y transmitirse a las instalaciones de fabricación de alimentos, así como a fuentes de agua potable. La mayoría de *E. coli* es inofensiva, pero algunas cepas pueden causar intoxicación alimentaria grave y enfermedades.

*Escherichia coli* es un coliforme muy conocido, esto es debido a que tiene la capacidad de vivir por cierto tiempo fuera del intestino y esto le permite mantenerse en un cuerpo de agua o en una fruta o verdura, esperando a trasladarse a otro lugar y provocar problemas, en nuestro caso, provocar infecciones en el ser humano.

Merck & Co.(2020) Plantea que:

La *Escherichia coli* (*E. coli*) es un grupo de bacterias gramnegativas que residen habitualmente en el intestino de personas sanas, pero algunas de sus cepas pueden provocar infección del tubo digestivo, las vías urinarias o muchas otras partes del organismo.

Son bacterias gramnegativas que suelen causar infecciones debido a que es un microorganismo oportunista, suele producir infecciones en las vías urinarias y también infecciones respiratorias.

### *Enterobacter aerogenes*

Schlegel (1992) considera que:

es en cierto modo el hermano gemelo de *E. coli*; ambos se designan como "coliformes". Es muy abundante en los suelos. Tal como indica su nombre, esta bacteria forma mucho gas. Se diferencia de *E. coli* tan solo por unas pocas características bioquímicas. (pág. 315)

### *Klebsiella pneumoniae*

Schlegel (1992) manifiesta que

se diferencia de *Enterobacter* exclusivamente por la formación de una capsula gruesa y por su falta de motilidad. Se presenta en algunas formas muy peligrosas de inflamación de los pulmones. (pág. 315)

Merck & Co.(2020) afirma que:

*Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* son bacterias gramnegativas estrechamente relacionadas entre sí, que en algunos casos provocan infecciones de las vías urinarias o el aparato respiratorio en pacientes que se encuentran en hospitales o en centros sanitarios de larga estancia.

### *Citrobacter*

Según Ramírez (citado por Ruano, 2016) es un grupo que se encuentran frecuentemente en el agua, el suelo, la comida, vegetación y como flora saprófita en el tracto intestinal de muchos animales además del hombre. Se trata de microorganismos ubicuos que son causa frecuente de infecciones importantes, especialmente en hospederos inmunodeprimidos. Es uno de los patógenos más importantes en unidades de cuidados neonatales hospitalarios. En los seres humanos producen, por ejemplo, infecciones urinarias, meningitis neonatal y abscesos cerebrales. Destruyen las microvellosidades, formando lesiones muy características denominadas de adherencia y eliminación. (pág. 315)

### **1.1.6 Contaminacion del agua de los ríos**

Cuando se habla de contaminación, se hace referencia a un elemento, microorganismo o cuerpo extraño o ajeno a un determinado ambiente, es decir que no forma parte del medio que se encuentra, pero que por alguna razón llegó hasta ahí, en algunos casos una contaminación puede que no cause daños o que sean relativamente pequeños esos daños, pero en otros casos causan daños que pueden ser graves, eso suele pasar con el agua y en este caso los coliformes son un tipo de factor contaminante que causa daños al ser humano. Méndez y Cardona, (2016) explican que

La calidad de un cuerpo de agua ya sea subterráneo o superficial, se ve afectado por diversos factores, como las descargas de aguas residuales domésticas, agropecuarias o industriales, y la disposición inadecuada de contaminantes en el suelo, al ser lavados de este sistema son transportados hacia los ríos, lagos, océanos y acuíferos. (pág. 148)

En El Salvador son pocos los Municipios que poseen una planta de tratamiento de aguas residuales, además el aumento de la población hace que las pocas plantas existentes no den un buen cumplimiento.

Se observa una serie de problemas comunes en todo el país. En gran medida se deben al bajo índice de cobertura de alcantarillado sanitario y al prácticamente inexistente tratamiento de aguas residuales urbanas y parte de las industriales, antes de su vertido a las aguas superficiales, lo que contamina seriamente a las aguas superficiales y subterráneas con bacterias coliformes, nutrientes (compuesto de nitrógeno y fósforo, fundamentalmente), metales y otros (MARN, 2017, pág. 114)

MARN (2017) En el caso de disponer de un sistema de alcantarillado, las aguas son vertidas sin una depuración previa, por lo que los problemas de salubridad y calidad del agua no son eliminados sino que se trasladan a otros puntos de la red de drenaje, esta situación es especialmente peligrosa en aquellas zonas receptoras donde se usan las aguas de los ríos para atender necesidades domésticas básicas (como lavado de la ropa, aseo personal e incluso el consumo directo), con el consecuente impacto sobre la salud, sobre todo en época seca, cuando hay una menor dilución de los vertidos que se producen aguas arriba y llega una mayor carga contaminante por unidad de volumen consumido. (pág. 95)

Para la interpretar los resultados obtenidos se hizo uso del Reglamento Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental y Normativa de Aguas Residuales Descargadas a Cuerpos Receptores elaborado por el MARN.

**Tabla 2. Valores límites para los parámetros de la calidad del agua.**

PARAMETROS	LIMITE
Bacterias Coliformes Totales Coliformes fecales	Que no excedan de una densidad mayor a los 5000 UFC por 100 ml de muestra analizada Que no excedan de una densidad mayor a los 5000 UFC por 100 ml de muestra analizada
Demanda Bioquímica de Oxígeno disuelto	No debe permitirse que el nivel de oxígeno disminuya de 5mg/L Igual o mayor a 5mg/L
PH	Debe de mantenerse en un rango de 6.5 a 7.5 unidades o no alterar en 0.5 unidades de PH el valor ambiental natural.
Turbiedad	No debe incrementarse más de 5 unidades de turbiedad sobre los límites ambientales del cuerpo receptor
Temperatura	Debe mantenerse en un rango entre 20 a 30°C o no alterar en un rango de 5°C la temperatura del cuerpo receptor
Toxicidad	No debe de exceder 0.05mg/L de plaguicida órgano clorado

La tabla anterior muestra los valores límites para los parámetros físicos, químicos y biológicos.

**Fuente:** Reglamento Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental. MARN (2000)



**Tabla 3. Número más probable para serie de 3 tubos**

No de tubos con reacción positiva			Indice del NMP/100
3 tubos con 10ml	3 tubos con 1ml	3 tubos con 0.1ml	
0	0	0	<3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	≥2400

**Fuente:** Análisis bacteriológico del agua de abastecimiento de los Estanques de la estación piscícola de Izalco, departamento de Sonsonate, El Salvador, Alicia Lorena Alonso Ruano (2016)

La tabla número 3 se muestra la interpretación de resultados de acuerdo al número de tubos que dan positiva la prueba del número más probable de microorganismos por cada 100ml.

**Tabla 4. Interpretación de colonias de bacterias según su color**

<b>Colonias</b>	<b>Microorganismos</b>
Transparente de color ambarino.	<i>Salmonella, Shigella</i>
Verdosa con brillo metálico a la luz reflejada, en el centro negro azulado a la luz transmitida.	<i>Echerichia coli</i>
Más grandes que las de echerichia coli, mucosa, confluentes, con el centro pardo grisáceo a la luz transmitida	<i>Enterobacter, klebsiella</i> y otros.

las colonias resultantes en el medio de cultivo agar EMB se pueden identificar según su coloración.

