



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Agroindustrias

TEMA:

**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DEL
CASCO URBANO DE GUARANDA MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO,
CARACTERIZACIÓN POR PERFILES BIOQUÍMICOS Y PRUEBAS
MOLECULARES (PCR)”**

Proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agroindustrias.

AUTORES:

Nataly Mishelle Taco Amangandi

Marylin Veronica Pasto Tandapilco

TUTOR:

Ing. Darwin Alberto Núñez Torres Mg

Guaranda – Ecuador

2025

TEMA

**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DEL
CASCO URBANO DE GUARANDA MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO,
CARACTERIZACIÓN POR PERFILES BIOQUÍMICOS Y PRUEBAS
MOLECULARES (PCR)”**

REVISADO Y APROBADO POR:



Ing. Darwin Alberto Núñez Torres Mg

TUTOR



Ing. Franz Patricio Verdezoto Mendoza Mg

PAR LECTOR



Ing. Isidro Favian Bayas Morejón PhD

PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Yo, Nataly Mishelle Taco Amangandi, con C.I. 0250030897 y Marylin Veronica Pasto Tandapilco con C.I.0250007127, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente



Taco Amangandi Nataly Mishelle

Pasto Tandapilco Marylin Veronica

C.I. 0250030897

C.I. 0250007127

e-mail: ntaco@mailes.ueb.edu.ec

e-mail:marypasto@mailes.ueb.edu.ec

Teléfono: 0981640570

Teléfono: 0962725508



Ing. Darwin Alberto Núñez Torres Mg.

e-mail: danuñez@ueb.edu.ec

Teléfono: 0994444536





DOCTORA MSc. GINA CLAVIJO CARRION
Notaria Cuarta del Cantón Guaranda.

ESCRITURA N°20250201004P00413

DECLARACIÓN JURAMENTADA

OTORGAN:

NATY MISHELLE TACO AMANGANDI Y
MARILYN VERONICA PASTO TANDAPILCO

CUANTÍA: INDETERMINADA

DI 2 COPIAS

P.A.

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy jueves a los quince días del mes de mayo del año dos mil veinticinco, ante mí **DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRION, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA**, comparecen con plena capacidad, libertad y conocimiento, a la celebración de la presente escritura, las señoritas **NATALY MISHELLE TACO AMANGANDI Y MARYLIN VERONICA PASTO TANDAPILCO**, por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTES. Las comparecientes declaran ser de nacionalidad ecuatorianas, mayores de edad, de estado civil solteras, de ocupación estudiantes ambas partes, domiciliada la primera en la parroquia San Simón, cantón Guaranda, Provincia Bolívar, con celular número cero nueve ocho uno seis cuatro cero cinco siete cero y con correo electrónico nataly-taco@hotmail.com; y la segunda en la parroquia Gabriel Ignacio Veintimilla, cantón Guaranda, provincia Bolívar, con celular número cero nueve seis dos siete dos cinco cinco ocho; y, con correo electrónico mpastovero@gmail.com, hábiles en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quienes de conocer doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación, en base a los cuales obtengo las certificaciones biométricas del Registro Civil, además por petición expresa de las comparecientes se adjuntan sus documentos personales como son sus cédulas de ciudadanía y certificados de votación, mismos que agrego a esta escritura como habilitantes. Advertidas las comparecientes por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinados que fueron en forma aislada y separada de que comparecen al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruidas por mí de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud; y, advertidas sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio, me solicitan que recepte su declaración juramentada: Nosotras: **NATALY MISHELLE TACO AMANGANDI Y MARYLIN VERONICA PASTO TANDAPILCO**, declaramos bajo juramento que los criterios e ideas emitidos en el presente proyecto de investigación, es de nuestra absoluta autoría, titulado: **"EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DEL CASCO URBANO DE GUARANDA MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO, CARACTERIZACIÓN POR PERFILES BIOQUÍMICOS Y PRUEBAS MOLECULARES (PCR)**. autorizamos a la Universidad Estatal de Bolívar hacer uso de todos los contenidos que nos pertenecen o parte de lo que contiene la obra, con fines estrictamente académicos o de investigación expuestos en el mismo. En el proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingenieras Agroindustriales, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, recursos Naturales y del Ambiente. Para su celebración y otorgamiento se observaron los preceptos de ley que el caso requiere; y, leída que les fue a las comparecientes íntegramente por mí la Notaria, aquellas se afirman y ratifican en la aceptación de todas sus partes y firman junto conmigo en unidad de acto, incorporándose al protocolo de esta Notaria, la presente declaración juramentada, de todo lo cual doy fe. -----

SRTA. NATALY MISHELLE TACO AMANGANDI.

C.C. 0250030897

SRTA. MARYLIN VERONICA PASTO TANDAPILCO.

C.C. 0250007127

DOCTORA MSc. GINA CLAVIJO CARRION
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA



Nataly Taco

Tesis_Final_Pasto_Marylin_Taco_Nataly[1] 2025.docx

My Files

My Files

Universidad Estatal de Bolívar

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:458982244

Fecha de entrega

13 may 2025, 8:52 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

13 may 2025, 10:34 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

Tesis_Final_Pasto_Marylin_Taco_Nataly[1] 2025.docx

Tamaño de archivo

11.0 MB

134 Páginas

21.351 Palabras

119.586 Caracteres



Ing. Darwin Alberto Núñez Torres Mg

TUTOR

10% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.




Filtered from the Report

- ▶ Submitted works

Exclusions

- ▶ 11 Excluded Sources
- ▶ 351 Excluded Matches

Top Sources

- 10%  Internet sources
- 3%  Publications
- 0%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.



Ing. Darwin Alberto Núñez Torres Mg

TUTOR

DEDICATORIA

Dedico la culminación de mis estudios y la realización de este proyecto a mis padres, por su apoyo incondicional y por enseñarme a luchar por mis sueños. A mi madre, especialmente, por su amor inquebrantable y fortaleza, que ha sido mi pilar fundamental. A pesar de su delicado estado de salud, ella ha estado siempre a mi lado, mostrándome valentía y dedicación, y enseñándome que no hay barreras cuando el corazón está lleno de determinación.

A mis hermanos, cuyo apoyo inquebrantable y ejemplo han sido fundamentales en mi vida. Su compañía me ha fortalecido, su motivación me ha impulsado y sus enseñanzas me han guiado en cada paso de mi crecimiento personal y profesional. A mi sobrino, por ser mi mayor fuente de inspiración. Su sonrisa y alegría me impulsan a luchar por un futuro mejor para él, y cada meta que alcanzo es con el deseo de ser un ejemplo a seguir.

A mi prima, quien ha sido como una madre para mí. Su cariño, guía y fortaleza han sido un faro en mi vida, enseñándome a no rendirme y a luchar siempre por mis sueños. Su presencia ha sido un regalo invaluable, y su amor, un refugio en cada paso de este camino.

A mi abuelita, cuya sabiduría y ternura han llenado mi vida de amor y enseñanzas. Sus palabras han sido aliento en los momentos difíciles, y su ejemplo, una inspiración constante. Su amor incondicional es un tesoro que llevaré siempre en mi corazón.

Nataly Mishelle Taco Amangandi

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi familia, por ser mi apoyo y motivación. En especial, a mis padres, quienes me brindaron su respaldo incondicional y siempre inculcarme valores a lo largo de estos años de formación

A mi madre mujer sabia y valiente, que se enfrenta cada adversidad con firmeza y nunca se rinde. Por esos consejos llenos de amor que guía mis pasos, por enseñarme a perseguí mis sueños con determinación y a levantarme ante cualquier caída.

A mi padre, por esas palabras de sabiduría en las madrugadas, por siempre guiarnos en cada paso, por preocuparse y siempre recordare que soy una excelente mujer con cualidades excepcionales.

A mis hermanos y hermanas que siempre me han apoyado tanto económicamente como emocional y nunca me dejaron sola, por siempre ofrecer una sonrisa en tiempos oscuros y contagiándonos de ellos, por ser un ejemplo de humildad y perseverancia. A mi cuñada por ser esa amiga que saca sonrisas y estar cerca apoyándome en este proceso de titulación.

Marylin Veronica Pasto Tandapilco

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por las fuerzas, la vida, la salud y por darme la oportunidad de culminar este importante capítulo de mi vida. Su guía y amor han sido mi mayor inspiración para seguir adelante en cada paso de este proceso.

A mis padres, quienes siempre han estado a mi lado, brindándome su apoyo incondicional y enseñándome a luchar por mis sueños. Gracias por su amor, por ser mi pilar y por motivarme constantemente a no rendirme ante las adversidades. Gracias a ustedes, he aprendido que con esfuerzo y dedicación todo es posible.

A mis hermanos, por su constante apoyo y su ejemplo de superación. Con cada consejo, con cada palabra de aliento, me han ayudado a crecer tanto personal como profesionalmente. Gracias por ser mis compañeros incondicionales en este camino, siempre motivándome a seguir adelante con determinación.

A mi familia en general, por su amor incondicional y por estar siempre presentes, siendo una fuente constante de fortaleza y motivación. Cada uno de ustedes ha sido un pilar importante en mi vida, y me han brindado la inspiración necesaria para continuar luchando por mis metas.

A mis compañeros y amigos, por los momentos compartidos, por las risas, por los desafíos superados juntos. Cada uno de ustedes ha sido una parte fundamental en este proceso. Gracias por su apoyo, por su amistad y por ser un sostén en los momentos difíciles. Estoy seguro de que la amistad que hemos construido perdurará por siempre.

Nataly Mishelle Taco Amangandi

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, doy gracias a Dios por permitirme alcanzar uno de los objetivos más importantes de mi vida: convertirme en profesional. Gracias por tu amor incondicional, por ser mi guía en los momentos más difíciles y por escucharme en mis momentos de decaimiento.

A mis padres, Libia Piedad Tandapilco Rea y Manuel Segundo Pasto Tandapilco, quienes han sido fundamentales para que hoy culmine esta meta. Gracias por su paciencia, por creer en mí incluso cuando yo dudaba, y por no permitir que abandonara mis estudios ante las adversidades. Su ejemplo de valentía y perseverancia ante los obstáculos de la vida ha sido mi mayor inspiración.

A mis hermanos (Darío, Adrián, Karina, Bryan, William, Noelia), a mi cuñada Abigail Álvarez, por su apoyo incondicional, sus consejos y siempre estar a mi lado, en el caso de los menores (Bruno, Daherys, Derek), por llenar nuestro hogar de alegría y motivación.

A mis amigos, quienes me han acompañado desde el inicio de esta carrera, brindándome su respaldo en los momentos más desafiantes y compartiendo tanto las alegrías como también las dificultades.

MarylinVeronica Pasto Tandapilco

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento al Ing. Darwin Núñez, nuestro tutor, por su valiosa guía, compromiso y constante acompañamiento a lo largo de este proceso. Su orientación académica y humana fue esencial para el desarrollo de este trabajo. De igual manera, extendemos nuestro reconocimiento al Ing. Santiago Santos, técnico del laboratorio de investigación, por su apoyo técnico y disposición incondicional, que hicieron posible la ejecución de nuestras prácticas con precisión y responsabilidad.

Agradecemos profundamente a todos los docentes de la Universidad Estatal de Bolívar, quienes, con su conocimiento, paciencia y dedicación, han sido pilares fundamentales en nuestra formación. Gracias por compartir su sabiduría, por sus oportunos consejos y por cada enseñanza impartida, que ha contribuido de manera significativa a nuestro crecimiento profesional.

Nuestro reconocimiento se extiende al proyecto de investigación titulado “Identificación de microorganismos patógenos mediante la técnica m-PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en agua de consumo humano y productos hortofrutícolas de los mercados de Guaranda”, al Departamento de Investigación y al Laboratorio de Biología Molecular, por el respaldo técnico y académico brindado a lo largo del desarrollo de este trabajo.

Finalmente, agradecemos la colaboración de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH), la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) y la Empresa Pública Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Guaranda (EMAPAG), por su valioso apoyo en el proceso de recolección de muestras, sin el cual esta investigación no habría sido posible.

Nataly Taco y Marylin Pasto

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENDIDO	PAG
CAPÍTULO I	1
1.1 Introducción	1
1.2 Problema	3
1.2.1 Planteamiento del problema	3
1.2.2 Formulación del problema	4
1.3 Objetivos	5
1.3.1 Objetivo general	5
1.3.2 Objetivos específicos	5
1.4 Hipótesis	6
1.4.1 Hipótesis nula	6
1.4.2 Hipótesis alterna	6
CAPÍTULO II	7
2 MARCO TEÓRICO	7
2.1 Generalidades del Agua	7
2.1.1 Estructura y propiedades físicas del agua	7
2.2 Tipos de agua	7
2.2.1 Agua potable	7
2.3 Contaminación del agua	10

2.3.1	Tipos de contaminación en el agua	11
2.4	Importancia de la detección temprana de patógenos	12
2.5	Microrganismo	12
2.6	Bacterias	13
2.6.1	Tipos de bacterias	14
2.7	Georreferenciación	20
2.3.1	Tipos de georreferenciación	20
2.4	Ubicación y características Guaranda	21
2.5	Muestreo	22
2.5.1	Tipos de muestreos	23
2.6	Biología molecular	24
2.7	Tipos de cultivos	24
2.7.1	Cultivo puro	24
2.7.2	Cultivo mixto	25
2.8	Técnica de cultivo	25
2.8.1	Filtración por membrana	25
2.8.2	Estriado	26
2.8.3	Siembra en tubos por estría simple	27
2.9	Tipos de Medios	27
2.9.1	Agar EMB (Eosin Methylene Blue)	27

2.9.2	ALOA (Agar Luría-Bertani con Oligoelementos y Ácidos Orgánicos)	27
2.9.3	XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato)	27
2.10	Método de Detección para bacterias	28
2.10.1	Cajas COMPACT DRY	28
2.10.2	Pruebas bioquímicas	29
2.11	PCR convencional (reacción en cadena de polimerasa)	31
2.11.1	Aplicaciones de PCR convencional	31
2.11.2	Componentes para realizar PCR	32
2.11.3	Etapas de PCR	32
2.11.4	Electroforesis	33
	CAPÍTULO III	34
3	MARCO METODOLÓGICO	34
3.3	Ubicación de la investigación	34
3.3.1	Localización de la investigación	34
3.3.2	Zona de vida	34
3.3.3	Situación geográfica	35
3.4	Materiales	35
3.5	Métodos	38
3.5.1	Factores de estudio	38
3.5.2	Muestreo aleatorio	38

3.6	Métodos de evaluación y recolección de datos	39
3.7	Manejo del experimento	40
3.7.1	Obtención de muestras	40
3.7.2	Codificación e identificación de las muestras	40
3.7.3	Registro de las muestras	41
3.8	Análisis microbiológico	43
3.8.1	Identificación de Coliformes totales y fecales	43
3.8.2	Preparación de Medios de Cultivo	43
3.8.3	Filtración por membrana	44
3.8.4	Identificación de presencia o ausencia de colonias	45
3.8.5	Pruebas bioquímicas	45
3.8.6	Extracción del ADN	46
3.8.7	Preparación de Master Mix	47
3.8.8	Análisis molecular (PCR) convencional	48
3.8.9	Electroforesis en gel de agarosa	49
CAPITULO IV		51
4.1	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1.1	Resultados de georreferenciación mediante GPS	51
4.1.2	Análisis microbiológicos	54
4.1.3	Identificación de <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp y <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> en muestras de agua potable de Guaranda.	55

4.1.4	Resultados microbiológicos en pruebas Bioquímicas	58
4.1.5	Resultados de PCR para la identificación molecular de patógenos en muestras de agua potable del casco urbano de Guaranda	62
4.2	COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	69
	CAPITULO V	70
5.1	CONCLUSIONES	70
5.2	RECOMENDACIONES	72
	BIBLIOGRAFÍA	74
	ANEXOS	88

ÍNDICE DE TABLAS

N°	DETALLE	PAG.
1.	Categorización del agua suministrada por la red de distribución.	8
2.	Requisitos establecidos por las normativas NTE INEN 1108.	9
3.	Clasificación de la contaminación causa y efecto en el agua.	11
4.	Descripción de taxonómica de la bacteria de <i>E. coli</i>	15
5.	Descripción de la taxonomía de la <i>Listeria monocytogenes</i> .	17
6.	Descripción de la taxonomía de la bacteria <i>Salmonella</i> spp.	19
7.	Número mínimo de muestras a tomarse de acuerdo a la población servida para el análisis.	23
8.	Principios de las pruebas bioquímicas.	29
9.	Localización de la investigación.	34
10.	Aspectos generales del territorio.	35
11.	Registro de las muestras de agua recolectadas en el Casco Urbano de Guaranda.	42
12.	Secuenciación molecular de las diferentes cepas de bacterianas aisladas.	47
13.	Reactivos específicos utilizados para la detección de <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7 y <i>Salmonella</i> spp. mediante PCR convencional.	48
14.	Condiciones de amplificación térmica en PCR convencional para la detección de <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> spp y <i>Escherichia coli</i> OH:157.	49
15.	Total de muestras a tomarse en cada Ruta.	51
16.	Resultados de georreferenciación de puntos de muestreo mediante dispositivo GPS Garmin.	52

17. Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Compact Dry	54
18. Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Petri en <i>Escherichia coli</i> .	55
19. Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Petri en <i>Salmonella</i> spp.	56
20. Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Petri <i>Listeria monocytogenes</i> .	57
21. Resultados obtenidos mediante la aplicación de pruebas bioquímicas para <i>Escherichia coli</i> .	58
22. Resultados obtenidos mediante la aplicación de pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i> spp.	60
23. Resultados obtenidos mediante la aplicación de pruebas bioquímicas para <i>Listeria monocytogenes</i> .	61
24. Confirmación de presencia de <i>Escherichia coli</i> OH:157, <i>Salmonella</i> spp y <i>Listeria monocytogenes</i> .	62

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	DETALLE	PAG.
1.	Presencia de bacterias en el agua en medios selectivos.	12
2.	Estructura de un microorganismo.	13
3.	Estructura de una Bacteria.	14
4.	Representación Gráfica de la Bacteria <i>E. Coli</i> .	15
5.	Identificación gráfica de bacteria <i>Listeria monocytogenes</i> .	17
6.	Representación gráfica de la <i>Salmonella</i> spp.	18
7.	Bacteria de Coliformes fecales en placas Compact Dry.	20
8.	Puntos de muestreo del casco urbano del Cantón Guaranda.	22
9.	Cultivos puros con un solo tipo de microorganismo.	24
10.	Morfología de diferentes microorganismos.	25
11.	Técnica de filtración por membrana.	26
12.	Técnica de siembra por estriado en medio EMB.	26
13.	Porcentaje de contaminación por Coliformes totales y fecales.	54
14.	Porcentaje de contaminación por <i>Escherichia coli</i> .	55
15.	Porcentaje de Contaminación de <i>Salmonella</i> spp.	56
16.	Porcentaje de Contaminación de <i>Listeria monocytogenes</i>	57
17.	Porcentaje de Confirmación en Pruebas bioquímicas para <i>Escherichia coli</i> .	59
18.	Porcentaje de confirmación en Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i> spp.	60
19.	Porcentaje de Confirmación en Pruebas bioquímicas para <i>Listeria monocytogenes</i> .	61
20.	Porcentaje de Confirmación de la Presencia de Bacterias mediante Análisis de PCR.	63

- 21.** Electroforesis en gel de agarosa correspondiente a PCR realizada para la
detección de *E. Coli*. 64
- 22.** Electroforesis en gel de agarosa correspondiente a PCR realizada para la
detección de *Salmonella* spp. 65
- 23.** Electroforesis en gel de agarosa correspondiente a PCR realizada para la
detección de *Listeria monocytogenes*. 67

ÍNDICE DE ANEXOS

N°	DETALLE	PAG.
1.	Mapa del laboratorio de vinculación de la UEB	88
2.	Mapa del laboratorio general de la UEB	88
3.	Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras de agua	89
4.	Análisis microbiológicos mediante pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Escherichia coli O157:H7</i> .	91
5.	Análisis microbiológicos mediante pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Salmonella</i> spp.	92
6.	Análisis microbiológicos mediante pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Listeria monocytogene</i> .	93
7.	Caracterización bioquímica e identificación mediante pruebas IMViC de las muestras seleccionadas para el análisis de PCR.	94
8.	Ubicación geográfica de las muestras de agua contaminadas analizadas mediante PCR	95
9.	Informe del laboratorio de Investigación en análisis microbiológico de <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonellas</i> spp y <i>Listeria monocytogenes</i>	96
10.	Informe del laboratorio de investigación en análisis de Coliformes totales y fecales	98
11.	Informe de laboratorio para análisis de muestras de agua mediante PCR	100
12.	Evidencia fotográfica del desarrollo del trabajo de investigación	103
13.	Glosario de términos	113

Resumen

El presente proyecto investigativo, evaluación de la calidad microbiológica del agua del casco urbano de Guaranda mediante técnicas de cultivo, caracterización por perfiles bioquímicos y pruebas moleculares PCR, tiene como objetivo evaluar la calidad microbiológica de agua potable de Guaranda mediante la identificación de microorganismo patógenos a través de técnicas de cultivo, perfiles bioquímicos y análisis moleculares (PCR) con el fin de garantizar la seguridad del recurso hídrico. Para ellos se analizaron 50 muestras de agua georreferenciadas de manera aleatorio siguiendo los lineamientos de las normas NTE INEN 2169:2013 (conservación y transporte), NTE INEN 2176:2013 (técnicas de muestreo) e INEN 2176:1998, utilizando así dos metodologías principales para el análisis del agua : Técnica de cultivo donde se emplearon cajas Compact Dry para la detección rápida de Coliformes totales y fecales, siguiendo los protocolos de la ISO 9308-1:2014 , así como medios de cultivo específicos (agar selectivo) para identificación de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes*, validados bajo normativas ISO 11133. Se aplicó técnicas moleculares (PCR) en esta metodología tras la purificación de microorganismo mediante cultivos selectivos y pruebas bioquímicas (incluyendo IMViC), se realizó la amplificación de del ADN utilizando cebadores específicos (Invitrogen) para detectar *Escherichia coli*, *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes*, (incluyendo el serotipo OH157:H7). Como controles, se utilizaron bacterias certificadas proporcionada por el departamento de investigación. Se logró detectar *Escherichia coli* 2% (1/50), *Salmonella* spp 2% (1/50) y *Listeria monocytogenes* 10% (5/50) este resultado se confirmó mediante electroforesis en gel. En conclusión, la presencia de estos patógenos en el agua potable representa un riesgo para la salud, lo que exige implementar medidas de monitoreo y control a las redes de distribución.

Palabra claves: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, Coliformes totales, Coliformes fecales, medios de cultivo, pruebas IMViC, pruebas bioquímicas, PCR.

Abstract

The present research project Evaluation of the microbiological quality of the water in the urban area of Guaranda using culture techniques, characterization by biochemical profiles and molecular PCR tests, aims to evaluate the microbiological quality of drinking water in Guaranda by identifying pathogenic microorganisms through culture techniques, biochemical profiles and molecular analysis (PCR) in order to guarantee the safety of the water resource. For them, 50 georeferenced water samples were analyzed randomly following the guidelines of the NTE INEN 2169: 2013 (conservation and transport), NTE INEN 2176: 2013 (sampling techniques) and INEN 2176: 1998 standards, thus using two main methodologies for water analysis: Culture technique where Compact Dry boxes were used for the rapid detection of total and fecal coliforms, following the protocols of ISO 9308-1: 2014, as well as specific culture media (selective agar) for the identification of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp and *Listeria monocytogenes*, validated under ISO 11133 regulations. Molecular techniques (PCR) in this methodology after the purification of microorganisms through selective cultures and biochemical tests (including IMViC), DNA amplification was carried out using primers specific (Invitrogen) to detect *Escherichia coli*, *Salmonella* spp and *Listeria monocytogenes*, (including serotype OH157:H7). As controls, Certified Batteries provided by the research department were used. *Escherichia coli* 2% (1/50), *Salmonella* spp 2% (1/50) and *Listeria monocytogenes* 9% (5/50) were detected; this result was confirmed by gel electrophoresis. In conclusion, the presence of these pathogens in drinking water represents a health risk, which requires the implementation of monitoring and control measures in distribution networks.

Keywords: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, Total coliforms, Fecal coliforms, Culture media, IMViC tests, Biochemical tests, PCR.

CAPÍTULO I

1.1 Introducción

El agua es un recurso vital esencial; por lo tanto, sus sistemas de procesamiento deben ser evaluados y controlados periódicamente para asegurar su calidad para el consumo alimentario y ayuda a proporcionar agua apta para cocinar, la higiene personal y doméstica, la agricultura y la producción de energía es esencial para proteger la salud y el bienestar humanos (Sierra, 2021). Es crucial que los sistemas de abastecimiento de agua potable y las medidas sanitarias sean apropiado, la calidad del agua es nombrado muchas veces pero es necesario la cuantificación científica, esto ayudara a contribuir prevenir, y reducir la propagación de numerosas enfermedades infecciosas tanto en humanos como en animales (Machado et al., 2022).

La presencia de patógenos en el agua potable representa una amenaza importante para la salud pública. Estos microorganismos pueden incluir bacterias como *E. coli*, *Listeria* spp, *Salmonella monocytogenes*, Coliformes Totales, Coliformes Fecales y otros agentes infecciosos pueden causar enfermedades transmitidas por el agua en la población humana (Gil & Marugán, 2022).

Para identificar los patógenos presentes en este estudio se realizará mediante e cultivo en medios selectivos como agar EMB, XLD, y ALOA seguido de las pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa, rojo de metilo, indol, Voges-Proskauer y citrato para su identificación inicial. Adicionalmente, se empleará la técnica de PCR convencional con una especificidad del 99.9 % para la detección de la precisión de serotipos o especies bacterianas, utilizando electroforesis con SYBR Se Safe (Gil & Marugán, 2022).

La metodología propuesta para la detección de patógenos en aguas destinadas al consumo humano en el casco urbano de Guaranda se basa en un enfoque riguroso y confiable, realizando un muestreo estratégico en varios puntos de agua potable, y un pretratamiento de la muestra para eliminar posibles interferencias, la detección de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp, Coliformes Totales

y Coliformes Fecales se logra mediante medios de cultivo selectivos específicos y pruebas confirmatorias para cada patógeno mismos que se analizaran posteriormente mediante técnicas estadísticas para determinar la prevalencia y concentración de microorganismos en el agua.

Por esta razón el objetivo del estudio es identificar los patógenos presente en el agua potable del Guaranda mediante técnicas de cultivo, caracterización por perfiles bioquímicos y PCR.

1.2 Problema

1.2.1 Planteamiento del problema

El suministro de agua potable de calidad es esencial para la salud y el bienestar de toda la comunidad guarandeña, sin embargo, la presencia de patógenos en el agua de consumo humano representa un riesgo significativo para la salud, pudiendo desencadenar brotes de enfermedades transmitidas por el consumo del agua, entre los patógenos más comunes que se encuentran *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, Coliformes Totales y Coliformes Fecales los cuales pueden causar desde malestares gastrointestinales leves hasta complicaciones graves, especialmente en poblaciones vulnerables.

Según datos recopilados por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (2020), en el último año se registraron un total de 15 brotes de enfermedades transmitidas por agua en el área urbana de Guaranda. Recalde (2022), menciona que, de estos brotes, se confirmó que el 80% estuvo relacionado con la presencia de bacterias patógenas como *E. coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp, Coliformes Totales y Coliformes Fecales en el suministro de agua potable. Además, análisis de calidad del agua realizados por la entidad reguladora local revelaron que el 30% de las muestras tomadas en diferentes puntos del casco urbano de Guaranda presentaron niveles detectables de *E. coli*, mientras que el 20% mostró la presencia de *Listeria monocytogenes* y el 15% la de *Salmonella* spp, superando los límites permitidos por las normativas de calidad del agua (Recalde, 2022).

1.2.2 Formulación del problema

En el casco urbano de Guaranda, como en muchas otras áreas urbanas y semiurbanas, la calidad del agua de consumo puede verse comprometida debido a diversas actividades humanas, prácticas agrícolas, deficiencias en la infraestructura de saneamiento y otros factores ambientales, la detección oportuna y precisa de la presencia de estos patógenos es crucial para prevenir brotes de enfermedades y proteger la salud de la población, la implementación de esta gestión garantizará un suministro de agua saludable para las comunidades aledañas.

Estudios previos han identificado la presencia de estos patógenos como una primera etapa en el agua de consumo humano, realizando un seguimiento en el sector. Según la normativa INEC 1108, se establecen los límites máximos de Coliformes totales, Coliformes fecales, *Cryptosporidium* y parásitos permitidos en el agua. Estas bacterias y parásitos son los principales encontrados; sin embargo, debido a las actividades agrícolas y pecuarias de la zona, también se detectan *Listeria monocytogenes*, *E. coli* y *Salmonella* spp.

Por lo que para esta investigación se plantea la siguiente pregunta, ¿Cómo se puede detectar de manera efectiva la presencia de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, Coliformes Totales y Coliformes Fecales en agua de consumo humano en el casco urbano de Guaranda mediante técnicas de cultivo en medios específicos, ¿considerando las condiciones locales y los posibles factores ambientales que podrían influir en la detección?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar la calidad microbiológica del agua del casco urbano de Guaranda mediante técnicas de cultivo, caracterización por perfiles bioquímicos y pruebas moleculares (PCR), con el fin de determinar la presencia de patógenos y establecer el nivel de contaminación bacteriana.

1.3.2 Objetivos específicos

- Georreferenciación de sitios específicos y toma de muestras para el análisis de aguas en el casco urbano del Cantón Guaranda.
- Realizar un análisis microbiológico utilizando técnicas de cultivo para el aislamiento y detección de *E. Coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, Coliformes totales y fecales.
- Confirmar los patógenos mediante pruebas bioquímicas.
- Realizar la caracterización molecular de los aislados microbianos obtenidos por PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

1.4 Hipótesis

1.4.1 Hipótesis nula

No existe presencia significativa de contaminantes microbiológicos en el agua del casco urbano de Guaranda.

1.4.2 Hipótesis alterna

Si existe presencia significativa de contaminantes microbiológicos en el agua del casco urbano de Guaranda.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades del Agua

El agua, una sustancia líquida presente en la naturaleza, cubre aproximadamente el 71% de la superficie del planeta. Su composición química, representada por la fórmula H_2O , está formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno (Badín et al., 2021). Esta molécula posee una estructura dipolar, característica que le confiere la capacidad de disolver una amplia variedad de sustancias, razón por la cual se la denomina comúnmente como el "disolvente universal" (Suárez, 2021).

2.1.1 Estructura y propiedades físicas del agua

El agua posee una estructura singular. En su estado líquido, constantemente se forman y rompen enlaces de hidrógeno entre sus moléculas, lo que la mantiene fuertemente cohesionada. Cada molécula de agua tiene la capacidad de establecer hasta 4 enlaces de hidrógeno con otras moléculas, similar a lo que ocurre en el hielo. Estos enlaces de hidrógeno son los responsables de las propiedades únicas del agua. A pesar de ser una molécula pequeña y de bajo peso molecular, gracias a estos enlaces, el agua presenta puntos de ebullición y fusión excepcionalmente altos (Salas et al., 2020).

2.2 Tipos de agua

2.2.1 Agua potable

El agua potable constituye un recurso esencial para el bienestar y salud pública a nivel global, al ser un líquido libre de agente patógenos como parásitos, bacterias y otros contaminantes que pueden comprometer la salud humana. Su condición de aptitud para el consumo se garantiza mediante procesos físicos químicos de tratamiento, que incluye etapas como filtración, desinfección entre otros. Dentro de sus propiedades organolépticas y composición, el agua potable debe carecer de color, olor y sabor, así como microorganismos patógenos como bacterias, virus protozoarios y sustancias químicas nocivas, no obstante, debe contener minerales

esenciales, como calcio y magnesio en concentraciones optimas que contribuyan a la salud sin ningún riesgo (Angulo, 2021).

Tabla 1.

Categorización del agua suministrada por la red de distribución.

Calidad del Agua Sistema de Distribución	Proporción % de Análisis Negativos		
	<500	5000 - 100,000	> 100,000
Excelente	90	95	99
Buena	80	90	95
Peligrosa	70	85	90
Mala	60	80	85

Fuente. Mora, (2024).

2.2.1.1 Calidad del agua potable

La calidad del agua potable se define por sus características físicas, químicas y microbiológicas, las cuales deben ajustarse a normas específicas para asegurar su idoneidad para el consumo humano. Estas normas también contemplan aspectos como la transparencia, el sabor y el olor del agua. Salud y agua son aspectos primordiales que están estrechamente relacionados con la calidad de vida de las personas. Según las normativas NTE INEN 1108 establece los requisitos que se debe cumplir en el agua potable para que sea de consumo humano (Mora, 2024).

Tabla 2.*Requisitos establecidos por las normativas NTE INEN 1108.*

Parámetro	Unidad	Límite máximo permitido
Características físicas		
Color	Unidades de color aparente (Pt-Co)	15
Turbiedad	NTU	5
Olor	-----	No objetable
Sabor	-----	No objetable
Inorgánico		
Antimonio, Sb	mg/L	0,02
Arsénico, As	mg/L	0,01
Bario, Ba	mg/L	0,7
Boro, B	mg/L	2,4
Cadmio, Cd	mg/L	0,003
Cianuros, CN-	mg/L	0,07
Cloro libre residual*	mg/L	0,3 a 1,5
Cobre, Cu	mg/L	2
Cromo, Cr (cromo total)	mg/L	0,05
Fluoruros	mg/L	1,5
Mercurio, Hg	mg/L	0,006
Níquel, Ni	mg/L	0,07
Nitratos, NO ₃ -	mg/L	50
Nitritos, NO ₂ -	mg/L	3
Plomo, Pb	mg/L	0,01
Radiación total α *	mg/L	0,5
Radiación total β **	mg/L	1
Selenio, Se	mg/L	0,04

Fuente. INEN, (2020).

2.3 Contaminación del agua

La contaminación del agua es por la presencia de agentes químicos, físicos o biológicos que son perjudiciales para la salud o el bienestar de la población, de la vida animal o vegetal. La calidad se ven alteradas normalmente por vertimiento de aguas residuales, disposición final de residuos sólidos, y agroquímicos que por la corriente se desplaza hacia las vertientes de agua (Giler et al., 2020).

Las contaminaciones en las costas, la sierra y la amazonia de ecuador es un problema complejo con múltiples causas, tanto naturales como humano. En la costa es debido a pesticidas y fertilizantes, en la sierra la contaminación es causada por la actividad agrícola y ganadera, y en la amazonia la contaminación se debe principalmente a actividades petrolero y la minería, así como la deforestación y expansión agrícola (Sánchez, 2023).

Se ha confirmado que las principales fuentes contaminadas son por:

- Desechos industriales
- Aguas residuales
- Desechos Alimentarios
- Desechos Veterinarios
- La disposición de residuos sólidos
- Fertilizantes y pesticidas.

Estos contaminantes pueden ser clasificados como patógenos, orgánicos e inorgánicos, aniones y cationes, hidrocarburos aromáticos, policíclicos y bifenilos policlorados, entre otros (Velázquez et al., 2022).