**Fuente:** manual de medios de cultivos del MERCK

**Tabla 5. Interpretación de resultados obtenidos en la prueba bioquímica**

MICROORGANISMO	MEDIO DEL CULTIVO		
	COLUMNA VERTICAL	SUPERFICIE INCLINADA	FORMACION DE H <sub>2</sub> S
<i>S. typhy</i>	S	OA	+
<i>S. paratyphi a</i>	SG	OA	-
<i>S. cholerasuis</i>	SG	OA	-
<i>S. paratyphi b</i>	SG	OA	+
<i>S. typhymorium</i>	SG	OA	+
<i>S. enteritidis</i>	SG	OA	+
<i>S. gallinarum</i>	S	OA	+
<i>Sh. dysenteriae</i>	S	OA	-
<i>Sh. schmitzii</i>	S	OA	-
<i>Sh. boydii</i>	S	OA	-
<i>Sh. flexneri</i>	S	OA	-
<i>Sh sonnei</i>	S	S	-
<i>Ent. Aerogens</i>	SG	S	-
<i>Ent. Cloacae</i>	SG	S	-
<i>E. coli</i>	SG	S	-
<i>Citrobacter</i>	SG	S	+
<i>Klebsiella</i>	SG	S	-
<i>Pr. vulgaris</i>	SG	S	+
<i>Pr. miranilis</i>	SG	S/A	+
<i>Pr. morganii</i>	SG	OA	-
<i>Pr. rettgeri</i>	S	OA	-
<i>K. pneumoniae</i>	S/SG	OA	-
<i>Ps. Aeruginosa</i>	OA	OA	-
<i>Al. Feacalis</i>	OA	OA	-

los resultados que se obtienen al realizar una inoculación en agar TSI se pueden interpretar según la coloración de la superficie inclinada en relación con la superficie de forma vertical y además si hay formación de gas. **Fuente:** manual de medios de cultivos del MERCK

Explicación de letras y signos utilizados en la tabla	
A	Viraje a rojo, por formación de álcali.
OA	Sin alteración del color original del medio de cultivo, por formación de álcali.
S	Viraje a amarillo, por formación de ácido.
SG	Viraje a amarillo y formación de gas
+	Ennegrecimiento, por formación de H <sub>2</sub> S
-	Ausencia de ennegrecimiento

**Tabla 6. Rangos de calidad para parámetros del agua**

NORMA APLICABLE	PARAMETROS	UNIDADES	RANGO
Decreto No 51 16 de noviembre de 1987	DBO5	mg/L	de 3 a 4
	Coliformes fecales	NMP/100 ml	1000
	Oxígeno disuelto	mg/L	4-6.5
	PH	u de PH	6.5 a 9.8
	Cloruros	mg/L	50 a 250

**Fuente:** Normativa de Agua Cruda para potabilizar por métodos convencionales de tratamiento. MARN (2000)

**Tabla 7. Rangos para parámetros del agua**

(Normativa de agua para riego)

NORMA APLICABLE	PARAMETROS	UNIDADES	RANGO
Decreto No 51 16 de noviembre de 1987	Conductividad	Siemens/cm	250 a 750
	CRS	meq/L	≤1.25
	RAS		0-10
	% de sodio	meq/L	30 a 60
	Boro	mg/L	0.5 a 2.0
	Cloruros	mg/L	195
	Sulfatos	mg/L	200
	PH	u de PH	6.5 a 8.4
	Coliformes fecales	NMP/100ml	1000

**Fuente:** Normativa de agua para riego. MARN (2000)

**Tabla 8. Parámetros de calidad de agua**

(Para actividades recreativas establecidas por la OMS)

NORMA APLICABLE	PARAMETRO	RANGO
NORMA OMS PARA ACTIVIDADES RECRERATIVAS	Coliformes fecales	Menor o igual a NMP/100m
	Oxígeno disuelto	Mayor o igual a 7mg/L
	Turbidez	Menor o igual a 10 UNT

**Fuente:** Informe de la calidad del agua de los ríos de El Salvador, MARN (2009)

## CAPITULO II: MARCO METODOLÓGICO

### 2.1 Tipo de Investigación

el enfoque de investigación es “mixto”, debido a que parte de una hipótesis, además los datos obtenidos son numéricos, el análisis de los datos es a través de tablas y gráficos, esto hace referencia al enfoque cuantitativo, pero además en el análisis de los datos de una investigación cualitativa se realiza por medio de textuales, narraciones y en este caso el análisis de los resultados contiene una narración de los datos obtenidos es por ello que el enfoque es mixto. Hernández Sampieri, Fernández Collado, & Baptista Lucio, (2004) Expresan:

Por ahora, simplemente enunciamos los ejemplos y al final del libro se profundiza en la naturaleza, características y modelos del proceso mixto, o como lo hemos denominado: el matrimonio cuantitativo-cualitativo. (pág. 40).

Con un alcance “exploratorio” y también “descriptivo.” Exploratorio, pues el tema de la contaminación del río San Antonio no cuenta con ningún tipo de investigación previa. Descriptiva, porque se busca recolectar, medir y evaluar los resultados, Según Hernández Sampieri, Fernández Collado, & Baptista Lucio, (2004) "Los estudios exploratorios se realizan cuando el objetivo es examinar un tema o problema de investigación poco estudiado, del cual se tienen muchas dudas o no se ha abordado antes (pág. 100). "

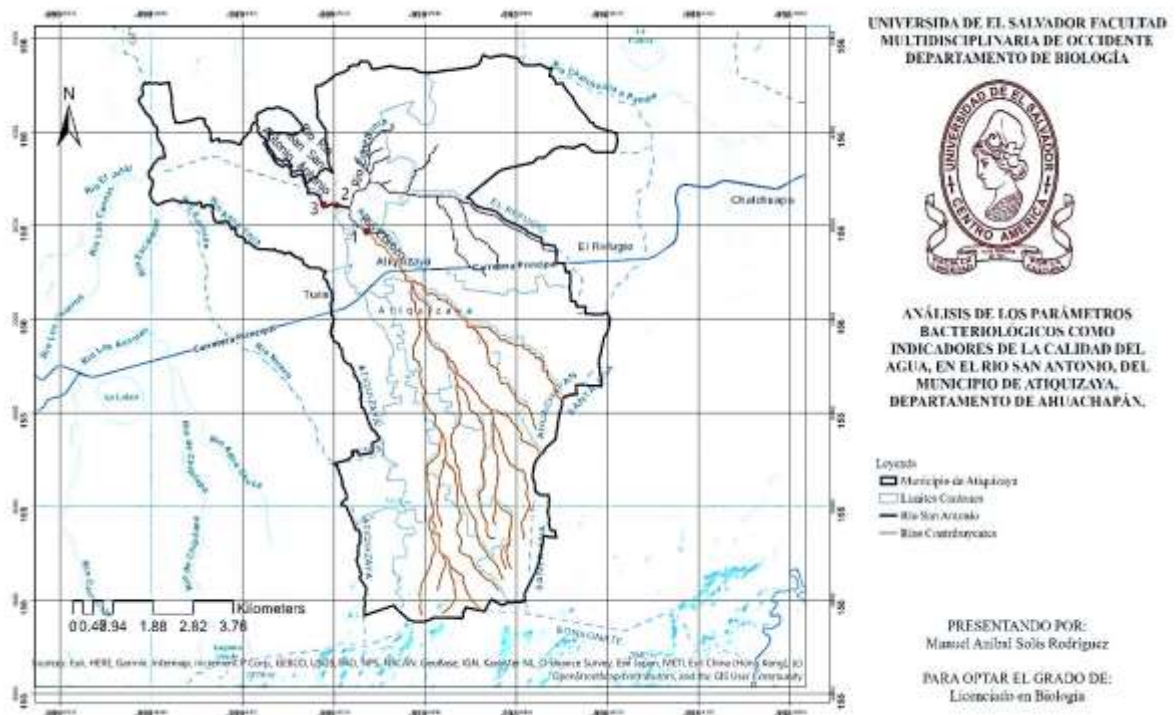
Los mismos autores afirman que:

"Es decir, miden, evalúan o recolectan datos sobre diversos conceptos (variables), aspectos, dimensiones o componentes del fenómeno a investigar. En un estudio descriptivo se selecciona una serie de cuestiones y se mide o recolecta información sobre cada una de ellas, para así (valga la redundancia) describir lo que se investiga (pág. 102). "

El diseño de la investigación es “experimental, esto es porque la investigación cuenta con una fase de laboratorio en la que la variable independiente son los medios de cultivo y la dependiente son los microorganismos que existen en las muestras y esto es con el fin de comprobar el nivel de contaminación del río San Antonio”. Tomando como base a Hernández Sampieri, Fernández Collado, & Baptista Lucio (2004) Es decir, los diseños experimentales se utilizan cuando el investigador pretende establecer el posible efecto de una causa que se manipula (pág. 160)

## 2.2 Descripción del Área de estudio

El Río San Antonio está ubicado en el Municipio de Atiquizaya y de acuerdo a Macal & Solís (2009), Atiquizaya está situada al noroeste de la zona occidental del país, a 12 km de la cabecera departamental de Ahuachapán y a 88 km de la capital salvadoreña, el Río San Antonio una topografía que va desde la inclinada y plana con poca cubierta boscosa y con zonas de cultivo de hortalizas. El río cuenta con bosques de galería, con un clima tropical, la precipitación anual promedio es de 1597mm.



**Figura 1. Mapa del Municipio de Atiquizaya.**

La línea de color azul intenso representa el Río San Antonio, los puntos rojos representan los sitios de muestreo 1 (coordenadas: 13° 58' 40" LN y 89° 45' 20" LO), 2 (coordenadas: 13° 59' 06" LN y 89° 76' 16", LO) y 3 (coordenadas: 13° 09' 58" LN y 89° 45' 56" LO) Proporcionado por CARITAS de El Salvador.

## 2.3 Universo, Población y Muestra

- Universo: Ríos del Municipio de Atiquizaya
- Población: Río San Antonio del Municipio de Atiquizaya
- Muestra: Puntos de muestreo del Río San Antonio del Municipio de Atiquizaya

## **2.4 Metodología**

La investigación de la calidad del agua del Río San Antonio se basó únicamente en el estudio de la presencia o ausencia de Coliformes totales y fecales, debido a que son las únicas bacterias que el ministerio de salud toma como indicadores de contaminación.

Para realizar esta investigación se dividió el trabajo en 2 fases, una de campo y otra de laboratorio. En la de campo, se recolectaron las muestras de agua del Río San Antonio en los puntos seleccionados y la de laboratorio consistió en identificar a las bacterias.

## **2.5 Sitios de muestreo y toma de muestras de agua:**

Se escogieron 3 puntos de muestreo (ver figura 2), en los cuales se tomaron 3 muestras de agua para cada sitio. Para establecer los tres puntos de muestreo, se tomó en cuenta el fácil acceso al río y el nivel de seguridad de cada área, el primero punto de muestra está ubicado en el curso alto del río a 5m al oriente del puente de la colonia Brisas del río, con las coordenadas:  $13^{\circ} 58' 40''$  LN y  $89^{\circ} 45' 20''$  LO, con poca cobertura boscosa y próximo a él está la colonia San Antonio y la residencial Atiquizaya, el segundo punto de muestra está ubicado en el curso medio del río, a 10m al poniente del puente situado a la altura de la entrada del centro turístico Agüijuyo, con las coordenadas:  $13^{\circ} 59' 06''$  LN y  $89^{\circ} 76' 16''$ , LO, el tercer punto de muestra está localizado en el curso bajo, a la altura de la Hacienda las Ánimas, con las coordenadas :  $13^{\circ} 98' 58''$  LN y  $89^{\circ} 45' 56''$ LO. Estas coordenadas fueron tomadas con un GPS Topográfico. Se realizó tres muestreos por cada punto de muestra. los meses muestreados fueron: Julio, septiembre, noviembre de 2019.

Para la toma de las muestras de agua, se utilizaron frascos de vidrio con tapa rosca de 7 cm de largo y con un diámetro de 5 cm. Se esterilizaron con agua hirviendo, y para asegurar la eliminación de microorganismos se les aplicó cloro (este fue puro o en forma de lejía) y posteriormente con papel toalla estéril se secó y cada frasco se colocó en una bolsa hermética estéril.



**Figura 2. Mapa del Río San Antonio,**

Este mapa es un extracto del mapa del municipio de Atiquizaya, En él se muestran los puntos rojos representan los sitios de muestreo 1 (coordenadas:13o 58' 40" LN y 89o 45' 20" LO), 2 (coordenadas:13o 59' 06" LN y 89o 76' 16", LO) y 3(coordенadas:13o 98' 58" LN y 89o 45' 56"LO). Proporcionado por CARITAS de El Salvador.

### **2.6 Procedimiento del muestreo:**

En el sitio seleccionado, se tomó la muestra de agua de la parte media del río, para el punto de muestra 1 y 2 se hizo uso de las rocas que se encuentra en el río, debido a que su tamaño permite el fácil desplazamiento para llegar a la parte media del río. Para el punto de muestra 3 se usaron botas de hule para desplazarse a la parte media del río, ya obtenida la muestra, se rotuló el frasco con la información siguiente: punto de muestreo, hora y fecha.

Ya rotulados los frascos, se introdujeron en sendas bolsas herméticas que fueron depositándose en una hielera con hielo, con el fin de evitar que los microorganismos muriesen. Ese mismo día las tres muestras, se trasladaron al laboratorio del Departamento de Biología.

### **2.7 Preparación de cristalería y reactivos.**

En tubos de ensayo con campanas de Durham se les agregó caldo lactosado o caldo verde brillante, según la prueba a efectuar, luego se autoclavearon a 120°C, por 15min.a fin de esterilizar los caldos.



Se esterilizaron cajas de Petri en bloques de 5 embaladas en papel; a fin de poder hacer la diferenciación y recuento de colonias.

De manera similar en frascos Durham se esterilizaron 500 mL de Agar-EMB ( agar con eosina y azul de metileno), para posteriormente verterlo en las cajas de Petri estériles.(15 mL/caja)

Para la prueba bioquímica cuya finalidad es identificar bacterias, a los tubos de ensayo se se les colocó agar hierro-triple azúcar (TSI); siendo también obviamente esterilizados.

## **2.8 Técnica de tubos múltiples**

Esta técnica es para la determinación de coliformes totales y fecales, y por medio de ella conocer el nivel de presencia bacteriológica en el agua y de esta manera se poder tener una valoración de la calidad del agua del río San Antonio.

Para determinar el NMP, o sea el número más probable se añaden ya conocidas en medios de cultivo líquidos, en este caso se utilizó caldo lactosado y caldo verde brillante, el método consta en tres etapas que son:

- A. Prueba presuntiva
- B. Prueba confirmativa
- C. Prueba completa

## **2.9 Prueba presuntiva**

Antes de iniciar el análisis se agitó bien las diluciones, sacudiendo vigorosamente para lograr una distribución uniforme de los microorganismos.