2.3.1 Tipos de contaminación en el agua

Tabla 3.

Clasificación de la contaminación causa y efecto en el agua.

TIPOS DE CONTAMINANTE	CAUSAS	EFEECTO	
Físico	Térmico	Vertimientos industriales	Al elevar la temperatura (°T), se reducen los niveles de oxígeno disuelto, incrementa las actividades biológicas y químicas y pone en riesgo la existencia de fauna susceptible a cambios de (°T)
	Sólidos suspendidos	Vertimientos industriales, arrastre de material, procesos erosivos	Depósito en cuerpos hídricos alterando, por ejemplo, el nivel de profundidad. incremento del nivel de turbidez
Químico	Plomo	Vertimientos industriales	Las medidas extremas de acidez o alcalinidad pueden ser nocivas para la fauna y la flora
	Ácidos		
Biológicos	Microbiológicos	Vertimientos industriales domésticos, actividades pecuarias.	Los microorganismos patógenos causan enfermedades en seres humanos y animales.

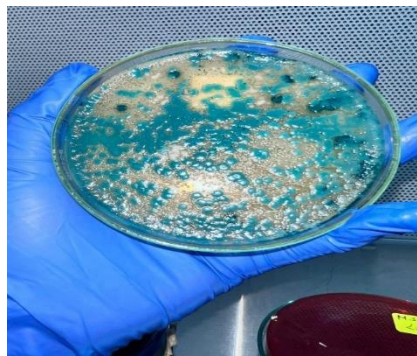
Fuente. Mamani, (2023).

2.4 Importancia de la detección temprana de patógenos

La detección de patógenos en el agua potable es crucial para asegurar la salud pública, patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* OH:157 y *Salmonella* spp, Coliformes Totales y Fecales, pueden causar daños gastrointestinales en los seres humanos, la presencia de estos microorganismos en el agua destinada al consumo humano puede desencadenar brotes de enfermedades transmitidas por el agua y representar un riesgo considerable para la población (Núñez, 2023).

Figura 1.

Presencia de bacterias en el agua en medios selectivos.



Fuente. Autoría Propia Pasto &Taco.

La población en general, así como grupos vulnerables como niños, ancianos y personas con sistemas inmunológicos debilitados, se benefician significativamente de la protección que brinda el monitoreo y la detección temprana de patógenos en los suministros de agua. Estos grupos son especialmente susceptibles a enfermedades transmitidas por el agua, por lo que garantizar la calidad del agua es crucial para su salud y bienestar (Brossard et al., 2020).

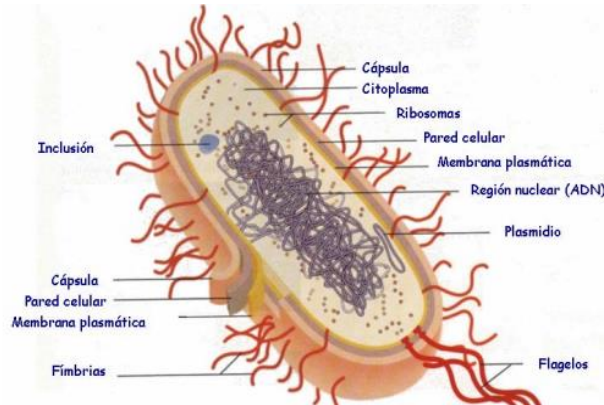
2.5 Microorganismo

Son seres vivos diminutos, invisibles a simple vista, que habitan en todos los ecosistemas terrestres. Estos organismos desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento del equilibrio biológico del planeta. Su identificación y estudio requieren el uso de instrumentos ópticos como el microscopio. Los microorganismos son esenciales en diversos campos como la medicina, la biotecnología, la agricultura, la protección ambiental y la industria alimentaria.

Algunos microorganismos, como las bacterias, están formados por una sola célula (unicelulares), mientras que otros, como los hongos y las algas, están compuestos por múltiples células (pluricelulares) (Molina et al., 2021).

Figura 2.

Estructura de un microorganismo.



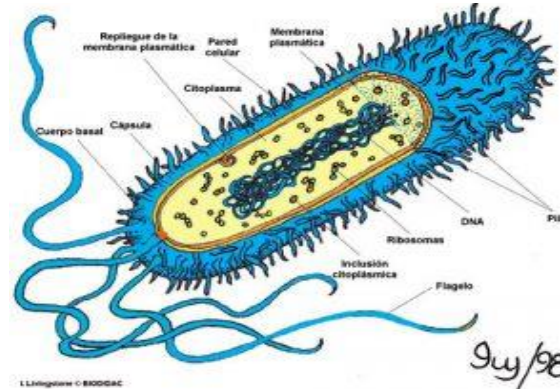
Fuente. Molina et al., (2021).

2.6 Bacterias

Son organismos unicelulares invisibles, formados por una sola célula, que no poseen una membrana que rodee su material genético. Cuando algunas de estas bacterias, o ciertos virus, son capaces de provocar enfermedades, se les denomina patógenos. Estos patógenos pueden entrar en el cuerpo humano a través de la piel, los ojos, la nariz, la boca o el sistema genitourinario (Martínez, 2020). Las bacterias patógenas son aquellas que poseen un grupo reducido de genes de virulencia y un mecanismo patogénico que les permite desarrollarse y replicarse en el organismo huésped, ocasionando enfermedades, estas bacterias patógenas también pueden producir proteínas altamente tóxicas para los seres humanos, como la toxina Shiga, que es producida por la bacteria *Escherichia coli*, y puede provocar gastroenteritis y el síndrome hemolítico-urémico (Cortés et al., 2021).

Figura 3.

Estructura de una Bacteria.



Fuente. Molina & Uribarren, (2020).

2.6.1 Tipos de bacterias

2.6.1.1 *Escherichia coli* OH:157

E. Coli, un bacilo gramnegativo que forma parte de la familia *Enterobacteriácea* que causa infecciones como intoxicaciones alimentarias además esta bacteria es una facultativa anaeróbica, móviles, no formadoras de esporas, mesófila y ubicuo que puede ser móvil o inmóvil, además, crece en una temperatura óptima de 37°C y es capaz de fermentar azúcares simples, algunas especies de *E. Coli* tienen flagelos peritricos que les facilitan el movimiento, mientras que otras no tienen flagelos peritricos (Sanz, 2020).

2.6.1.1.1 Características de *Escherichia coli*

La bacteria *E. coli* se considera un bacilo gramnegativo corto, no esporuladas, cuyo tamaño varía entre 1,1 a 1,5 μm por 2 a 6 μm , en las que son móviles debido a la presencia de flagelos peritricos, también tiene un metabolismo respiratorio fermentativo, en el que son capaces de fermentación con producción de ácidos y gas con presencia de glucosa, maltosa, manitol y arabinos (Da Silva & Mendes, 2022).

Aperador (2021) mencionan que esta bacteria está vinculada como una de las principales causas de infecciones neonatales y causantes de diarrea en los niños hasta el momento sus características de patógena se reconocen en seis categorías:

- *Escherichia coli* entero patógena típica y atípica.

- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC).
- *Escherichia coli* entero agregativa (EAEC).
- *Escherichia coli* entero difusa.
- *Escherichia coli* productora de toxinas Shiga.
- *Escherichia coli* entero invasora

La primera enfermedad humana detectada fue causada por la ECEH en 1982

Figura 4.

Representación Gráfica de la Bacteria E. Coli.



Fuente. Sanz, (2020).

2.6.1.1.2 Taxonomía de la bacteria *E. coli*

Tabla 4.

Descripción de taxonómica de la bacteria de E. coli.

Taxonomía de <i>E. coli</i>	
Dominio	Bacteria
Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gmma proteobacteria
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genero	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>Escherichia coli</i>

Fuente. Ushca, (2023).

2.6.1.2 *Listeria monocytogenes*

Es un patógeno transmitido por los alimentos, causante de la enfermedad llamada *listeriosis*, esta enfermedad puede manifestarse tanto en infecciones esporádicas como en brotes, y tiene una tasa de mortalidad significativa del 20% al 30% a nivel mundial, debido a que es mortal para los humanos porque es un patógeno intracelular que invade no solo las células intestinales, sino también otros órganos como el bazo, el cerebro, la placenta en mujeres embarazadas y el hígado, donde la bacteria se reproduce (Osek et al., 2022).

De los patógenos transmitidos por los alimentos, que suelen tener una alta morbilidad, pero una baja tasa de mortalidad, *Listeria monocytogenes* es un patógeno de gran relevancia para la salud pública, causa la enfermedad conocida como *listeriosis*, la alta tasa de mortalidad hace que el diagnóstico de un solo caso de la enfermedad ya se considere una enfermedad de riesgo (Vidal et al., 2020).

2.6.1.2.1 Características fisicoquímicas de la *Listeria monocytogenes*

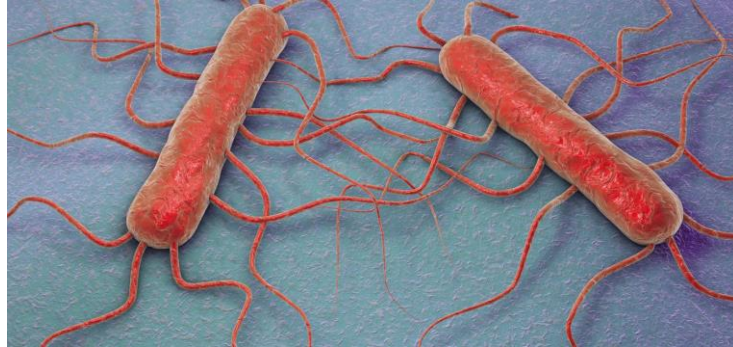
L. monocytogenes es una bacteria Gram- positivo, anaerobias facultativas en las cuales hay 21 especies, capaz de sobrevivir en los fagocitos profesionales, escapando de su vacuola de internalización mediante la acción de la toxina no forma esporas, ni tiene capsula, es móvil solo a temperaturas de 10 a 25 °C tendiendo la capacidad de sobrevivir a condiciones extremas de pH de 4,4, a 9,4 en concentraciones superiores al 20 % de sal y temperatura (Lecuit, 2020). Además, la listeria produce alrededor de 25 proteínas internalinas diferentes incluyendo InlA, InlB, InlC, InlF. Tiene también la capacidad de inhibir activamente su internalización (llamadas también entrada) en células no fagocíticas células, incluidas las células epiteliales intestinales, los hepatocitos y la placenta (Ireton et al., 2021).

Se destaca por su capacidad para atravesar barreras corporales como la intestinal, la placentaria y la hematoencefálica, gracias a dos proteínas en su superficie que le permiten invadir células no fagocíticas. Para causar infección, necesita una dosis de

entre 10^4 y 10^6 UFC/g, y puede provocar meningoencefalitis, septicemia y aborto, afectando especialmente a personas vulnerables (Corte, 2020).

Figura 5.

Identificación gráfica de bacteria Listeria monocytogenes.



Fuente. Schoder et al., (2022).

2.6.1.2.2 Taxonomía de *Listeria monocytogenes*

Tabla 5.

Descripción de la taxonomía de la Listeria monocytogenes.

Taxonomía de listeria	
Dominio	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	<i>Listeriaceae</i>
Genero	<i>Listeria</i>

Fuente. Schoder et al., (2022).

2.6.1.3 *Salmonella spp*

La *Salmonella spp*, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, es un género de bacterias gramnegativas con forma de bastón que no forman esporas y son anaerobias facultativas. Estas bacterias, conocidas por su capacidad para fermentar

glucosa y otros azúcares, son una de las principales causas de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial, generando un impacto negativo en la salud y la economía(Silva et al., 2020).

2.6.1.3.1 Características fisicoquímico de la *Salmonella* spp

Salmonella spp es un grupo de bacterias Gram-negativas con forma de bastones, que miden entre 0.7-1.5 μm de ancho y 2-5 μm de largo. La mayoría de estas bacterias son móviles debido a la presencia de flagelos peritricos, y aunque no forman cápsula, algunas cepas pueden desarrollar una capa superficial de polisacáridos (González et al., 2022). Desde el punto de vista bioquímico, son microorganismos facultativamente anaerobios que fermentan glucosa, generando ácido y gas, pero no fermentan lactosa. Muchas cepas también producen sulfuro de hidrógeno (H_2S), lo que se puede observar en medios como el agar triple azúcar hierro (TSI). Estas bacterias son catalasas positivas y oxidasas negativas (Quintana et al., 2023).

En términos de resistencia y condiciones de crecimiento, *Salmonella* spp puede desarrollarse en un rango de temperaturas entre 5°C y 47°C, con una temperatura óptima de 35-37°C, y sobrevive en un rango de pH de 4.0 a 9.0. Aunque son sensibles al calor, pueden tolerar concentraciones de sal de hasta 8% y persistir durante semanas en ambientes húmedos y fríos, como el agua o el suelo. Su hábitat natural es el intestino de animales y humanos, y su transmisión ocurre principalmente a través de alimentos o agua (Ehuwa et al., 2021).

Figura 6.

Representación gráfica de la Salmonella spp.



Fuente. Ortega, (2020).

2.6.1.3.2 Taxonomía de la *Salmonella* spp

Tabla 6.

Descripción de la taxonomía de la bacteria Salmonella spp.

Taxonomía de <i>Salmonella</i> spp	
Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Genero	<i>Salmonella</i> spp
Especie 1	<i>Salmonella</i> entérica

Fuente. Quintana et al., (2023).

2.6.1.4 Coliformes

Se constituyen en una familia de bacterias que habitan en grandes cantidades en el medio ambiente. su presencia en cuerpos de agua se asocia en una gran cantidad de casos a un cierto nivel de contaminación, normalmente ligada a la descarga de aguas negras residuales o heces de animales y humanos. La presencia de bacterias Coliformes en el agua, especialmente las fecales como *Escherichia coli*, indica contaminación, generalmente por aguas residuales o heces. Estas bacterias son un indicador de riesgo para la salud humana, ya que pueden causar enfermedades graves como insuficiencia renal, fiebre tifoidea, poliomielitis, hepatitis y salmonelosis (Pino et al., 2021).

2.6.1.4.1 Coliformes totales

Son un grupo de bacterias gramnegativas anaeróbicas facultativas que no forman esporas, por eso estas bacterias se encuentran comúnmente en el ambiente acuático, el suelo y la vegetación, así como en los intestinos de los mamíferos, incluidos los humanos, los Coliformes totales se utilizan en muchos países como un indicador de

la calidad del agua y siguen siendo empleados, hasta cierto punto, como un parámetro regulatorio (Chavarría et al., 2023).

2.6.1.4.2 Coliformes Fecales

Estas bacterias también se conocen como Coliformes fecales porque, en general, provienen del intestino de ciertos animales. Por ello, se encuentran presentes en la materia fecal, dado que su origen es fecal las bacterias Coliformes termo tolerantes, especialmente *Escherichia coli*, son un indicador muy eficaz y claro de la contaminación de cuerpos de agua por materia fecal (Centeno & Quispe, 2021).

Figura 7.

Bacteria de Coliformes fecales en placas Compact Dry.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

2.7 Georreferenciación

Es un proceso mediante el cual se determina y asigna una ubicación específica en la superficie terrestre, utilizando un sistema de coordenadas geográficas (como latitud y longitud) o un sistema de referencia espacial. Este proceso permite identificar de manera precisa la posición de un objeto, lugar o fenómeno en un mapa o en un sistema de información geográfica (SIG) (Betancurth et al., 2023).

2.3.1 Tipos de georreferenciación

➤ Georreferenciación métrica

También conocida como georreferenciación continua, se fundamenta en el uso de coordenadas para identificar ubicaciones específicas en la superficie terrestre. Cada punto en la Tierra puede ser definido de manera precisa mediante un sistema de

coordenadas, lo que permite una representación exacta de su posición. Este tipo de georreferenciación es la base de los sistemas de información geográfica (GIS), los cuales almacenan conjuntos de datos espaciales referenciados mediante coordenadas (Bolaños, 2022).

➤ **Georreferenciación Indirecta**

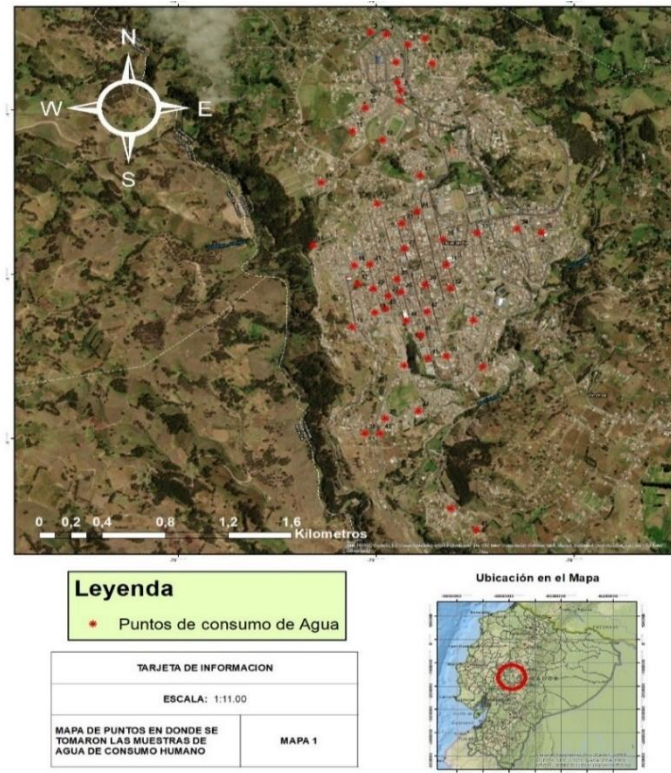
Los métodos de georreferenciación indirecta permiten recuperar ubicaciones georreferenciadas mediante el uso de datos de atributos asociados, como direcciones, nombres de lugares o características descriptivas. Estos métodos son útiles cuando no se dispone de coordenadas directas, pero se cuenta con información adicional que puede vincularse a una ubicación geográfica específica (Bolaños, 2022).

2.4 Ubicación y características Guaranda

Guaranda es una ciudad ubicada en la provincia de Bolívar, en el centro de Ecuador. Su casco urbano está situado en un valle rodeado de montañas, a una altitud sobre de 2.668 msnm (Saltos, 2020). La ciudad alberga aproximadamente 70.000 habitantes y se caracteriza por una arquitectura colonial bien conservada, el clima es templado durante todo el año, con temperaturas promedio que oscilan entre 15°C y 21°C, siendo agosto el más seco y diciembre el más lluvioso, la economía de la ciudad se basa principalmente en la agricultura, la ganadería y el comercio, y es conocida por sus productos lácteos, textiles y artesanías (Ballesteros, 2020).

Figura 8.

Puntos de muestreo del casco urbano del Cantón Guaranda.



Fuente. Autoría de Pasto &Taco.

2.5 Muestreo

El muestreo implica una serie de pasos metódicos que buscan garantizar la veracidad de los datos y el manejo apropiado del porcentaje aplicado a una población específica. Esta segmentación permite obtener información que refleje las características particulares del objeto de estudio. El objetivo principal del muestreo es lograr una representación gráfica o estadística de una población determinada (población X), definiendo parámetros y características que se establecen durante el proceso metodológico diseñado por el investigador. De esta manera, se asegura que los resultados obtenidos sean confiables y representativos de la población en cuestión (Mercado & Coronado, 2021).

Tabla 7.

Número mínimo de muestras a tomarse de acuerdo a la población servida para el análisis.

Población	NÚMERO TOTAL DE MUESTRAS POR AÑO
< 5 000	12
5 000 – 100 000	12 por cada 5 000 personas
> 100 000 – 500 000	120 más 12 por cada 10 000 personas
> 500 000	600 más 12 por cada 100 000 personas

Fuente. INEN, (2020).

2.5.1 Tipos de muestreos

2.5.1.2 Muestreo Probabilístico

En este método, todas las muestras o individuo tienen la probabilidad de ser seleccionado en el estudio a través de una selección al azar.

- **Muestreo aleatorio**

Este tipo de muestreo se caracteriza por garantizar que todos los elementos de la población tengan la misma oportunidad de ser seleccionados lo que permite obtener una muestra representativa y minimizar posibles sesgos. Esta técnica es recomendable cuando la población o área de estudio presenta características homogéneas o uniformes, ya que asegura una distribución equitativa de los datos (Mercado & Coronado, 2021).

2.5.1.3 Muestreo no probabilístico

En este tipo de muestreo, las unidades experimentales se seleccionan con base en un criterio específico y no al azar, lo que significa que no todos los individuos de la población tienen la misma probabilidad de ser incluidos en el estudio. Este método es útil cuando no se dispone de una lista completa de la población o cuando se requiere seleccionar muestras con características particulares (Hernández, 2021).

2.6 Biología molecular

Rama de la biología que estudia los procesos que se desarrollan en los seres vivos desde un punto de vista molecular. En otras palabras, busca entender cómo las moléculas, el ADN, el ARN y las proteínas, interactúan entre sí para dar lugar a la vida, donde el agua es una molécula neutra, pero, al estar formada por un elemento muy electronegativo, el oxígeno, y por otro electropositivo, el hidrógeno, tienen un carácter dipolar. Es decir, la molécula se comporta como si por un extremo tuviera carga negativa y, por el otro, carga positiva (Codony, 2021).

2.7 Tipos de cultivos

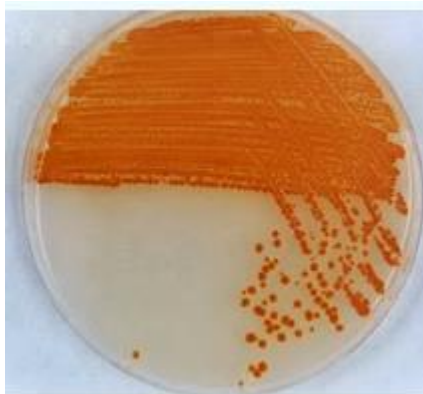
En microbiología, los cultivos son métodos esenciales para estudiar y manipular microorganismos como bacterias, hongos y virus en un entorno de laboratorio controlado, existen diferentes tipos de cultivos.

2.7.1 Cultivo puro

Cultivo puro también conocido como axénico es un tipo de cultivo microbiológico en el que solo crece una única especie de microorganismo, estos cultivos son esenciales en diversas áreas de la microbiología y biotecnología, estos cultivos son herramientas que permiten el estudio y la manipulación de una sola especie de microorganismo (Leza et al., 2022).

Figura 9.

Cultivos puros con un solo tipo de microorganismo.



Fuente. Ortega, (2020).

2.7.2 Cultivo mixto

Es un ecosistema donde coexisten diferentes especies de microorganismos desarrollándose simultáneamente a la par de un mismo medio de cultivo dentro del cultivo mixto destacan sus características como es la diversidad taxonómica, interacciones interespecíficas, complejidad analítica y dinámica poblacional. Estos cultivos se les puede encontrar en suelo, agua, intestino humano o los biofilms. El estudio de estos cultivos no permite comprender la estructura, función y dinámica, se ha utilizados estos cultivos para tratamientos de residuos en plantas de tratamiento residual (Pedraza & Poveda, 2020).

Figura 10.

Morfología de diferentes microorganismos.



Fuente. Nakon (2025).

2.8 Técnica de cultivo

Son métodos muy importantes en el área de microbiología el cual nos permite aislar, identificar y estudiar microorganismos, como las bacteria, hongos y levaduras a partir de las muestras que se recolectaran.

2.8.1 Filtración por membrana

La técnica de filtración por membrana funciona mediante un mecanismo que permite capturar microorganismos en la superficie de una membrana, siempre que su tamaño sea mayor al de los poros ($0.45 \mu\text{m}$). Esto se logra gracias a una bomba eléctrica que aplica una presión diferencial sobre la muestra de agua, facilitando su filtración. Los microorganismos más pequeños que el tamaño de los poros pueden atravesar la membrana o quedar atrapados en su interior, mientras que las bacterias

se retienen en la superficie. Posteriormente, la membrana se coloca en un medio selectivo, donde, a través del intercambio metabólico y un proceso de incubación, se hace evidente el crecimiento de microorganismos y la formación de unidades colonizadoras (Minaya, 2020).

Figura 11.

Técnica de filtración por membrana.



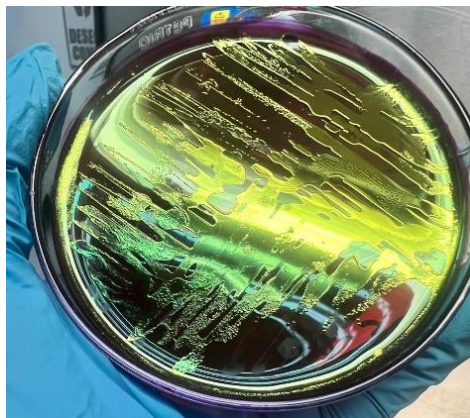
Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

2.8.2 Estriado

Es una técnica básica y esencial en microbiología que se emplea para separar y cultivar microorganismos a partir de una mezcla que contiene diversas especies. Este método permite el crecimiento de colonias aisladas de bacterias en un medio sólido, lo que simplifica su identificación y análisis posterior (Cruz, 2024).

Figura 12.

Técnica de siembra por estriado en medio EMB.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

2.8.3 Siembra en tubos por estría simple

Esta técnica se realiza en un tubo que contiene un medio de agar sólido inclinado en bisel. Consiste en deslizar el asa de siembra sobre la superficie del medio de manera controlada, formando surcos o estrías. Su principal objetivo es favorecer el crecimiento de microorganismos en condiciones óptimas para su observación y posterior identificación (Quenta, 2020).

2.9 Tipos de Medios

2.9.1 Agar EMB (Eosin Methylene Blue)

Es un medio de cultivo que se utiliza para el crecimiento y la diferenciación de bacterias, especialmente *Escherichia coli*, este medio contiene eosina y azul de metileno, que son dos colorantes que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas y permiten distinguir entre bacterias que fermentan lactosa y sacarosa. Según la ANVISA (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria) para el control de infecciones relacionadas con la salud el medio EMB es selectivo el cual nos indica que se debe incubar durante 48 h a 35°C donde se observara que el primer medio representa unas colonias de color verde metálico brillante y el segundo un color rojo oscuro, por ello es necesario realizar las pruebas bioquímicas para su confirmación de la bacteriana (Souza et al., 2025).

2.9.2 ALOA (Agar Luria-Bertani con Oligoelementos y Ácidos Orgánicos)

El medio ALOA de *L. monocytogenes* crece en forma de colonias de color verde azulado con un halo opaco debido a la actividad de la fosfatidil inositol fosfolipasa C. El medio ALOA contiene dos reactivos selectivos X-Glucopiranosido, un sustrato para la β -glucosidasa por lo que las colonias adquieren un color verde azulado y fosfatidilinositol, un sustrato para la fosfolipasa. Cabe señalar que la listeria spp no posee actividad fosfolipasa (Medvid et al., 2024).

2.9.3 XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato)

El agar XLD, o agar xilosa lisina desoxicolato, es un medio de cultivo selectivo y diferencial que se utiliza para aislar y diferenciar enterobacterias, especialmente especies de *Salmonella*. Este medio contiene xilosa, lactosa y sacarosa como

fuentes de carbono, y su fermentación produce ácido que cambia el color del indicador de pH rojo de fenol de rojo a amarillo (Anselmo et al., 2020). Además, contiene tiosulfato y sales de hierro que reaccionan con el sulfuro de hidrógeno (H₂S) producido por algunas bacterias, formando un precipitado negro. El desoxicolato de sodio presente en el medio inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas, lo que lo hace selectivo para enterobacterias. En general, las enterobacterias patógenas, a excepción de *Shigella*, fermentan la xilosa, lo que resulta en un cambio de color amarillo en el medio debido a la producción de ácido (Ramos, 2023).

2.10 Método de Detección para bacterias

2.10.1 Cajas COMPACT DRY

Es un sistema innovador de placas de cultivo microbiológico que ha revolucionado la manera en que se detectan y cuantifican microorganismos en diversas muestras, como alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Estas placas miniaturizadas ofrecen una alternativa práctica y confiable a los métodos tradicionales de cultivo (Bravo et al., 2023).

Ventajas de las Cajas Compact Dry

- **Reducción de volumen:** Al poder compactarse, estas cajas permiten almacenar más productos en el mismo espacio, lo que resulta en una mayor eficiencia en la cadena de suministro.
- **Menor consumo de materiales:** Al reducir el espacio ocupado por los productos, se requiere una menor cantidad de material para fabricar los envases, lo que contribuye a la sostenibilidad.
- **Mayor protección del producto:** Gracias a su diseño, las Cajas Compact Dry ofrecen una mayor protección a los alimentos, evitando que se dañen o se aplasten durante el transporte.
- **Facilidad de uso:** Estas cajas son fáciles de abrir, cerrar y compactar, lo que las hace muy prácticas para los consumidores.

2.10.2 Pruebas bioquímicas

Existen diversas pruebas bioquímicas sencillas y rápidas que se pueden realizar en colonias aisladas de microorganismos cultivados en medios de laboratorio. Estas pruebas permiten diferenciar preliminarmente entre grupos de microorganismos o especies bacterianas. Además, los resultados de estas pruebas pueden ayudar a determinar qué técnicas adicionales se necesitan para lograr una identificación definitiva del microorganismo en cuestión (Mellado, 2020).

Tabla 8.

Principios de las pruebas bioquímicas.

Pruebas Bioquímicas	Principio
Catalasa	Presencia de enzima de catalasa
Oxidasa	Capacidad de producir la enzima citocromo oxidasa
Indol	Separación del indol a partir del triptófano
Rojo de metilo	Capacidad para producir y mantener estable los ácidos finales, a partir de la fermentación de glucosa
Voges-Proskauer	Capacidad para producir un producto final neutro, acetilmetilcarbinol, a partir de la fermentación de la glucosa
Citrato	Capacidad de un microorganismo de producir la enzima citrato permeasa

Fuente: Trujillo & Beltrán, (2023).

- **Catalasa**

La catalasa es una enzima encargada de acelerar la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. Este compuesto, el H_2O_2 , se genera como

producto residual del metabolismo aeróbico de los carbohidratos y resulta tóxico para las bacterias si se acumula en concentraciones elevadas. La mayoría de los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos tienen la capacidad de producir esta enzima. La prueba de catalasa, utilizada en microbiología, permite identificar si un microorganismo sintetiza dicha enzima, observando si transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Este método es valorado por su rapidez y simplicidad, siendo fundamental para diferenciar bacterias según su capacidad metabólica (Cepeda et al., 2022).

- **Oxidasa**

Las pruebas de oxidasa son herramientas fundamentales en el laboratorio de microbiología para identificar y clasificar las bacterias, estas pruebas se basan en la detección de una enzima llamada citocromo oxidasa que juega un papel crucial en la cadena de transporte de electrones durante la respiración celular de algunas bacterias (Cepeda et al., 2022).

- **Citrato de Simmons**

Estas pruebas se basan en la capacidad de un microorganismo para utilizar el citrato de sodio como su única fuente de carbono para llevar a cabo su metabolismo y crecimiento. Un resultado positivo se manifiesta mediante la aparición de un color azul oscuro en un plazo de 24 a 48 horas en el medio original, que es de color verde. Este cambio de color indica que el microorganismo ha sido capaz de utilizar el citrato presente en el medio (González et al., 2023).

- **Indol**

Las pruebas de indol son herramientas valiosas debido a su simplicidad, rapidez y bajo costo. Proporcionan información importante sobre las características metabólicas de las bacterias, lo que ayuda a los microorganismos a identificar y clasificarlas. Estas pruebas son cruciales para identificar enfermedades infecciosas, la selección de tratamiento antibióticos adecuados y la investigación microbiológica en general (Acharte, 2023).

- **Voges proskauer y Rojo de metilo**

La prueba que se describe utiliza el medio de cultivo MR-VP para distinguir entre bacterias Coliformes basándose en los resultados de las pruebas de Rojo de Metilo (MR) y Voges-Proskauer (VP). En 1915, Clark y Lubs descubrieron que las bacterias Coliformes de la familia aerógenos podían clasificarse en dos grupos según su reacción en un medio con dextrosa y peptona (Trujillo & Beltran, 2023).

Al utilizar el Rojo de Metilo como indicador de pH, observaron que un grupo de Coliformes producía una gran cantidad de ácido, mientras que el grupo *aerógenos* generaba una reacción menos ácida. La prueba para identificar a las bacterias que producen mucho ácido se conoce como Rojo de Metilo (MR). Por otro lado, la prueba para detectar a las bacterias que producen menos ácido se basa en el procedimiento desarrollado por Voges y Proskauer (Trujillo & Beltran, 2023).

2.11 PCR convencional (reacción en cadena de polimerasa)

PCR o reacción en cadena de polimerasa es una técnica de biología molecular que permite amplificar una secuencia específica de ADN de manera exponencial, esto quiere decir que se puede hacer millones de copias idénticas de una región concreta. En proceso de PCR está basado en la capacidad de la enzima de ADN polimerasa para sintetiza nuevas cadenas de ADN existente como modelo, en los cuales se utilizan cebadores (Llanos, 2024). Entre sus características están su alta especificidad por que puede diferenciar entre dos microorganismos muy cercanos y también puede detectar un virus en sus primeras fases de la infección.

2.11.1 Aplicaciones de PCR convencional

En el ámbito médico, esta técnica permite amplificar secuencias específicas de ADN asociadas a enfermedades hereditarias a partir de muestras de pacientes, facilitando la identificación de trastornos genéticos. Además, su alta sensibilidad la hace indispensable para la detección de patógenos: al amplificar regiones del material genético de bacterias o virus presentes en muestras biológicas (sangre, tejidos o fluidos), es posible confirmar infecciones incluso con cargas virales mínimas. Este enfoque no solo agiliza el diagnóstico, sino que también contribuye

a la personalización de tratamientos y al monitoreo epidemiológico (Quispe & Florián, 2023).

2.11.2 Componentes para realizar PCR

La PCR convencional requiere el aislamiento previo del ADN a analizar, junto con componentes esenciales como una ADN polimerasa termoestable (modificada para resistir las altas temperaturas del proceso), dos cebadores específicos uno directo ($5' \rightarrow 3'$) y otro inverso ($3' \rightarrow 5'$) que delimitan la secuencia a amplificar, desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs) que actúan como bloques de construcción para la síntesis de ADN, una solución tampón que regula el pH y las condiciones iónicas, cloruro de magnesio ($MgCl_2$) como cofactor para optimizar la fidelidad de la polimerasa, y agua estéril para ajustar la concentración final. Estos elementos se combinan en una mezcla maestra que asegura las condiciones óptimas para la amplificación precisa y eficiente del material genético (Camargo & Puentes, 2022).

2.11.3 Etapas de PCR

La etapa de desnaturalización implica separar las dos hebras de ADN mediante exposición a altas temperaturas ($94-96^\circ C$ durante 20-60 segundos), donde el tiempo y la temperatura pueden variar según el contenido de guanina y citosina (GC) de la región objetivo, ya que estos nucleótidos requieren mayor energía para romper sus tres enlaces de hidrógeno (Jiménez et al., 2021).

Posteriormente, en la fase de anillamiento o hibridación, la temperatura se reduce a un rango de $45-65^\circ C$ (30-60 segundos) para permitir que los cebadores (primers) se unan de forma específica a sus secuencias complementarias, un proceso influenciado por la concentración, longitud y composición de GC de los propios cebadores (Serrano, 2020).