En la muestra se buscó la existencia de coliformes totales para preparar las diferentes soluciones se tomaron de la muestra; 10 mL; 1mL y 0.1mL respectivamente (véase la figura 3), Cada una se sembró en 9.0mL de caldo lactosado, por triplicado en cada caso; cada uno con su respectiva campana de Durham ( no se inoculó el tubo testigo)

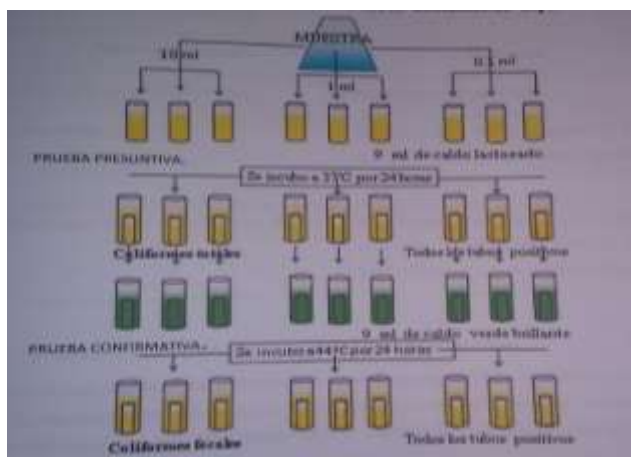
Los tubos se incubaron a 37°C por 48 horas, para posteriormente observar la producción o no de gas a través del desplazamiento o no del cultivo en la campana de Durham,

La ausencia de gas en indicó prueba-Consultando la tabla estándar de NMP (ver tabla 3) se estimó el número más probable de coliformes totales/100ml (ver tabla 6)

## 2.10 Prueba confirmativa

Se les aplicó a los tubos que resultaron positivos en la etapa presuntiva. Para lo anterior se inoculó una serie de tubos con caldo verde brillante<sup>3</sup>. A fin de detectar la posible existencia de coliformes termo tolerantes y para ello se incubaron por 48 horas a 44°C. El resultado positivo o negativo lo determina la presencia o ausencia de gas.

Se consultó la tabla de NMP para conocer el número más probable de organismos coliformes fecales/100 ml.



**Figura 3. determina el Número más probable.**

**Fuente:** Análisis bacteriológico del agua de abastecimiento de los estanques de la estación piscícola de Izalco, Departamento

De Sonsonate, El Salvador, durante el año 2016, Alicia Lorena Alonso Ruano.

## 2.11 Aislamiento y diferenciación de colonias

Para definir la presencia y para la identificación de las bacterias que posea el agua del río san Antonio, Se realizó mediante la siembra en un medio de cultivo para aislamiento y diferenciación para enterobacterias (agar Eosina azul de metileno-EMB), de los tubos que resultaron positivos en la prueba confirmativa se realizó la siembra en las placas de agar EMB por el método de estrías de estrías, se incubaron en un intervalo de 18-24 horas, a 37°C. Se consultó la tabla 4 del manual de medios de cultivos del MERCK, para determinar el tipo de colonias resultantes en el medio del cultivo agar EMB.

<sup>3</sup> caldo verde brillante (BLVB)

### **2.12 Prueba bioquímica para identificación de bacterias.**

Se tomó una colonia bien aislada de la superficie del medio de cultivo agar Eosina azul de metileno (EMB) y se sembró tanto por estrías en la superficie inclinada como en la columna vertical, mediante estría central (picadura) en los tubos con agar TSI (triple azúcar hierro) Se incubaron durante 48hs a °C. Posteriormente se consultó la tabla 5 del manual de medios de cultivos del MERCK.

### CAPITULO III: ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la aplicación de la técnica el número más probable a las muestras del río san Antonio.

#### 3.1 Resultados de la aplicación del número más probable

**Tabla 9. Resultados de la aplicación del número más probable**

Numero de muestreo	Punto de muestra	Numero de tubos con reacciones positivas			NMP/100ml
		3 tubos con 10ml	3 tubos con 1ml	3 tubos con 0.1ml	
1	Punto de muestra 1	3	3	3	$\geq 2400$
	Punto de muestra 2	3	3	3	$\geq 2400$
	Punto de muestra 3	3	3	3	$\geq 2400$
2	Punto de muestra 1	3	3	3	$\geq 2400$
	Punto de muestra 2	3	3	3	$\geq 2400$
	Punto de muestra 3	3	3	3	$\geq 2400$
3	Punto de muestra 1	3	3	3	$\geq 2400$
	Punto de muestra 2	3	3	3	$\geq 2400$
	Punto de muestra 3	3	3	3	$\geq 2400$

De acuerdo con la tabla 9, la densidad poblacional de microorganismos del Río San Antonio es mayor de los 2400 microorganismos por cada 100ml de agua, este resultado no varía en los 3 puntos de muestra, además expresa el deterioro de la calidad del agua del río, es decir que el agua es de mala calidad, no es apta para su uso.

La prueba confirmativa demostró la presencia de bacterias termo tolerantes, tal es el caso de *Escherichia coli*.

Se observó que las colonias con la siguiente coloración: Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*; colonias de color verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli* y colonias de color pardo grisáceos, que corresponde a *Enterobacter* y *Klebsiella*.

En la siguiente tabla se muestran el número de unidades formadoras de colonias, de cada punto de muestra, en el primer muestro. Se seleccionan las placas que están en el rango de 25 colonias o más para determinar las Unidades formadoras de Colonias (UFC) del punto de cada punto de muestra.

### 3.2 Conteo de unidades formadoras de colonias

**Tabla 10. Número de unidades formadoras de colonias.**

Muestreo #	Punto de muestra	Numero de caja	Numero de colonias por caja	UFC por punto de muestra	Géneros encontrados
1	Punto de muestra 1	1	15	2658	1. <i>Escherichia coli</i> 2. <i>Enterobacter</i> 3. <i>Klebsiella</i>
		2	10		
		3	25		
		4	60		
		5	105		

		6	15		
		7	10		
		8	26		
		9	25		
	Punto de muestra 2	2780	1	32	1. <i>Escherichia coli</i> 2. <i>Enterobacter</i> 3. <i>Klebsiella</i>
			2	93	
			3	51	
			4	75	
			5	35	
			6	52	
			7	54	
			8	153	
			9	27	
	Punto de muestra 3	1339	1	57	1. <i>Escherichia coli</i> 2. <i>Salmonella</i> 3. <i>Shigella</i>
			2	19	
			3	5	
			4	56	
			5	72	
			6	1	
7			42		
8			1		
9			25		

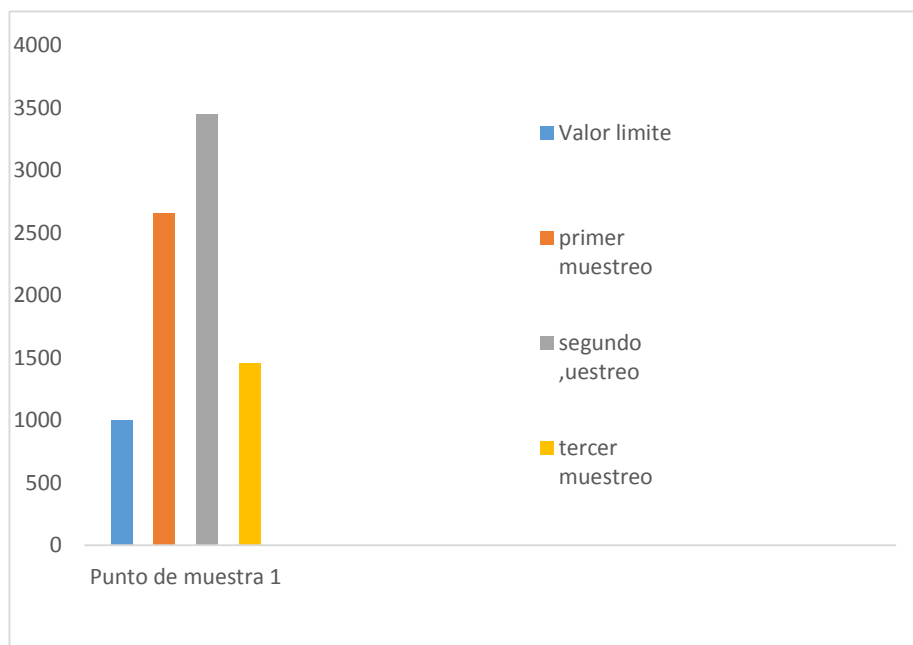
Según el **Reglamento Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental** en su artículo 19 establece que los coliformes totales y fecales no deben de exceder las 1000 unidades formadoras de colonias (UFC), de acuerdo con la tabla 10 el punto de muestra 1 tiene 2658 UFC, el punto de muestra 2 tiene 2780 UFC y el punto de muestra 3 tiene 1339 UFC, estos valores sobrepasan las 1000 UFC que el Reglamento Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental estable como valor máximo, teniendo en cuenta esta información se puede decir que según este primer muestreo el agua del Rio San Antonio es de mala calidad.