Finalmente, en la etapa de extensión, el ADN polimerasa sintetiza las nuevas cadenas de ADN utilizando los dNTPs como unidades de construcción, operando a una temperatura óptima para su actividad (generalmente $72^\circ C$) y durante un tiempo proporcional a la longitud del fragmento a amplificar. Al concluir los ciclos, se realiza una extensión final (5 minutos a $72^\circ C$) para garantizar la síntesis completa

de todas las cadenas. El producto resultante, ya amplificado, debe ser analizado mediante electroforesis en gel de agarosa para verificar su tamaño y pureza (Yepes et al., 2022).

2.11.4 Electroforesis

La electroforesis en gel de agarosa es una técnica de laboratorio ampliamente utilizada para separar fragmentos de ADN y ARN en función de su tamaño. El procedimiento implica el uso de un gel de agarosa, que actúa como una matriz porosa a través de la cual las moléculas de ADN y ARN se desplazan cuando se aplica un campo eléctrico. Las moléculas más pequeñas se desplazan más rápidamente a través del gel, mientras que las moléculas más grandes se desplazan más lentamente. Esto permite la separación de fragmentos de ADN y ARN de diferentes tamaños (Sánchez, 2023).

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.3 Ubicación de la investigación

3.3.1 Localización de la investigación

Este proyecto investigativo se llevó a cabo en la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agroindustrias, instalaciones del Departamento de Investigación Laguacoto II.

Tabla 9.

Localización de la investigación.

Ubicación	Localidad
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Parroquia	Gabriel Ignacio Veintimilla
Sector	Laguacoto II
Dirección	Laguacoto II. (Guaranda Km. 1 ½ vía San Simón)

Fuente. Tomado de Estación Meteorológica Laguacoto II. UEB (2023).

3.3.2 Zona de vida

El lugar donde se llevó a cabo la investigación corresponde a una zona de vida denominada bosque húmedo montano bajo (BHMB). Según lo propone y lo clasifica el botánico climatólogo L. Holdridge.

3.3.3 Situación geográfica

Tabla 10.

Aspectos generales del territorio.

Parámetros	Valores
Altitud promedio	2 630 msnm
Latitud	01° 36' 52'' S
Longitud	78° 59' 54'' W
Temperatura máxima	21 °C
Temperatura mínima	7 °C
Temperatura media	14,4 °C
Humedad relativa	70%
Velocidad de viento	6 m/s

Fuente. Tomado de Estación Meteorológica Laguacoto II. UEB (2023).

3.4 Materiales

- **Material experimental**
 - ✓ Botellas estériles
 - ✓ Guantes desechables
 - ✓ Etiquetas
 - ✓ Herramientas de georreferenciación
 - ✓ Dispositivos GPS
 - ✓ Mapas o software de georreferenciación

- **Material de campo**
 - ✓ Computador portátil
 - ✓ Esferos
 - ✓ Cuaderno
 - ✓ Calculadora

- ✓ Material de bioseguridad
- ✓ Mandil de laboratorio
- ✓ Guantes
- ✓ Mascarilla
- ✓ Cofia
- ✓ Alcohol
- ✓ Gel anti bacterial

- **Materiales de Laboratorio**
 - ✓ Mechero bunsen
 - ✓ Estrías para siembra
 - ✓ Placas Petri
 - ✓ Torre de succión
 - ✓ Pipetas
 - ✓ Micropipetas
 - ✓ Fundas herméticas
 - ✓ Probeta
 - ✓ Vasos de precipitación
 - ✓ Gradillas
 - ✓ Tubos de ensayo
 - ✓ Tubos de crioconservación
 - ✓ Microtubos eppendorf
 - ✓ Portaobjetos

- **Reactivos**

- ✓ ALOA
- ✓ XLD
- ✓ EMB
- ✓ Agua peptonada
- ✓ Peróxido de hidrogeno
- ✓ Tirillas de oxidasa
- ✓ TAE Buffer
- ✓ Naftol
- ✓ Rojo metilo
- ✓ MV-RP
- ✓ KOH
- ✓ KOVAC

- **Equipos a utilizar**

- ✓ Autoclave
- ✓ Cámara de bioseguridad
- ✓ Balanza Analítica
- ✓ Microondas
- ✓ Agitador Vórtex
- ✓ Incubadora
- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ Balanza gramera
- ✓ Centrifuga

- ✓ Cámara de electroforesis
- ✓ Foto documentador
- ✓ NanoDroop

3.5 Métodos

3.5.1 Factores de estudio

El factor de estudio de la presente investigación se enfoca en analizar la presencia y concentración de microorganismos patógenos mediante medios de cultivos y caracterización por perfiles bioquímicos de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, Coliformes totales y fecales en el suministro de agua potable de Guaranda, con el objetivo de proporcionar información crucial sobre la calidad microbiológica del agua en la comunidad urbana.

Este estudio busca asegurar que el agua cumpla con las normas de calidad establecidas, como la Norma INEN 1108, para proteger la salud pública. La calidad microbiológica del agua es crucial para prevenir enfermedades; por ello, los hallazgos de esta investigación son fundamentales para la implementación de medidas correctivas y preventivas que garanticen la seguridad sanitaria del agua consumida por la población guarandeña.

Para esta investigación se aplicará la siguiente ecuación para determinar el tamaño de la población. Se tomarán 50 muestras en diferentes puntos del casco urbano de Guaranda, donde se analizarán patógenos contaminantes como *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, Coliformes totales y fecales. Los análisis se realizarán por triplicado utilizando medios selectivos en placas Petri.

3.5.2 Muestreo aleatorio

Calculo para determinar el tamaño de la muestra

Se empleo un estudio exploratorio para determinar la presencia de *E. coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, Coliformes Totales y Fecales presente en el agua de consumo humano en el casco urbano del cantón Guaranda, por lo que se aplicó la siguiente ecuación.

$$n = \frac{N * Z^2 p(1 - p)}{(N - 1)e^2 + Z^2 * p(1 - p)}$$

Donde:

N: Tamaño de Población o consumidor

Z²: Nivel de confianza

p: Prevalencia

e²: Error

n: Tamaño de la muestra

Por lo que se determinará el tamaño de muestra de la población a tomarse, donde también nos guiaremos en la normativa INEN 1108, en la cual menciona que por cada 1000 consumidores se debe tomar 18 muestras.

3.6 Métodos de evaluación y recolección de datos

Georreferenciación

Este método permitió expresar la posición exacta o relativa de un punto en la superficie terrestre, lo que facilita la localización geográfica mediante coordenadas específicas. Esto permite ubicar con precisión los puntos de muestreo dentro de un mapa digital para identificar cada una de las ubicaciones donde se tomarán muestras de agua potable en el casco urbano de Guaranda. Para lograr una alta precisión, se empleará un GPS garmin, que proporcionará coordenadas exactas de los lugares de muestreo.

Al realizar la georreferenciación se logrará:

- Conocer la cobertura geográfica de los puntos de muestreo.
- Determinar con precisión las coordenadas y referencias del lugar donde se recolectarán las muestras de agua potable.

Recolección de datos

Mediante la recolección de datos se garantizó que la información obtenida de cada una de las muestras analizadas sea confiable y precisa, basándose en los resultados de los análisis cuantitativos obtenidos. Este proceso se realizará con la mayor exactitud posible para evitar errores, utilizando herramientas y métodos estandarizados.

Para el manejo y procesamiento de los datos, se empleó el software Excel y el programa ArcGIS lo que permitió organizar, analizar y visualizar la información de manera más eficiente, asegurando la calidad de los resultados obtenidos en la información.

3.7 Manejo del experimento

3.7.1 Obtención de muestras

Para garantizar la calidad y precisión de los resultados en esta investigación, se siguieron normas y procedimientos técnicos específicos. Las muestras de agua potable fueron obtenidas en distintos puntos estratégicos del casco urbano de Guaranda, seleccionados con el objetivo de representar de manera adecuada diversas zonas del sistema de abastecimiento de agua, siguiendo las directrices de la NTE INEN 2176:2013. La conservación y el transporte de las muestras se realizaron conforme a lo estipulado en la NTE INEN 2169:2013, lo que aseguró que las muestras no se alteraran durante su traslado al laboratorio. Una vez en el Departamento de Investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, se realizaron los análisis microbiológicos siguiendo los métodos establecidos en la investigación y en cumplimiento con los requisitos de calidad del agua potable según la NTE INEN 1105:1983 y los límites de calidad microbiológica establecidos en la NTE INEN 1108:2011.

3.7.2 Codificación e identificación de las muestras

Las 50 muestras de agua potable fueron codificadas para asegurar su correcta identificación, incluyendo el número de muestra, fecha de recolección, localidad y

punto de muestreo. Este sistema nos aseguró un manejo más eficiente de las muestras durante el análisis.

3.7.3 Registro de las muestras

Una vez tomadas las 50 muestras de agua potable en los diferentes puntos del casco urbano de Guaranda, se procedió al registro de las mismas, colocando etiquetas en los envases para su adecuado rotulado. Este proceso se realizó conforme a la Norma Técnica Ecuatoriana **INEN 2176:1998**, catalogada como Calidad de agua y técnicas de muestreo, la cual establece que deben incluirse, como mínimo, los siguientes datos para el informe de muestreo:

- Localización y nombre del lugar de muestreo.
- Detalles del punto de muestro fecha de la recolección.
- Método de recolección.
- Hora de recolección.
- Nombre del recolector.
- Condiciones atmosféricas.
- Naturaleza del pretratamiento.
- Preservante o estabilizador adicionado.
- Datos recogidos en el lugar.

Tabla 11.*Registro de las muestras de agua recolectadas en el Casco Urbano de Guaranda.*

Código	Cantón	Lugar de procedencia	Cantidad	Hora
M1	Guaranda	10 de agosto	1,5 L	7:00am
M2	Guaranda	7 de mayo	1,5 L	7:20am
M3	Guaranda	9 de abril	1,5 L	7:40am
M4	Guaranda	A. Dávila	1,5 L	8:00am
M5	Guaranda	Antigua Colombia	1,5 L	8:48am
M6	Guaranda	Av. García Moreno	1,5 L	8:52am
M7	Guaranda	Av. Cándido Rada	1,5 L	8:40am
M8	Guaranda	Av. General Enríquez	1,5 L	8:59am
M9	Guaranda	Av. Elisa Mariño de Carvajal	1,5 L	9:20am
M10	Guaranda	García Moreno	1,5 L	9:36am
M11	Guaranda	Cándido Rada	1,5 L	6:40am
M12	Guaranda	Rocafuerte	1,5 L	7:00am
M13	Guaranda	Sucre	1,5 L	7:10am
M14	Guaranda	Avenida Amazonas	1,5 L	7:20am
M15	Guaranda	Bellavista	1,5 L	7:40am
M16	Guaranda	Gustavo Lemos	1,5 L	8:00am
M17	Guaranda	Juan Montalvo	1,5 L	8:48am
M18	Guaranda	Convención 1884	1,5 L	8:52am
M19	Guaranda	Isidro Ayora	1,5 L	8:40am
M20	Guaranda	Lirios	1,5 L	8:59am
M21	Guaranda	Eloy Alfaro	1,5 L	9:20am
M22	Guaranda	Manuela Cañizares	1,5 L	9:36am
M23	Guaranda	Montufar	1,5 L	6:40am
M24	Guaranda	Espejo	1,5 L	7:20am
M25	Guaranda	Simón Bolívar	1,5 L	7:40am
M26	Guaranda	Pichincha	1,5 L	8:00am
M27	Guaranda	Solanda	1,5 L	8:48am
M28	Guaranda	V Noboa	1,5 L	8:52am
M29	Guaranda	Plaza Roja	1,5 L	8:40am
M30	Guaranda	Complejo	1,5 L	8:59am
M31	Guaranda	Terminal Terrestre	1,5 L	9:20am
M32	Guaranda	Cárcel	1,5 L	8:00am
M33	Guaranda	Primero de Mayo	1,5 L	8:48am
M34	Guaranda	Verbo Divino	1,5 L	8:52am
M35	Guaranda	15 de mayo	1,5 L	8:40am
M36	Guaranda	Pileta	1,5 L	8:59am
M37	Guaranda	Parque Central	1,5 L	9:20am
M38	Guaranda	La Rueda	1,5 L	7:00am
M39	Guaranda	Mercado 10 de noviembre	1,5 L	7:20am
M40	Guaranda	Plaza de Carnaval	1,5 L	7:40am

M41	Guaranda	Coloma Román Sur	1,5 L	8:00am
M42	Guaranda	Colegio Técnico Guaranda	1,5 L	8:48am
M43	Guaranda	Bomberos	1,5 L	8:52am
M44	Guaranda	5 de junio	1,5 L	8:40am
M45	Guaranda	9 de octubre	1,5 L	8:59am
M46	Guaranda	Guitarra	1,5 L	9:20am
M47	Guaranda	Indio Guaranga	1,5 L	9:36am
M48	Guaranda	Parque Echeandía	1,5 L	7:00am
M49	Guaranda	Federación Deportiva	1,5 L	7:20am
M50	Guaranda	Hospital del IES	1,5 L	7:40am

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

3.8 Análisis microbiológico

3.8.1 Identificación de Coliformes totales y fecales

Para la detección de Coliformes Totales y Fecales en las muestras de agua, se utilizaron Cajas Compact Dry siguiendo un procedimiento estandarizado. El trabajo se realizó en cámaras de bioseguridad, asegurando un ambiente estéril y minimizando el riesgo de contaminación. Se emplearon guantes estériles y micropipetas con puntas estériles para la manipulación de las muestras. A cada caja Compact Dry se inoculó 10µL de la muestra en el centro de la caja, permitiendo que el líquido se distribuyera por la capilaridad.

Posteriormente, las cajas se incubaron a 35-37°C durante 24 horas. La lectura de los resultados se realizó con base en la coloración de las colonias formadas: las colonias rosadas o rojas indicaron presencia de Coliformes totales, mientras que las colonias azules o moradas confirmaron la presencia de Coliformes fecales, los datos fueron registrados y las cajas auto clavadas conforme a las normas de bioseguridad antes de su disposición final.

3.8.2 Preparación de Medios de Cultivo

Para la preparación de los medios de cultivo utilizados en las siembras microbiológicas, se emplearon los agares ALOA, EMB y XLD, siguiendo un procedimiento estandarizado para garantizar su correcta esterilización y funcionalidad.

Inicialmente se calculó la cantidad de medio requerida en función del número de muestras a procesar. Posteriormente, cada medio fue pesado con precisión y mezclado con agua destilada tipo II, asegurando una disolución homogénea. La mezcla se calentó en el microondas hasta que los grumos desaparecieran por completo y la solución adquiriera una apariencia transparente, lo que indica una correcta rehidratación del medio.

Luego, los medios de cultivo fueron auto clavados a 121°C por dos horas, un proceso esencial para eliminar posibles microorganismos contaminantes y garantizar la esterilidad del medio antes de su uso, Sin embargo, es importante resaltar que el medio XLD no se esteriliza por auto clave, ya que contiene componentes sensibles al calor que podrían degradarse o alterar su selectividad, lo que afectaría la capacidad del medio para diferenciar microorganismos específicos.

Finalmente, tras la esterilización, los medios fueron dispensados en placas Petri bajo condiciones de bioseguridad, asegurando su correcta solidificación y posterior utilización en el análisis microbiológico de las muestras de agua.

3.8.3 Filtración por membrana

Luego de preparar los medios de cultivo, se procedió al proceso de filtración por membrana utilizando una torre de succión para concentrar las bacterias presentes en las muestras de agua.

Para ello, se colocó un filtro de membrana estéril, previamente auto clavado, sobre la base de filtración. Posteriormente, se añadió 150 mL de la muestra de agua, permitiendo que el líquido atravesara el filtro mientras las bacterias quedaban retenidas en su superficie. Una vez finalizada la filtración, el filtro de membrana fue cuidadosamente retirado con pinzas estériles y transferido al medio de cultivo correspondiente en una caja Petri, asegurando su correcta adherencia.

Este procedimiento se repitió para cada muestra siguiendo estrictas condiciones de asepsia. Una vez completada la siembra, se retiró el filtro de membrana de la caja, se sellaron y rotularon las muestras para su correcta identificación y trazabilidad. Finalmente, las cajas fueron incubadas a 35°C durante 48 horas, permitiendo el crecimiento y diferenciación de las colonias bacterianas. Es importante destacar que

este proceso se realizó por triplicado, con el fin de garantizar la reproducibilidad y fiabilidad de los resultados obtenidos.

3.8.4 Identificación de presencia o ausencia de colonias

Después del proceso de filtración por membrana e incubación, se procedió a la verificación de las cajas contaminadas con los microorganismos *E. coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. Para confirmar su presencia, se realizó un subcultivo, trasladando las colonias sospechosas a medios de cultivo frescos para su aislamiento y posterior identificación. Luego, las muestras fueron incubadas nuevamente bajo condiciones óptimas de temperatura.

3.8.5 Pruebas bioquímicas

3.8.5.1 Prueba de oxidasa

Se utilizó una tirilla impregnada con reactivo de oxidasa y se colocó una colonia sobre ella. Un resultado positivo se evidenció con un cambio de color a azul o morado, indicando la presencia de citocromo c oxidasa. La ausencia de coloración indicó un resultado negativo.

3.8.5.2 Prueba de catalasa

Se depositó una gota de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3% en un portaobjetos y se añadió una colonia bacteriana con un asa estéril. La liberación de burbujas confirmó un resultado positivo, indicando la presencia de la enzima catalasa. Si no se observó efervescencia, el resultado fue negativo.

3.8.5.3 Pruebas IMViC

- **Prueba de Indol:** Se agregaron 5 mL de agua peptonada en un tubo de ensayo. Luego, con un asa estéril, se tomó una colonia y se inoculó en el medio. Se agitó durante 10 segundos y se incubó a 35°C por 24 horas. Posteriormente Se añadió 4 gotas de reactivo de Kovacs al tubo de ensayo después de la incubación. Si se formó un anillo de color rojo en la superficie del medio, el resultado fue negativo, indicando un aro de color rosado, en algunos casos no hubo una coloración el aro dando como resultados positivos.

- **Prueba de Rojo Metilo:** Se adicionaron 5 mL de caldo MR-VP en un tubo de ensayo. Se tomó una porción de la colonia con un asa y se inoculó en el medio. Se agitó suavemente y se incubó a 35°C por 24 horas. Se añadieron 3 gotas de reactivo de rojo metilo al tubo de ensayo después de la incubación. Si el medio se tornó de color rojo, el resultado fue positivo, lo que indica la producción de ácidos estables. Si el medio permaneció amarillo o sin cambio, el resultado fue negativo.
- **Prueba de Voges-Proskauer:** Se preparó un tubo con 5 mL de caldo MR-VP. Se tomó una colonia con un asa estéril y se inoculó en el medio. Luego, se agitó y se incubó a 35°C por 24 horas. Se agregaron 12 gotas de α -naftol y 4 gotas de KOH al tubo de ensayo después de la incubación. Si el medio cambió a un color rojo en el transcurso de la reacción, el resultado fue positivo. Si no hubo cambio de color, el resultado fue negativo.
- **Prueba de Citrato:** Se pesó el citrato en polvo de acuerdo con la cantidad de muestras a analizar y se mezcló con agua destilada tipo II. La solución se homogeneizó y se calentó en el microondas para evitar la formación de grumos. Para después auto clavar y distribuir 5 mL en tubos de ensayo. Los tubos se colocaron en posición inclinada hasta que el medio gelificó. Se tomó una colonia con un asa estéril y se sembró en la superficie del medio. Finalmente, se incubó a 35°C por 24 horas. Después de la preparación y la siembra, si el medio cambió de color de verde a azul, el resultado fue positivo, lo que indica que la bacteria fue capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono. Si el medio permaneció verde, el resultado fue negativo.

3.8.6 Extracción del ADN

La extracción de ADN bacteriano se llevó a cabo utilizando un kit comercial de Invitrogen, siguiendo las indicaciones del fabricante. Primero, se realizó la recolección de las bacterias mediante centrifugación, eliminando el sobrenadante y re suspendiendo el pellet en una solución de lisis que facilitó la ruptura de las paredes celulares y la liberación del material genético. Para eliminar proteínas y otros contaminantes, se aplicó un tratamiento con enzimas y agentes de purificación

específicos. Posteriormente, el ADN fue separado mediante fases orgánicas y precipitado con alcohol para su concentración y purificación. Tras una serie de lavados, el ADN extraído se re suspendió en un buffer adecuado para su conservación. La calidad y pureza del ADN fueron evaluadas mediante espectrofotometría en Nanodrop, considerando que una relación de absorbancia A260/A280 entre 1,8 y 2,0 indica una muestra de ADN de buena calidad, libre de contaminación por proteínas o compuestos orgánicos. Finalmente, las muestras fueron almacenadas a bajas temperaturas hasta su análisis mediante PCR.

Tabla 12.

Secuenciación molecular de las diferentes cepas de bacterianas aisladas.

Bacterias	Secuencias	Pares de base
<i>Listeria monocytogenes</i>	(R,5'GCCGTCGATGATTTGAACTTCATC-3' (F,5'GAATGTAAACTTCGGCGCAATCAG3')	388bp
<i>Escherichia coli con su serotipo O157:H7</i>	(R,5'-GCTATTTCTGCGGATAAGAGA-3') (F,5'-CCAGGCAAAGAGTTTATGTTGA-3')	212bp
<i>Salmonella spp.</i>	R,5'TCCATCAAATTAGCGGAGGC-3') inva3F (F,5'AACGTGTTTCCGTCGTAAT-3')	244bp

Fuente. Núñez, (2023).

3.8.7 Preparación de Master Mix

Para la amplificación del ADN mediante PCR, se preparó una mezcla de Master Mix que contiene todos los reactivos esenciales para la reacción. En esta mezcla se utilizó la DNA polimerasa GoTaq, que es termoestable y capaz de sintetizar nuevas cadenas de ADN. También se incorporaron los primers forward y reverse, los cuales son específicos para la región del ADN de interés, y se añadieron los nucleótidos

(dNTPs) necesarios para la elongación de la cadena. El ADN molde se añadió en una cantidad adecuada para servir como plantilla en la reacción de amplificación. Además, se incluyó agua libre de nucleasas (nivel molecular) para ajustar el volumen final, y un buffer de reacción con magnesio para asegurar las condiciones óptimas para la actividad de la enzima. Una vez preparada la mezcla, se distribuyó en los tubos de PCR y se sometió a las condiciones de temperatura correspondientes en el termociclador para realizar los ciclos de amplificación.

Tabla 13.

Reactivos específicos utilizados para la detección de Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7 y Salmonella spp. mediante PCR convencional.

Reactivos	Volumen	<i>Listeria</i>	<i>E – coli</i>	<i>Salmonella</i>
		N° de muestras	N° de muestra	spp. N° de muestras
GoTaq®Green	12,5			
Mater Mix 2x	10Ml			
Forwar	0,25-2,5			
Primer,10µM	10µL	6	1	1
River,10µM	0,25-2,5 10µL			
DNA				
Templade	1-5 µL			
Nuclesease -	25µL			
Free				
Wáter				

Fuente. Reinoso & Cevallos, (2024).

3.8.8 Análisis molecular (PCR) convencional

La amplificación del ADN se realizó mediante la técnica de PCR utilizando un termociclador y los reactivos específicos recomendados por el fabricante. El proceso inició con la desnaturalización, donde las cadenas dobles de ADN se separaron por acción del calor a una temperatura elevada. A continuación, se llevó a cabo la hibridación o alineamiento de los iniciadores (primers), en la que el primer

forward se unió a la hebra molde en dirección 5' a 3', mientras que el primer reverse se unió en dirección 3' a 5', gracias a la complementariedad de bases. Finalmente, se realizó la elongación a 72 °C, donde el ADN polimerasa sintetizó nuevas cadenas complementarias utilizando los primers como punto de inicio y extendiendo la secuencia en dirección 5' a 3'. Este ciclo se repitió varias veces para amplificar la región específica del ADN de interés.

Tabla 14.

Condiciones de amplificación térmica en PCR convencional para la detección de Listeria monocytogenes, Salmonella spp y Escherichia coli OH:157.

# de ciclos	T(°C)	/T	T (°C)	/T	Fases
	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella spp</i>	
	95/2 min	95/5 min	95/5 min		Desnaturalización
1	95/1 min	95/1 min	95/30 seg		Desnaturalización
	53/45 seg	63/45 min	56/30 seg		Unión de iniciadores
30	72/1 min	72/1 min	72/ 30 seg		Extensión
1	72/1 min	72/ 1 min	72/ 30 seg		Extensión

Fuente. Gómez, (2023).

3.8.9 Electroforesis en gel de agarosa

Para la preparación del gel de agarosa, se disolvieron 1.5 gramos de agarosa en un volumen adecuado de buffer TAE, se calentó la mezcla en un microondas hasta que la agarosa estuviera completamente disuelta. Luego, se dejó enfriar la solución a aproximadamente 40 °C antes de añadir el tinte intercalante Cyber Saffe, que permite la visualización del ADN bajo luz UV. A continuación, la solución se vertió en el molde de gel y se insertó el peine de carga, dejándola solidificar durante un periodo de 15 a 30 minutos. Una vez que el gel se solidificó, se colocó en la cuba de electroforesis y se sumergió en el buffer de corrida. Se cargaron las muestras en

los pozos de acuerdo con el siguiente orden: primero el marcador de peso molecular (Blue Orange), luego las muestras con el ADN amplificado y el Master Mix, seguido de un control sin ADN, y finalmente las demás muestras. Posteriormente, se aplicó corriente eléctrica para permitir la migración de los fragmentos de ADN, que se separaron según su tamaño. Una vez finalizado el proceso de electroforesis, se visualizó el gel en una foto documentador bajo luz UV para observar los fragmentos de ADN amplificados.

CAPITULO IV

4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presenta el tamaño de la muestra.

Tabla 15.

Total de muestras a tomarse en cada Ruta.

Ruta	Consumidores	Total, de muestras
28	501	10
20	524	10
18	635	10
22	420	10
14	448	10

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

Para calcular el tamaño de la muestra se trabajó con un nivel de confianza de 76 % y con un margen de error de 12 % en cada una de las rutas 28, 20, 18, 22 y 14 se aplicaron la fórmula para determinar el tamaño de la muestra de manera individual dando como resultado den cada ruta el valor de 10 muestras así sumando todas las rutas nos da que se debe tomar 50 muestras de agua en todo el casco urbano de Guaranda.

4.1.1 Resultados de georreferenciación mediante GPS

Los resultados obtenidos mediante la georreferenciación de los puntos de muestreo de agua en el casco urbano de Guaranda, donde se realizaron análisis microbiológicos, se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 16.

Resultados de georreferenciación de puntos de muestreo mediante dispositivo GPS Garmin.

Código	Coordenadas	Lugar de procedencia	Consumidor
M1	-1.577338,-79.004124	10 de agosto	Augusto González
M2	-1.577466,-79.003193	7 de mayo	Barragán Jaime
M3	-1.578130,-79.001968	9 de abril	Oswaldo Sánchez
M4	-1.577747,-79.000994	A. Dávila	Holger Arrellano
M5	-1.579280,-79.002642	Antigua Colombia	Alfonso Albán
M6	-1.579343,-79.000589	Av. García Moreno	Alfredo Fiero
M7	-1.580514,-79.002583	Av. Cándido Rada	Eduardo Ordoñez
M8	-1.581059,-79.002400	Av. General Enríquez	Cesar Pazmiño
M9	-1.581733,-79.002445	Av. Elisa Mariño de Carvajal	Napoleón Monar
M10	-1.582171,-79.004398	García Moreno	Maricela Aguilar
M11	-1.583654,-79.005141	Cándido Rada	Margot García
M12	-1.584209,-79.003438	Rocafuerte	Napoleón Monar
M13	-1.586505,-79.001263	Sucre	Segundo
M14	-1.586938,-79.006932	Avenida Amazonas	Eduardo Tonato
M15	-1.590940,-79.007397	Bellavista	Corina Camacho
M16	-1.592237250832759,-79.0050471422411	Gustavo Lemos	Ángel Alarcón
M17	-1.593395517386649,-79.00486475203168	Juan Montalvo	María Agua guiña
M18	-1.596162,-79.005154	Convención 1884	Cruz Quinatoa
M19	-1.595229,-79.003856	Isidro Ayora	José Mayorga
M20	-1.593715,-79.003954	Lirios	Carlos Morilla
M21	-1.592184,-79.004114	Eloy Alfaro	Marcia Noboa
M22	-1.588301,-79.003717	Manuela Cañizares	Jessica Chávez
M23	-1.589545,-79.002311	Montufar	Francisco Gualpa
M24	-1.588784,-79.001442	Espejo	Rosario Martínez
M25	-1.593111,-79.002591	Simón Bolívar	Jean Arellano
M26	-1.593924,-79.002354	Pichincha	Luis Barragán
M27	-1.594200,-79.003098	Solanda	Marco Rivadeneira
M28	1.5934531622377968,79.00097475996834	V Noboa	Jorge Punina
M29	-1.591147,-79.002176	Plaza Roja	Luis Flores
M30	-1.590579,-78.999961	Complejo	Raphael Arellano
M31	-1.592203,-78.999778	Terminal Terrestre	Marcela Aguiar
M32	-1.593699,-78.999547	Cárcel	Noé Veloz
M33	-1.590150,-78.998008	Primero de Mayo	Emilio Salazar
M34	-1.589906,-78.995735	Verbo Divino	Dina Monar

M35	-1.590126,-78.994362	15 de mayo	Luis Barragán
M36	-1.595722,-78.998241	Pileta	Armando Paredes
M37	-1.598692,-78.997695	Parque Central	
M38	-1.602957,-79.004432	La Rueda	Édison Maldonado
M39	-1.601983,-79.003272	Mercado 10 de noviembre	Rafael Bastidas
M40	-1.607740,-78.999513	Plaza de Carnaval	Cesar Agualango
M41	-8973246,211	Coloma Román Sur	María Solano
M42	-8973412,885	Colegio Técnico Guaranda	Juan Moposita
M43	-178174,850909 8794320,500776	Bomberos	Hermel López
M44	-8972398,34	5 de junio	Mercedes Yallico
M45	-8972388,888	9 de octubre	Mónica Sánchez
M46	-178230,177777 8794223,963387	- Guitarra	Laura Purcachi
M47	-8972526,432	Indio Guaranga	Leonardo Borja
M48	-8972526,432	Parque Echeandía	Diana Verdezoto
M49	-8972431,065	Federación Deportiva	Ángel Almendariz
M50	-178346,16984 8794185,775859	- Hospital del IES	Geovany Vergara

Fuente. Autoría propia Pasto & Taco.

Interpretación

En la tabla 16 se representan los resultados de georreferenciación obtenidos mediante el uso de un receptor GPS Garmin, lo cual permitió registrar con precisión las coordenadas geográficas de cada punto de muestra. Posteriormente esta información fue procesada en el software ArcGIS, facilitando la elaboración de un mapa digital detallado del casco urbano de Guaranda.

Discusión

La georreferenciación permitió ubicar con exactitud cada una de las 50 muestras recolectadas en las 5 rutas seleccionadas para el estudio: Ruta 14, Ruta 18, Ruta 20, Ruta 22 y Ruta 28. Este procedimiento se realizó con un GPS Garmin. Según Lainez & Navarrete (2024) Google Maps es una herramienta que permite ver ubicaciones de manera precisa, ya que utiliza imágenes satelitales para ofrecer información detallada. Además, facilita datos en tiempo real y cuenta con opciones de visualización para automóviles, celulares y computadoras, lo que permite su uso

tanto en viajes como al caminas. Asimismo, proporciona reseñas e información adicional sobre los lugares que se desea explorar

4.1.2 Análisis microbiológicos

4.1.2.1. Identificación de Coliformes totales y Coliformes fecales en las muestras de agua potable provenientes de los diferentes puntos de muestreo.

Tabla 17.

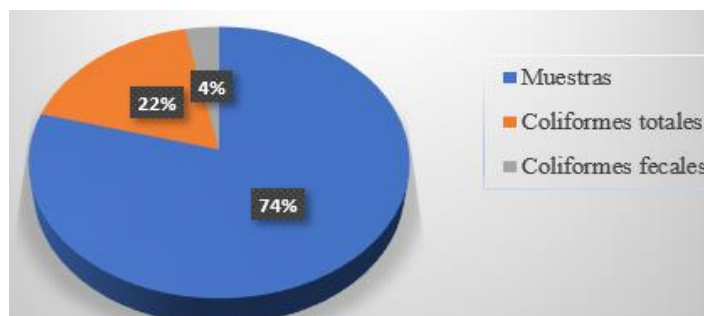
Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Compact Dry.

MUESTRAS	BACTERIAS	CONTAMINACIÓN
50	Coliformes totales	11
50	Coliformes fecales	2

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Figura 13.

Porcentaje de contaminación por Coliformes totales y fecales.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

La Tabla 17 muestra los resultados de los análisis microbiológicos realizados en 50 muestras de agua potable, de las cuales 8 resultaron positivas para Coliformes totales y 2 para Coliformes fecales, mediante el uso de cajas Petri. La Figura 13 ilustra los porcentajes correspondientes: 22% para Coliformes totales y 4% para Coliformes fecales y las muestras no confirmadas un 74%. Estos hallazgos evidencian la presencia de contaminación microbiológica en las rutas 12 y 22.

Discusión

Los análisis microbiológicos realizados en 50 muestras de agua potable evidenciaron que el 22% de las muestras resultaron positivas para Coliformes totales, lo que indica la presencia de contaminación microbiológica en diversas áreas del casco urbano de Guaranda. Las rutas 18 y 22 fueron las más afectadas. Estos hallazgos son consistentes con investigaciones recientes que destacan la detección de Coliformes como un indicador fiable de contaminación fecal en el agua, representando un riesgo potencial para la salud pública (Magaña et al., 2021).

4.1.3 Identificación de *E. coli*, *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* en muestras de agua potable de Guaranda.

Tabla 18.

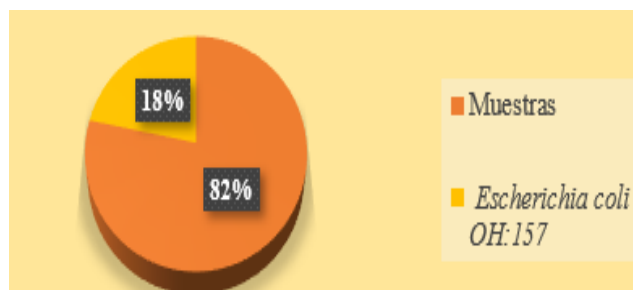
Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Petri en Escherichia coli.

MUESTRAS	BACTERIAS	CONTAMINACIÓN
50	<i>Escherichia coli</i> OH:157	9

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Figura 14.

Porcentaje de contaminación por Escherichia coli.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

Los resultados obtenidos mediante pruebas bioquímicas, pruebas IMViC y análisis microbiológicos en cajas de Petri (Tabla 18) evidenciaron 9 cajas contaminadas de por el cual el 18% de las 50 muestras de agua potable fueron positivas para *Escherichia coli*, mientras que el 82% no presentó contaminación detectable. Estos

datos, representados en la Figura 14, reflejan la presencia de contaminación fecal en ciertas zonas del casco urbano de Guaranda, lo que resalta la necesidad de fortalecer los controles sanitarios para garantizar la calidad del agua.