*Escherichia coli* esta presente en los 3 puntos de muestra, durante el primer muestreo, *Enterobacter* y *Klebsiella* aparece en el punto de muestra 1 y 2, *Salmonella* y *Shigella* sólo aparecen en el punto de muestra 3. La presencia de estas bacterias en el agua reafirma que la mala calidad del agua del Río San Antonio.

En el primer muestreo se logró observar que en las colonias resultantes de la inoculación en agar EMB, poseían las siguientes coloraciones: Verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli* y colonias de color pardo grisáceo, que corresponde a *Enterobacter* y *Klebsiella*.

En el segundo muestreo se observaron colonias con la siguiente coloración: Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*; colonias de color verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli*.

En el tercer muestreo se observaron colonias con la coloración siguiente: Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*; colonias de color verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli* y colonias de color pardo grisáceo, que corresponde a *Enterobacter* y *Klebsiella*.



**Figura 4. Valores de Unidades Formadoras de Colonias**

La Figura 4 muestra una gráfica en la que se ve reflejado de manera muy clara, como el valor límite de UFC es sobrepasado por el punto de muestra 1 en cada uno de sus muestreos. El valor límite de UFC está representado con el color celeste y su valor es de 1000 UFC. El

color naranja es el primer punto de muestra en su primer muestreo y su valor es de 2658 UFC. El color gris es el segundo muestreo con un valor de 3448 y por último el color amarillo que este asignado al tercer muestreo con un valor de 1460 UFC.

**Tabla 11. Número de unidades formadoras de colonias**

Muestreo #	Punto de muestra	Número de caja	Número de colonias por caja	UFC por punto de muestra	Géneros encontrados
2	Punto de muestra 1	1	1	3448	1. <i>Escherichia coli</i>  2. <i>Salmonella</i>  3. <i>Shigella</i>
		2	171		
		3	60		
		4	91		
		5	122		
		6	47		
		7	135		
		8	101		
		9	62		
	Punto de muestra 2	1	0	1663	1. <i>Escherichia coli</i>  2. <i>Salmonella</i> 3. <i>Shigella</i>
		2	15		
		3	25		
		4	5		
		5	6		
		6	1		
		7	1		
		8	1		
		9	33		
	Punto de muestra 3	1	22	2184	1. <i>Escherichia coli</i>  2. <i>Salmonella</i>
		2	86		
		3	16		



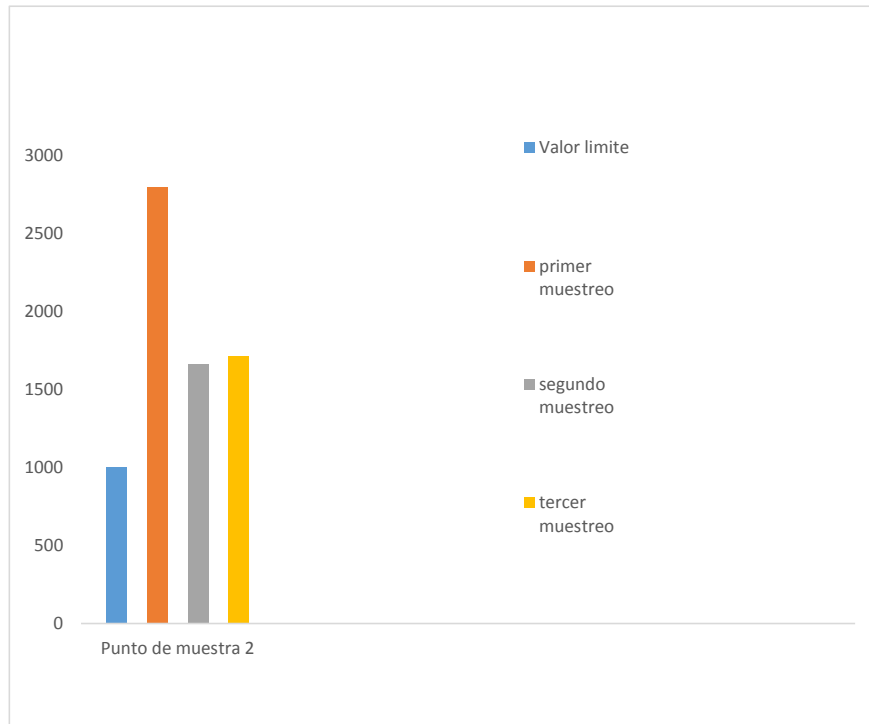
		4	35		3. <i>Shigella</i>
		5	25		
		6	1		
		7	95		
		8	26		
		9	65		

Según la información de la tabla 11, el punto de muestra 1 tiene 3448 UFC, el Punto de muestra 2 tiene 1663 UFC y el tercer punto de muestra tiene 2184 UFC, esto quiere decir que el agua del Río San Antonio es de mala calidad durante este segundo muestreo, debido a que excede las 1000 UFC que el reglamento de Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental establece como valor máximo. En este segundo muestreo queda claro que el agua del río no es apta para uso del ser humano. *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, se encuentran presente en los 3 puntos de muestra.

En el primer muestreo se logró observar que las colonias en agar EMB presentaban la siguiente coloración: Verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli* y colonias de color pardo grisáceos, que corresponde a *Enterobacter* y *Klebsiella*.

En el segundo muestreo las colonias tenían la siguiente coloración: Verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli* y colonias de color Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*.

En el tercer muestreo las colonias tenían la siguiente coloración: Verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli* y colonias de color Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*.



**Figura 5. Valores de Unidades Formadoras de Colonias**

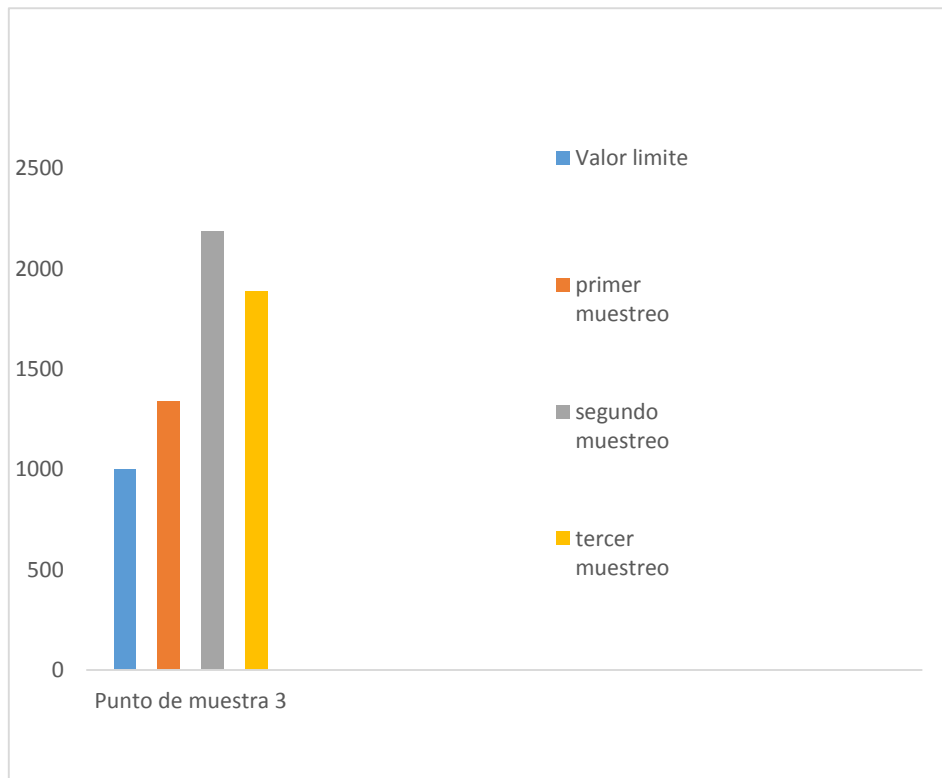
La Figura 5, demuestra a través de una gráfica de forma muy puntual como el valor límite de UFC es sobrepasado por el punto de muestra 2 en cada uno de sus muestreos. El valor límite de UFC está representado con el color celeste y su valor es de 1000 UFC. El color naranja de la gráfica es asignado al primer muestreo y su valor es de 2780 UFC. El color gris es el segundo muestreo y tiene un valor de 1663 y por último el color amarillo que está asignado al tercer muestreo con un valor de 1712 UFC.

**Tabla 12. Número de unidades formadoras de colonias**

Muestreo #	Punto de muestra	Número de caja	Número de colonias por caja	UFC por punto de muestra	Géneros encontrados
3	Punto de muestra 1	1	7	1460	1. <i>Escherichia coli</i>  2. <i>Salmonella</i>  4. <i>Shigella</i> 5. <i>Enterobacter</i> 6. <i>Klebsiella</i>
		2	26		
		3	28		
		4	16		
		5	25		
		6	26		
		7	10		
		8	41		
		9	25		
	Punto de muestra 2	1	3	1712	1. <i>Escherichia coli</i>  2. <i>Salmonella</i>  3. <i>Shigella</i>
		2	61		
		3	25		
		4	28		
		5	25		
		6	25		
		7	46		
		8	59		
		9	40		
	Punto de muestra 3	1	10	1885	1. <i>Escherichia coli</i>  2. <i>Salmonella</i>  3. <i>Shigella</i>
		2	51		
		3	4		
		4	10		
		5	25		
		6	1		
		7	1		

		8	52		
		9	56		

Con base a la tabla 12 el punto de muestra 1 tiene un total de 1460 UFC, el punto de muestra 2 tiene 1712 UFC y el punto de muestra 3 tiene 1885 UFC, esto significa que estos resultados del tercer muestreo sobrepasan las 1000 UFC que es el valor límite que el reglamento de Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental establece como valor máximo. Por tercera vez queda demostrada la mala calidad del agua del río San Antonio.



**Figura 6. Valores de Unidades Formadoras de Colonias**

La Figura 6 expone una gráfica en la que se ve revela de manera muy concreta, como el valor límite de UFC es sobrepasado por el punto de muestra 3 en cada uno de sus muestreos. El valor límite de UFC está representado con el color celeste y su valor es de 1000 UFC. El color naranja es el primer muestreo y su valor es de 1339 UFC. El color gris es el segundo muestreo con un valor de 2184 y por último el color amarillo que está designado al tercer muestreo con un valor de 1885 UFC.

### 3.3 Organismos identificados por punto de muestra

**Tabla 13. Resultados obtenidos de la aplicación de la prueba bioquímica**

Muestra	Punto de muestra	Número de tubo	Superficie inclinada	Columna vertical	Organismo	Gas	H <sub>2</sub> S
1	1	1	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		2	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		3	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		4	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		5	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		6	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		7	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		8	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		9	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
	2	1	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella. Sonnei</i></li> </ul>	-	-

		2	S	S	• <i>Shigella sonnei</i>	-	-
		3	S	S	• <i>Shigella sonnei</i>	-	-
		4	S	SG	• <i>Enterobacter aerogenes</i> • <i>Enterobacter Cloacae</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Klesiella sp.</i>	+	-
		5	S	SG	• <i>Enterobacter aerogenes</i> • <i>Enterobacter Cloacae</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Klesiella sp.</i>	+	-
		6	S	S	• <i>Shigella sonnei</i>	-	-
		7	S	S	• <i>Shigella sonnei</i>	-	-
		8	OA	S	• <i>Shigella Dysenteriae</i> • <i>Shigella mintzii</i> • <i>Shigella Boydii</i> • <i>Shigella flexneri</i>	-	-
		9	S	S	• <i>Shigella sonnei</i>	-	-
		3	1	S	SG	• <i>Enterobacter aerogenes</i> • <i>Enterobacter Cloacae</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Klesiella sp.</i>	+
	2		S	S	• <i>Shigella sonnei</i>	-	-
	3		S	SG	• <i>Enterobacter aerogenes</i> • <i>Enterobacter Cloacae</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Klesiella sp.</i>	+	-
	4		S	SG	• <i>Enterobacter aerogenes</i>	+	-

					<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>		
		5	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		6	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		7	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		8	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		9	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Citrobacter</i></li> </ul>	+	+

**Tabla 14. Resultados obtenidos de la aplicación de la prueba bioquímica**

Muestra	Punto de muestra	Número de tubo	Superficie inclinada	Columna vertical	Organismo	Ga s	H <sub>2</sub> S
2	1	1	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		2	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		3	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		4	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Critrobacter sp.</i></li> </ul>	+	+
		5	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		6	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		7	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-



		8	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		9	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
	2	1	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	-	-
		2	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		3	OA	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Sh. Shigella Dysenteriae</i></li> <li>• <i>Shigella mintzii</i></li> <li>• <i>Shigella Boydii</i></li> <li>• <i>Shigella flexneri</i></li> </ul>	-	-
		4	OA	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella Dysenteriae</i></li> <li>• <i>Shigella mintzii</i></li> <li>• <i>Shigella Boydii</i></li> <li>• <i>Shigella flexneri</i></li> </ul>	-	+
		5	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		6	OA	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella gallinarum</i></li> </ul>	-	+
		7	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		8	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> </ul>	+	-

					<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>		
		9	OA	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella gallinarum</i></li> </ul>		+
	3	1	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>		-
		2	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		3	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		4	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		5	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		6	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		7	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		8	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		9	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	+

**Tabla 15. Resultados obtenidos de la aplicación de la prueba bioquímica**

Muestra	Punto de muestra	Número de tubo	Superficie inclinada	Columna vertical	Organismo	Gas	H <sub>2</sub> S
3	1	1	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		2	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		3	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		4	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		5	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		6	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		7	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		8	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		9	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> </ul>	+	-

					<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>		
	2	1	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		2	A	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		3	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		4	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		5	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		6	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		7	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		8	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		9	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-