Discusión

La detección de *Escherichia coli* en el 18% de las muestras de agua potable analizadas indica la presencia de contaminación fecal, lo que representa un riesgo significativo para la salud pública. Estos resultados son consistentes con investigaciones recientes realizadas en Ecuador; por ejemplo, en el cantón el Guabo se reportó la presencia de *E. coli* en cisternas de uso domiciliario, evidenciando una problemática similar en cuanto a la calidad microbiológica del agua destinada al consumo humano (Poma et al., 2021) .

Tabla 19.

Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Petri en Salmonella spp.

MUESTRAS	BACTERIAS	CONTAMINACIÓN
50	<i>Salmonella spp</i>	4

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Figura 15.

Porcentaje de Contaminación de Salmonella spp.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

En la Tabla 19 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos realizados en cajas de Petri para la detección de *Salmonella* en 50 muestras de agua potable. Los resultados mostraron la presencia de esta bacteria en 4 muestras, lo que equivale

a un 8% de contaminación, como se representa en la Figura 15. El 92% restante de las muestras no presentó contaminación detectable.

Discusión

La detección de *Salmonella* spp en el 8% de las muestras de agua potable analizadas (4 de 50) evidencia la presencia de contaminación microbiológica que representa un riesgo significativo para la salud pública. Este hallazgo es consistente con otros estudios realizados en Ecuador, como en el cantón Chambo, donde se informó la presencia de *Salmonella* en el 20% de las muestras analizadas y en San José de Chimbo, donde se detectó en un 10% (Valdés et al., 2023).

Tabla 20.

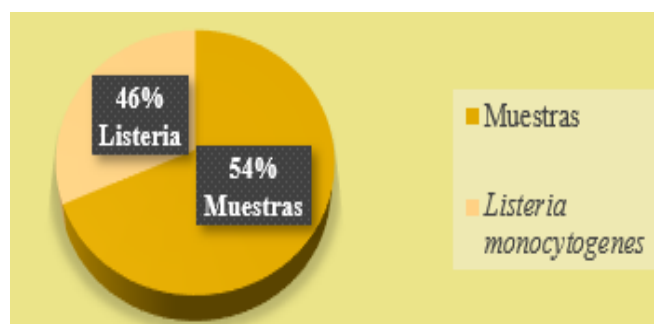
Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras mediante el uso de Cajas Petri.

MUESTRAS	BACTERIAS	CONTAMINACIÓN
50	<i>Listeria monocytogenes</i>	23

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Figura 16.

Porcentaje de Contaminación de bacteria para Listeria monocytogenes



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

En la Tabla 20 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos realizados en cajas de Petri para la detección de *Listeria* en 50 muestras de agua potable. Los resultados indicaron la presencia de esta bacteria en 23 de las 50 muestras

analizadas, lo que equivale a un 46% de contaminación, como se ilustra en la Figura 16. El 54% restante de las muestras no mostró contaminación detectable. Estos datos reflejan una significativa presencia de *Listeria* spp, lo que resalta la necesidad de evaluar y controlar la calidad microbiológica del agua en el área para prevenir riesgos sanitarios.

Discusión

La detección de *Listeria* spp en el 46% de las muestras analizadas refleja un alto nivel de contaminación microbiológica, lo que constituye un riesgo significativo para la salud, ya que esta bacteria puede causar *listeriosis*, especialmente en personas inmunocomprometidas, embarazadas y adultos mayores. Este hallazgo es coherente con estudios previos, como el realizado en el cantón Chambo, donde se detectó *Listeria* en el 40% de las muestras de agua potable. Además, *Listeria* spp puede sobrevivir en condiciones extremas, como bajas temperaturas y ambientes con pocos nutrientes, lo que facilita su persistencia en los sistemas de distribución de agua (Freire et al., 2020).

4.1.4 Resultados microbiológicos en pruebas Bioquímicas

Tabla 21.

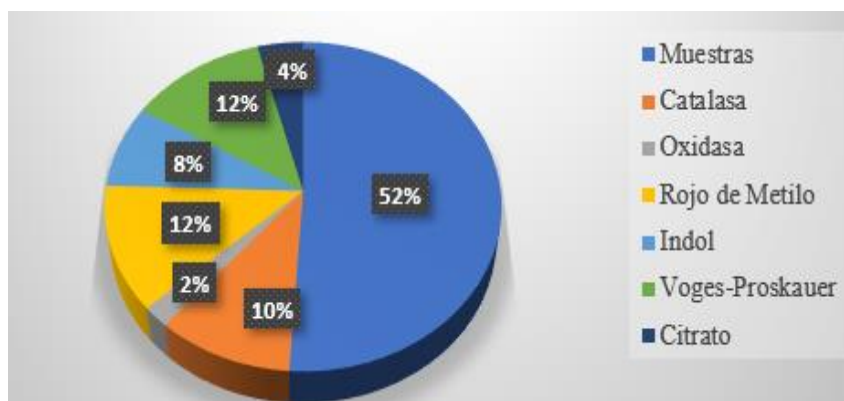
Resultados obtenidos mediante la aplicación de pruebas bioquímicas para Escherichia coli.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	CONFIRMACIÓN
Catalasa	5
Oxidasa	1
Rojo de Metilo	6
Indol	4
Voges-proskauer	6
Citrato	2

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Figura 17.

Porcentaje de Confirmación en Pruebas bioquímicas para Escherichia coli.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

En la Tabla 21 y Figura 17 se presentan los resultados obtenidos mediante las pruebas bioquímicas e IMViC para la identificación de los patógenos en las 9 placas contaminadas. Los resultados indicaron la siguiente distribución de positividad en porcentaje de las muestras contaminadas: 5 muestras positivas en catalasa (10%), 1 muestra positiva en oxidasa (2%), 6 muestras positivas en Rojo de Metilo (12%), 4 muestras positivas en Indol (8%), 6 muestras positivas en Voges-Proskauer (12%), 2 muestras positivas en Citrato (4%) y las muestras no confirmadas un 52%.

Discusión

Este hallazgo es consistente con estudios recientes en Ecuador que destacan problemas similares en la calidad del agua. Por ejemplo, en el cantón El Guabo, se identificó la presencia de *Escherichia coli* OH:157 en cisternas de uso domiciliario, lo que refleja una grave problemática de contaminación microbiológica en el agua destinada al consumo humano. Este tipo de contaminación es particularmente alarmante, ya que la presencia de cepas patógenas como *E. coli* OH:157 puede causar enfermedades gastrointestinales graves, especialmente en poblaciones vulnerables (Jumbo & García, 2024).

Tabla 22.

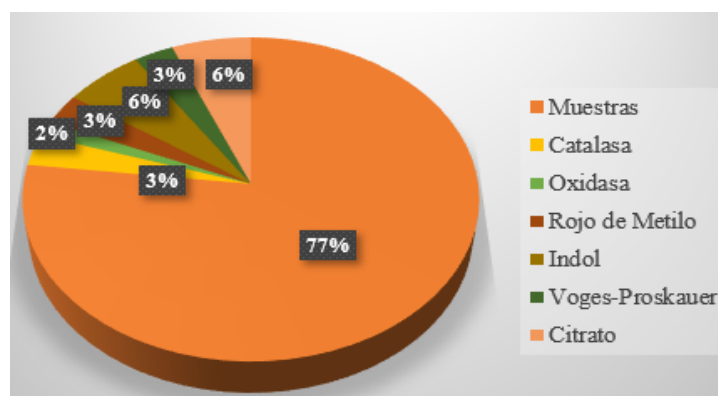
Resultados obtenidos mediante la aplicación de pruebas bioquímicas para Salmonella spp.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	CONFIRMACIÓN
Catalasa	2
Oxidasa	1
Rojo de Metilo	2
Indol	4
Voges-Proskauer	2
Citrato	4

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Figura 18.

Porcentaje de confirmación en Pruebas bioquímicas para Salmonella spp.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

La Tabla 22 y la Figura 18 presenta los resultados de las pruebas bioquímicas e IMViC realizadas en 50 muestras de agua potable para identificar la presencia de la bacteria. Se observó una positividad en catalasa del 3%, oxidasa del 2%, Rojo de Metilo del 3%, Indol del 6%, Voges-Proskauer del 3%, Citrato del 6% y muestras no contaminadas un 77%.

Discusión

Según Carrión (2022) nos dice que el encontrar estas bacterias en el agua es un riesgo potencial para la salud pública, en el cantón Chambo, se detectó *Salmonella* spp en el 20% de las muestras y en San José de Chimbo, en 10%. Esta bacteria puede originarse por contaminación fecal, aguas residuales o fallos en el tratamiento de agua, y su gestión puede causar infecciones gastrointestinales graves, especialmente en personas vulnerables.

Tabla 23.

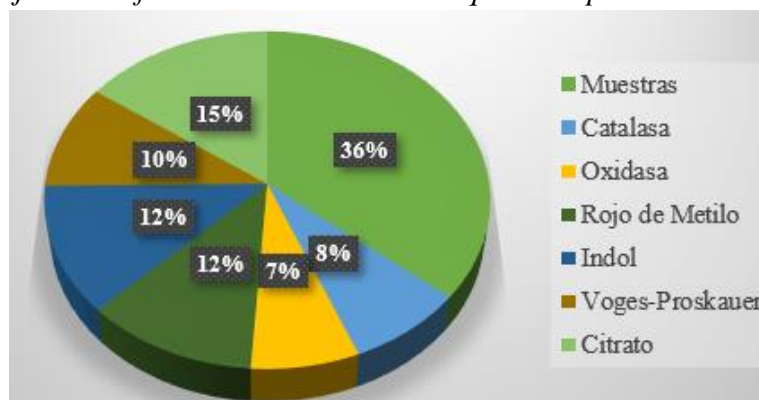
Resultados obtenidos mediante la aplicación de pruebas bioquímicas para Listeria monocytogenes.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	CONFIRMACIÓN
Catalasa	11
Oxidasa	10
Rojo de Metilo	16
Indol	17
Voges-Proskauer	14
Citrato	21

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Figura 19.

Porcentaje de Confirmación en Pruebas bioquímicas para Listeria monocytogenes.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

La Tabla 23 y Figura 19 presenta los resultados de las pruebas bioquímicas (catalasa, oxidasa) e IMViC (Rojo de Metilo, Indol, Voges-Proskauer, Citrato) realizadas en 50 muestras de agua potable. Los valores obtenidos fueron: 8% positivos en catalasa, 7% en oxidasa, 12% en Rojo de Metilo, 12% en Indol, 10% en Voges-Proskauer, 15% en Citrato y un 36% de pruebas no confirmadas teniendo en cuenta el test para cada bacteria mediante los símbolos de suma y resta.

Discusión

La confirmación de *Listeria monocytogenes* en el agua de las muestras analizadas refleja un alto nivel de contaminación microbiológica, considerando que esta bacteria puede causar listeriosis, una enfermedad grave en personas inmunocomprometidas, embarazadas y adultos mayores. En un estudio realizado en el cantón Chambo, se detectó *Listeria monocytogenes* en el 40% de las muestras de agua potable, lo que evidencia que esta problemática no es aislada (Rivera & Cisneros, 2024). Además, esta bacteria es capaz de sobrevivir en condiciones extremas como bajas temperaturas y ambientes con pocos nutrientes, lo que facilita su presencia en sistemas de distribución de (Freire et al., 2020).

4.1.5 Resultados de PCR para la identificación molecular de patógenos en muestras de agua potable del casco urbano de Guaranda

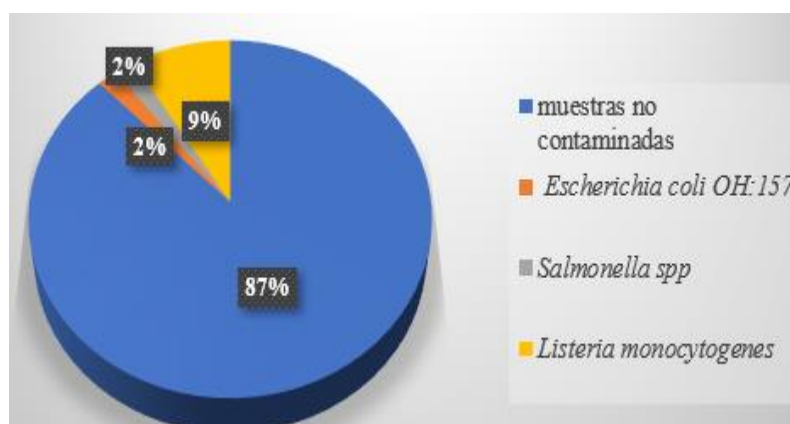
Tabla 24.

Confirmación de presencia de Escherichia coli OH:157, Salmonella spp y Listeria monocytogenes.

MUESTRAS	BACTERIAS	CONTAMINACIÓN
50	<i>Escherichia coli</i> <i>OH:157</i>	1
50	<i>Salmonella spp</i>	1
50	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	5

Figura 20.

Porcentaje de Confirmación de la Presencia de Bacterias mediante Análisis PCR.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

En la Tabla 24 se detallan las muestras contaminadas por cada bacteria, estas muestras fueron analizadas en casco urbano de Guaranda con emplearon pruebas bioquímicas catalasa, oxidasa, rojo metilo, indol, voges-proskauer y citrato. Los resultados revelaron la presencia *Escherichia coli* con 2%, *Salmonella* spp 2% y *Listeria monocytogenes* 9%. Estos hallazgos fueron validados mediante la comparación con los perfiles bioquímicos característicos de cada patógeno, lo que permitió confirmar de manera concluyente su presencia en las muestras analizadas.

Discusión

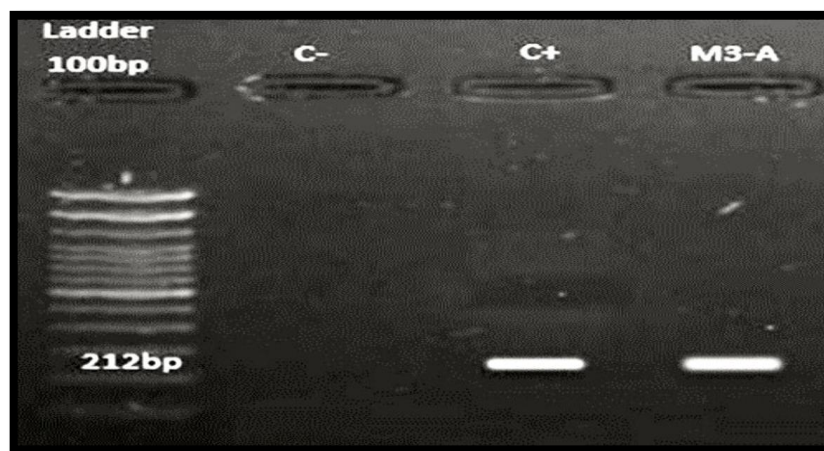
Los resultados obtenidos por PCR revelan la presencia de *Escherichia coli* (2%), *Listeria* (9%) y *Salmonella* (2%) en las muestras de agua potable del casco urbano de Guaranda. Aunque los porcentajes de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp son bajos, su detección confirma la contaminación fecal y sugiere posibles deficiencias en los procesos de tratamiento y distribución del agua. Lozada (2023) menciona la presencia de *listeria*, con una prevalencia del 10%, es preocupante por su capacidad patógena y resistencia en ambientes hostiles. Menciona. Por otro lado Ayala & Vega (2024) menciona la comparación con perfiles bioquímicos e IMViC permitió confirmar la identidad de estos patógenos, reforzando la importancia de una vigilancia microbiológica continua.

Resultados de electroforesis para confirmación de bacteria y su serotipo

A continuación, se presentan los resultados obtenidos mediante la técnica de PCR, que se utilizó para confirmar la presencia de *E. coli*, *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* en las muestras de agua. Los resultados obtenidos se muestran en los siguientes geles, donde se visualizan la amplificación de los productos de interés, lo que permite la identificación precisa de los patógenos.

Figura 21.

Electroforesis en gel de agarosa correspondiente a PCR realizada para la detección de *E. Coli*.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

En la Figura 21 se muestra la electroforesis en gel de agarosa correspondiente a la PCR realizada para la detección de *E. coli*, serotipo O157:H7. Para la amplificación, se utilizaron cebadores de la marca Invitrogen, cuyas secuencias fueron: *E. coli* (F, 5'-CCAGGCAAAGAGTTTATGTTGA-3') y *E. coli* (R, 5'-GCTATTCCTGCCGATAAGAGA-3'), que reconocen el ADN del género *E. coli*, amplificando fragmentos de aproximadamente 212 pares de bases (pb).

En el gel post-PCR, se observa claramente una banda de ADN de aproximadamente 212 pb en el carril correspondiente a la muestra M3-A, identificada como *E. coli* (serotipo O157:H7). Esta banda presenta una migración similar a la del carril del control positivo (C+), mientras que el carril del control negativo (C-) no muestra evidencia de amplificación, lo que valida la especificidad de la PCR.

Este patrón de bandas confirma la presencia de la secuencia de ADN específica de *E. coli* en la muestra M3-A, interpretándose como un resultado positivo para la detección de este microorganismo mediante la técnica de PCR.