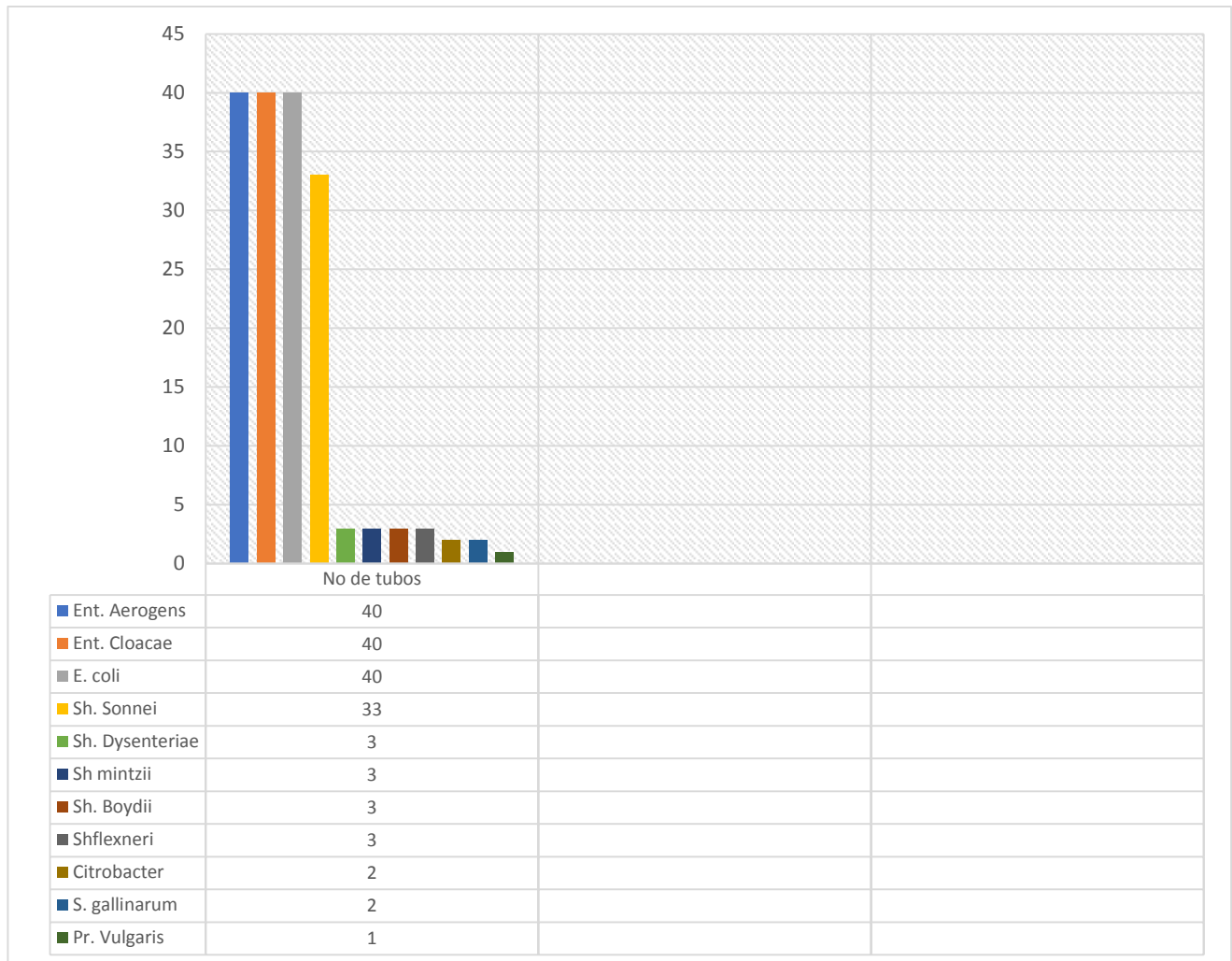
		1	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		2	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		3	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		4	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	-	+
	3	5	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		6	S	S	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Shigella sonnei</i></li> </ul>	-	-
		7	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Proteus Vulgaris</i></li> </ul>	+	+
		8	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-
		9	S	SG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter aerogenes</i></li> <li>• <i>Enterobacter Cloacae</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Klesiella sp.</i></li> </ul>	+	-

En el primer muestreo se observó que las colonias con la siguiente coloración: Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*; colonias de color verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli* y colonias de color pardo grisáceos, que corresponde a *Enterobacter* y *Klebsiella*.

El segundo muestreo se observaron colonias con la siguiente coloración: Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*; colonias de color verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli*.

Tercer muestreo, las coloraciones de las colonias son las siguientes: colonias de color verdes con brillo metálico y con el centro azul negro, que corresponde a *Escherichia coli*; Ambarino transparentes que determina la presencia de *Salmonella* y *Shigella*.

La siembra en el medio de cultivo Agar EMB permitió conocer las unidades formadoras de colonias (UFC), que se basa en la idea que una bacteria da origen a una colonia. En los Punto de muestra 1, 2 y 3, los resultados rebasan al valor permitidos por la ley. Tal y como se muestra en las siguientes gráficas.



**Figura 7. Especies encontradas con Agar triple iron sugar**

La figura 7 muestra una gráfica en la cual se exponen las especies encontradas en los en los 3 muestreos realizados.

De los 81 tubos inoculados en los 3 muestreos se encontraron especies con una mayor presencia en los tubos, estas especies son: *Ent. Aerogens*, *Ent. Cloacae*, *E. coli* y *Klesiella* estas especies se encontradas en 40 tubos con TSI en los 3 muestreos, estas especies aparecieron con presencia. *Sh. Sonnei*, esta especie se encontro en 33 tubos con TSI en los 3 muestros.

Se encontraron especies en menor proporción, ese es el caso de *Sh. Dysenteriae*, *Sh. mintzii*, *Sh. Boydii*, *Shflexneri* estas especies se encontradas en 3 tubos con TSI en los 3 muestreos. *Citrobacter* fue hallada en 2 tubos con TSI en los 3 muestreos. *S. gallinarum* se determinó su presencia en 2 tubos con TSI en los 3 muestros. *Pr. Vulgaris* esta especie se encontro en 1 tubos con TSI en los 3 muestreos.

## **CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **4.1 CONCLUSIONES**

1. El agua del río San Antonio alcanza el valor máximo en la técnica del número más probable que son  $\geq 2400$  microorganismos por 100 ml y equivale a la reacción positiva de toda la serie de 3 tubos.
2. Las unidades formadoras de colonias están por encima de las 1000 UFC, que es el valor que el Reglamento Especial de Normas Técnicas de Calidad Ambiental del MARN tiene como límite.
3. Al agua del río san Antonio se le identificó 5 géneros de coliformes y 14 especies diferentes
4. De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio y comparados con los valores establecidos como valores límites en el reglamento especial de normas técnicas de calidad ambiental, del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, se puede afirmar que el agua del río san Antonio es de mala calidad.



## **4.2 RECOMENDACIONES**

1. Que las autoridades municipales: Alcaldía, Unidad de Salud, MAG y ANDA gestionen la creación de una planta de tratamiento de aguas residuales.
2. Que las autoridades Municipales realicen monitoreo de acuerdo a la ley tomando como base los niveles de unidades formadoras de colonias, para la implementación de un plan de manejo del recurso hídrico en el río San Antonio.
3. Implementar estrategias informativas a la población con respecto al estado bacteriológico del río san Antonio para evitar un mal uso de su agua.
4. Medir los parámetros físicos y químicos del agua del río San Antonio periódicamente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 3 M Ciencia aplicada a la vida. (2020). Obtenido de 3 M Ciencia aplicada a la vida:  
[https://www.3m.com.mx/3M/es\\_MX/food-safety-la/biblioteca-de-documentos/microorganismos/coliformes/](https://www.3m.com.mx/3M/es_MX/food-safety-la/biblioteca-de-documentos/microorganismos/coliformes/)
- Arce, M. d. (2011). Impacto ambiental por aguas residuales y residuos sólidos en la calidad del agua de la parte media- alta de la microcuenca del río Damas y propuesta de manejo. Universidad Nacional Escuela De Ciencias Ambientales. Costa Rica.
- Carpenter, P. L. (1977). Microbiología. México: Edimex, S.A.
- Centro Nacional de Investigaciones Científicas de cuba. (16 de junio de 2020). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas. Vol. 44, pp. 24-34, Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181229302004.pdf>
- Cordero, M. R., Franco Nolasco, L. A., & Hernández Moran, R. A. (2005). Diagnóstico de la calidad de agua en época seca en el canal principal del río Jiboa y propuesta de mitigación de fuentes contaminantes, en una zona crítica. Universidad de El Salvador. San Salvador.
- García Pineda, C. P., & Godinez guardado, P. M. (2009). Determinación de moluscos indicadores de la calidad ambiental de los ríos del área natural protegida la Magdalena, Municipio de Chalchuapa, Universidad de El Salvador. Chalchuapa.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2004). Metodología de la Investigación. México D.F.: Editorial Ultra.
- IAGUA. (2020). El Salvador busca reducir la contaminación por vertido a aguas residuales. Obtenido de [www.iagua.es/noticias/salvador/marn/17/04/04/salvador-busca-reducir-contaminacion-vertido-aguas-residuales](http://www.iagua.es/noticias/salvador/marn/17/04/04/salvador-busca-reducir-contaminacion-vertido-aguas-residuales)
- Larios- Meoño, J. F., González Taranco, C., & Morales Olivares, Y. (2015). Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú. Lima. Recuperado de:  
<https://www.usil.edu.pe/sites/default/files/revista-saber-y-hacer-v2n2.2-1-19set16-aguas-residuales.pdf>
- Macal Ramirez, J. C., & Solís Ortega, C. (2009). Estudio técnico para la propuesta de una taza Municipal, en relación al manejo integral de desechos sólidos de la zona urbana del Municipio de Atiquizaya. Universidad de El Salvador. Atiquizaya.

- Menéndez, B. G., & Cardona Sánchez, R. (2016). *Ecología y Medio Ambiente*. Ciudad de México: Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales (México).
- Merck & Co. (22 de JUNIO de 2020). MANUAL MERCK Versión para público general. Obtenido de MANUAL MERCK Versión para público general: Recuperado de: <https://www.merckmanuals.com/es-us/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-y?query=Klebsiella>
- Merck & Co. (22 de junio de 2020). MANUAL MERCK Versión para público general. Obtenido de MANUAL MERCK Versión para público general: Recuperado de: <https://www.merckmanuals.com/es-us/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-escherichia-coli?query=escherichia>
- Microlab. (sábado 10 de octubre de 2020). Análisis de coliformes fecales. Obtenido de Microlab: <http://www.microlabindustrial.com/parametros/patogenos/182/coliformes-fecales#:~:text=Los%20coliformes%20fecales%20se%20definen,de%20Klebsiella%20C%20Enterobacter%20y%20Citrobacter.>
- Ministerio de Medio Ambiente y recursos Naturales. (2007). *Ley de Medio Ambiente*. San Salvador: Editorial Lis.
- Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2009). *Informe de la calidad de los Ríos de El Salvador*. Recuperado de: <https://cidoc.marn.gob.sv/documentos/informe-de-la-calidad-de-los-rios-de-el-salvador-ano-2009/>
- Naturales, M. d. (2014). *reglamento sobre la calidad del agua y el control de vertidos y las zonas de protección*. Recuperado: <http://usam.salud.gob.sv/archivos/pdf/leyes/Decreto%20No.50.pdf>
- Naturales, M. d. (2017). *Plan Nacional de Gestión Integrada del Recurso Hídrico de El Salvador, con énfasis en zonas prioritarias*. San Salvador: Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Recuperado de: <http://usam.salud.gob.sv/archivos/pdf/leyes/Decreto%20No.50.pdf>
- Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2017). *Política Nacional de Gestión Integrada del Recurso Hídrico*. Recuperado de: <http://www.aecid.sv/wp-content/uploads/2018/05/Pol%C3%ADtica-Nacional-de-Gesti%C3%B3n-Integrada-del-Recurso-H%C3%ADrico.pdf>

- Organización Mundial de la Salud. (2006). Guías para la calidad del agua potable. Genève. Suiza. Recuperado de: [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3rev/es/](https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/es/)
- Paz, G. B. (2017). Metodología de la investigación. México: Editorial Patria, S.A. de C.V.
- Ruano, A. L. (2016). Análisis bacteriológico del agua de los estanques de la estación piscícolas de Izalco, Departamento de Sonsonate. Universidad de El Salvador, Santa Ana.
- Schlegel, H.-G. (1992). Microbiología General. Barcelona: George Thieme Verlag de Stuttgart.
- Vidaurre, J. C. (2016). Evaluación Socioeconómica de la implementación de sistemas de recolección y tratamiento de aguas residuales. Universidad de El Salvador. San Salvador. Recuperado de: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/10259/1/Evaluacion%20de%20los%20Sistemas%20de%20Aguas%20Residuales.pdf>

# ANEXOS

## Anexo 1. Fotografías del trabajo de campo



Imagen 1. Recolección de muestras de agua



Imagen 2. Recolección de muestras de agua



Imagen 3. Rotulación de la muestra de agua



Imagen 4. Guardando el bote de vidrio que contiene la muestra de agua en una bolsa con doble zipper



Imagen 5. Traslado de muestras de agua en una hielera

## Anexo 2. fotografías del trabajo de laboratorio



Imagen 6. Preparando caldo lactosado



Imagen 7. Preparando caldo verde brilla



Imagen 8. Hirviendo agar EMB



Imagen 9. Hirviendo agar TSI



Imagen 10. Caja de Petri listas para esterilización



Imagen 11. Caja de Petri listas para esterilización



Imagen 12. Caldo lactosado estéril



Imagen 13. Caldo verde brillante



Imagen 13. Agar TSI estéril enfriando



Imagen 14. Llenado de cajas Petri con agar EMB



Imagen 15. Cultivos en la incubadora



Imagen 16. Cultivos en la incubadora





Imagen 13. Realizando siembra en caldo lactosado



Imagen 14. Realizando siembra en caldo lactosado



Imagen 15. Realizando siembra en caldo verde brillante.



Imagen 16. Realizando siembra en caldo verde brillante.



Imagen 17. Realizando siembra en agar TSI.



Imagen 18. Realizando siembra en agar TSI.

19



20



21



Imágenes 19, 20, 21. Caldo lactosado que dieron positivo la prueba

21



22



23



Imágenes 19, 20, 21. Tubos con caldo verde brillante que dieron

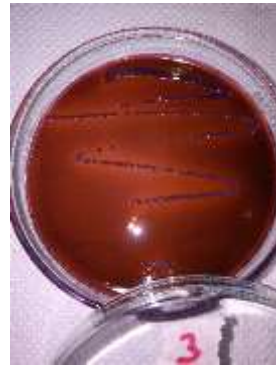
24



25



26



27



28



29



30



31



32



Imágenes 24. 25. 26. 27, 28, 29, 30, 31, 32, Colonias en Agar EMB que formaron colonias

34



35



36



37



38



39



40



41



42



Imágenes del 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42. , Tubos con agar TSI que dieron positivo la prueba, cambiando el color del agar.