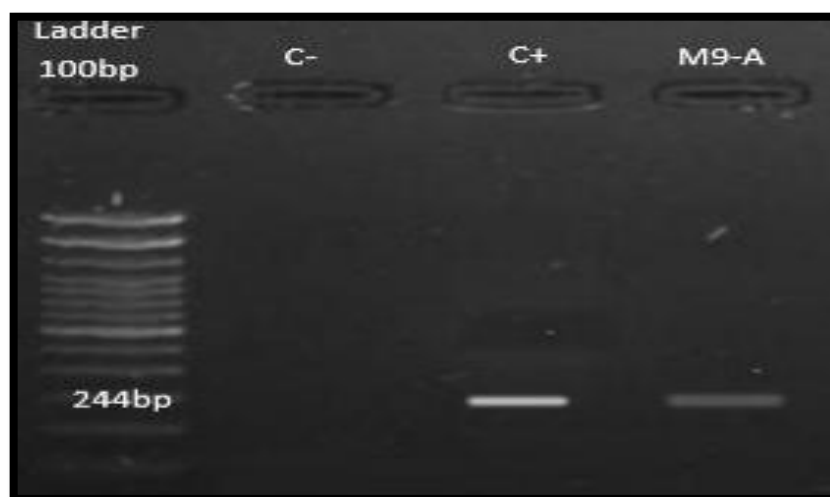
Mediante el análisis PCR y la técnica de electroforesis, tras observar los resultados en la foto documentador con luz ultravioleta, se determinó que los aislados pertenecen a *E. coli* del serotipo OH:157, utilizando controles positivos específicos para este serotipo como referencia.

Discusión

La amplificación de un fragmento de 212 pb mediante PCR y su visualización en el gel de agarosa en la muestra M3-A confirma la presencia de *E. coli* serotipo OH:157. La coincidencia con el control negativo valida la especificidad de la prueba. Este serotipo es altamente patógeno y su detección en agua potable representa un serio riesgo para la salud pública, debido a su capacidad de causar brotes de diarrea hemorrágica (Hortelano, 2021). La PCR ha demostrado ser una herramienta sensible y específica para la detección de *E. Coli* en matrices ambientales (Cortes, 2020).

Figura 22.

Electroforesis en gel de agarosa correspondiente a PCR realizada para la detección de Salmonella spp.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

En la Figura 22 se muestra la electroforesis en gel de agarosa correspondiente a la PCR realizada para la detección de *Salmonella*. Para la amplificación, se utilizaron cebadores de la marca Invitrogen, cuyas secuencias fueron: invaA3R (R,5'-TCCATCAAATTAGCGGAGGC-3') y inva3F (F,5'AACGTGTTTCCGTCGTAAT-3'), que reconocen una secuencia del ADN del género *Salmonella*, amplificando fragmentos de aproximadamente 244 pares de bases (pb).

En el gel post-PCR se observó una banda de ADN de aproximadamente 244 pb en el carril correspondiente a la muestra M9-A, previamente identificada como *Salmonella*. Esta banda presentó una migración similar a la del carril del control positivo (C+), lo que indica un resultado positivo para la presencia de este patógeno.

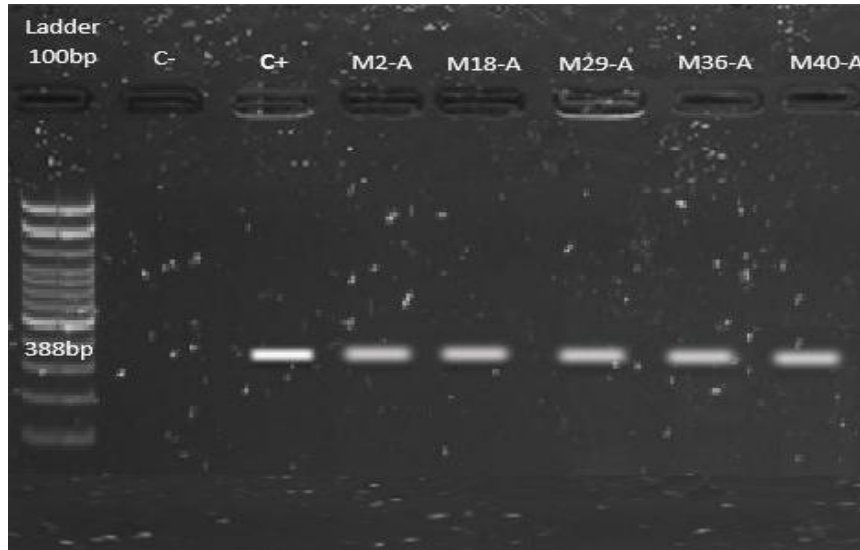
El control negativo (C-) no presenta bandas, confirmando la ausencia de contaminación y especificidad la amplificación. En la muestra M9-A se observó una banda específica correspondiente a *Salmonella* spp, validando su presencia mediante PCR. El análisis por electroforesis y el uso de controles positivos se confirmó la identificación molecular de la especie

Discusión

La presencia de una banda de 244 pb en la muestra M9-A confirma la detección de *Salmonella* mediante PCR. La coincidencia con el control positivo y la ausencia de amplificación en el control negativo validan la especificidad del ensayo. Esta técnica permite una identificación rápida y precisa de *Salmonella* spp en matrices ambientales (Carrión, 2022).

Figura 23.

Electroforesis en gel de agarosa correspondiente a PCR realizada para la detección de *Listeria monocytogenes*.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Interpretación

En la Figura 23 se muestra la electroforesis en gel de agarosa correspondiente a la PCR realizada para la detección de *Listeria monocytogenes*. Para la amplificación, se utilizaron cebadores de la marca Invitrogen, cuyas secuencias fueron: *Listeria* (F, 5'-GAATGTAACTTCGGCGCAATCAG-3') y *Listeria* (R, 5'-GCCGTCGATGATTTGAACTTCATC-3'), los cuales reconocen el ADN del género *Listeria* y permiten amplificar fragmentos de aproximadamente 388 pares de bases (pb).

En el gel de agarosa post-PCR se observa la presencia de bandas de ADN de un tamaño aproximado de 388 pb en los carriles correspondientes a las muestras M2-A, M8-A, M29-A, M36-A y M40-A. Estas bandas presentan una migración similar a la del carril del control positivo (C+), mientras que el control negativo (C-) no muestra ninguna banda, lo cual valida la especificidad del proceso.

Mediante el análisis por PCR y la técnica de electroforesis, al observar los resultados en la foto documentador con luz ultravioleta, se determinó que los aislados pertenecen a la especie *Listeria monocytogenes*, utilizando controles positivos específicos como referencia. Este patrón de bandas confirma la

amplificación exitosa del fragmento de ADN específico de *Listeria monocytogenes* en las cinco muestras mencionadas, interpretándose como un resultado positivo para la detección de material genético de esta bacteria mediante la técnica de PCR.

Discusión

La banda de aproximadamente 500 pb observada en la muestra M4-A indica un resultado positivo para *Listeria monocytogenes* mediante PCR. La migración coincide con el control positivo y no se evidenció amplificación en el control negativo, confirmando la especificidad del ensayo. La PCR es una herramienta eficaz para detectar *Listeria* en muestras de agua, incluso a bajas concentraciones (Romero, 2020).

4.2 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Hipótesis nula

No existe presencia significativa de contaminantes microbiológicos en el agua del casco urbano de Guaranda,

Hipótesis alterna

Si existe presencia significativa de contaminantes microbiológicos en el agua del casco urbano de Guaranda.

Verificación de la hipótesis

Los resultados obtenidos mediante los análisis microbiológicos y pruebas moleculares (PCR) realizadas sobre las muestras de agua del casco urbano de Guaranda indican que existe presencia de patógenos como *E. coli* (2%), *Listeria monocytogenes* (9%) y *Salmonella* spp. (2%) en las muestras analizadas. Estos hallazgos sugieren que hay contaminación microbiológica en el agua potable, lo que contrasta con la hipótesis nula de que no hay presencia significativa de contaminantes microbiológicos. Además, los resultados obtenidos mediante la técnica de PCR y electroforesis, en conjunto con los análisis bioquímicos realizados, refuerzan la evidencia de la presencia de estos patógenos.

De acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1108, el agua destinada al consumo humano debe estar libre de microorganismos patógenos. Por lo tanto, la detección de estos agentes en las muestras analizadas representa un incumplimiento de dicha normativa. En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa de que existe presencia significativa de contaminantes microbiológicos en el agua del casco urbano de Guaranda

CAPITULO V

5.1 CONCLUSIONES

- La georreferenciación y toma de muestras en diferentes puntos del casco urbano de Guaranda permitió obtener una distribución representativa de las muestras de agua potable, abarcando diversas zonas del municipio. Este proceso fue esencial para identificar áreas potencialmente contaminadas y facilitar una interpretación más precisa de los resultados microbiológicos. Además, se cumplió con lo establecido en las normas NTE INEN 2169:2013 (conservación y transporte de muestras), NTE INEN 2176:2013 (técnicas de muestreo) e INEN 2176:1998 (rotulación de envases), asegurando la validez técnica del procedimiento de recolección y análisis.
- Los resultados obtenidos a través de las técnicas de cultivo, específicamente con medios selectivos para el aislamiento de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, y coliformes totales y fecales, demostraron la presencia de patógenos en varias muestras de agua. Este análisis contribuyó significativamente a la identificación de la contaminación microbiológica presente en el agua, subrayando la importancia de contar con sistemas de control adecuados para garantizar la potabilidad del agua en Guaranda.
- La confirmación de los patógenos mediante pruebas bioquímicas proporcionó un respaldo importante a los hallazgos preliminares obtenidos en el cultivo. Las pruebas bioquímicas como la prueba de catalasa, oxidasa y otras pruebas IMViC, permitieron confirmar con precisión la presencia de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, y *Salmonella* spp en las muestras de agua, garantizando la fiabilidad de los resultados obtenidos y la validez de los métodos empleados.
- La caracterización molecular mediante la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) permitió amplificar y confirmar de manera específica los fragmentos de ADN correspondientes a los patógenos de

interés. La detección de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, y *Salmonella* spp por PCR validó la presencia de estos microorganismos patógenos en el agua potable de Guaranda, proporcionado una herramienta robusta y precisa para la identificación molecular de contaminantes microbiológicos en las muestras.

5.2 RECOMENDACIONES

- Para lograr una georreferenciación más efectiva, se recomienda el uso de herramientas de Sistemas de Información Geográfica (SIG) que permiten una mejor visualización, análisis espacial y planificación de los puntos de muestreo. La identificación precisa de zonas críticas facilita la priorización de áreas potencialmente vulnerables a la contaminación. Además, para garantizar la representatividad y fiabilidad de las muestras, es indispensable seguir rigurosamente los protocolos establecidos en las normativas NTE INEN 2169:2013 (conservación y transporte), NTE INEN 2176:2013 (técnicas de muestreo) e INEN 2176:1998 (rotulación de envases), evitando así cualquier contaminación cruzada o alteración en los resultados microbiológicos.
- Se recomienda el uso de las cajas Compact Dry™ para la detección de coliformes totales y fecales en muestras de agua, debido a su alta sensibilidad, facilidad de uso y rapidez en la obtención de resultados. Este método, validado bajo la norma ISO 9308-1:2014, garantiza precisión, reproducibilidad y cumplimiento normativo, permitiendo un análisis eficiente incluso en laboratorios con recursos limitados. Su formato preestablecido reduce el riesgo de contaminación cruzada y mejora la estandarización de los análisis microbiológicos.
- Para garantizar una identificación bacteriana precisa y reducir el riesgo de falsos negativos, se recomienda implementar un enfoque diagnóstico multimodal que integre: pruebas bioquímicas convencionales como catalasa, oxidasa e IMViC, útiles para la diferenciación preliminar de enterobacterias y otros grupos bacterianos; tinción de Gram, fundamental para clasificar las bacterias según la estructura de su pared celular (Gram positivas y Gram negativas); y el análisis morfológico (cocos, bacilos) para complementar la caracterización fenotípica. Esta estrategia integral fortalece la confiabilidad de los resultados microbiológicos.

- Para estudios futuros, se recomienda priorizar la vigilancia de los puntos georreferenciados con evidencia de contaminación microbiológica, particularmente en las rutas 18 y 22, donde los análisis bioquímicos y moleculares (PCR) confirmaron la presencia de patógenos. Considerando el riesgo de diseminación, es indispensable implementar medidas inmediatas de desinfección en dichas zonas, seguidas de un programa de monitoreo microbiológico sistemático. Esta acción contribuirá a prevenir posibles brotes epidemiológicos y garantizar la inocuidad del recurso hídrico en el casco urbano de Guaranda.

BIBLIOGRAFÍA

Acharte, G. (2023). Diagnóstico de *Salmonella* spp. En cobayos reproductoras clínicamente sanos mediante pruebas bioquímicas de los centros poblados de Huancavelica [Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional de Huancavelica].

<https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/154068b3-dcea-4c8e-a146-be40196694b3/content>

Angulo, A. (2021). La auditoría ambiental y el servicio de agua potable en la ciudad de Huánuco. *Investigación Valdizana*, 15(4), Article 4. <https://doi.org/10.33554/riv.15.4.1108>

Anselmo, R. J., Ojeda, P. A., & Barrios, H. A. (2020). Detection and antimicrobial susceptibility of *Shigella* spp. In prepared, ready to eat salads. *Información tecnológica*, 31(1), 13-20. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642020000100013>

Aperador, L. (2021). Caracterización molecular de pato tipos de *Escherichia coli* de transmisión alimentaria aislados en Pamplona, Colombia. <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/3324>

Ayala, K., & Vega, W. (2024). Estudio Microbiológico de la Calidad del Agua Potable de la Ciudad de Manta [Tesis de Grado, Universidad Estatal del Sur de Manabí].

<https://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/7413/1/AYALA%20MACIAS%20KARLA%20MICHELLE%20VEGA%20MACIAS%20WENDY%20STEFANI.pdf>

- Badín, J., Barisoni, G. L., Barón, C. M., Benitez Cerrudo, M. P., Casagrande, M. V., Chulibert, M. E., Digiuni, S. N., Fenoglio, I. E., Flores, H. G., García, H. M., Ghione Avram, A. E., Giordano, M., Godoy, R. B., Lupo, M., Marzullo, R., Matskeeff, K. T., Monti, M. S., Mori, I. M., Neira, M. V., ... Zago, B. (2021). El agua potable. Un enfoque biomédico. Centro Universitario de Estudios Medioambientales. <http://hdl.handle.net/2133/21430>
- Ballesteros, B. (2020, abril). Guaranda—Enciclopedia del Ecuador. <https://www.encyclopediadelecuador.com/guaranda/>
- Betancurth, D. P., Vélez, C., & Palacio, N. (2023). Georeferencing at a Health Service,: An Experience from Community Assets. *ÁNFORA*, 30(54), Article 54. <https://doi.org/10.30854/anf.v30.n54.2023.912>
- Bolaños, J. S. (2022). Sistema de localización al interior de la Universidad Mariana basado en realidad aumentada. <https://repositorio.umariana.edu.co//handle/20.500.14112/28020>
- Bravo, J. S., Sánchez, A. V., Bravo, D., & Suárez, J. A. B. (2023). Análisis y determinación de microorganismos bacterianos presentes en el hospital humanitario fundación Pablo Jaramillo. *Polo del Conocimiento*, 8(9), Article 9. <https://doi.org/10.23857/pc.v8i9.6085>
- Brossard, E., Gafas, C., Hernández, D., & Figueredo, K. (2020). Enfermedades de transmisión hídricas en el cantón Penipe, Ecuador 2016-2017. *Revista Cubana de Salud Pública*, 46(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-34662020000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Camargo, K. D., & Puentes, M. M. (2022). Identificación de *Leptospira* spp utilizando una técnica molecular de PCR convencional en caninos y felinos del Instituto Distrital de Protección y Bienestar Animal (IDPYBA). <https://repository.udca.edu.co/server/api/core/bitstreams/8f4072ad-0038-4f63-8988-bf92f0f50b9f/content>
- Carrión, M. L. (2022). Evaluación fisicoquímica y microbiológica del agua destinada al consumo humano para la demostración de su calidad e inocuidad [Universidad Técnica de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/19484>
- Centeno, C., & Quispe, M. (2021). Coliformes totales y termotolerantes en las aguas termales de las piscinas del barrio de San Cristóbal—Huancavelica. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/4065>
- Cepeda, H., Gaxiola, S., Castro, C., Portillo, J., Cháidez, M., & Enríquez-Verdugo, I. (2022). Identificación y resistencia antimicrobiana de bacterias de tráquea de gallinas ponedoras. *Abanico Veterinario*, 12, e2021-3.
- Chavarría, E. Y., Huamaní, L. L., Basurto, C. M., Gutierrez, J. E., & Cusiche, M. L. (2023). Determinación clásica de coliformes fecales en agua entubada en el distrito de Ahuaycha, Perú. *Revista Alfa*, 7(21), Article 21. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v7i21.236>
- Corte, P. (2020). 3. Infección por listeriosis durante el embarazo. *Revista para profesionales de la salud*, 3(30), 50-60.
- Cortes, H. (2020). Desarrollo de un Prototipo Microfluídico Acoplado a un Microscopio Raman para la Detección de *E. Coli* En Agua Potable. *Mundo*

- Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología, 9(16), 148. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2016.16.56909>
- Cortés, M., Bautista, S., Ventura, R., Landa, P., & Hernández, M. (2021). Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del género *Salmonella*. 22(1). <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81367929003>
- Cruz, J. (2024). Tratamiento de aguas residuales originadas por la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI), Empleando *Eichhornia crassipes* para Biorremediación y posterior desinfección con Luz UV-C. [Thesis, Universidad Autónoma de Chiriquí.]. <http://jadimike.unachi.ac.pa/handle/123456789/2377>
- Da Silva, E. G., & Mendes, M. P. (2022). Características e prevenção da contaminação *Escherichia coli*. Revista Científica e-Locução, 1(22), Article 22. <https://doi.org/10.57209/e-locucao.v1i22.503>
- Ehuwa, O., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2021). *Salmonella*, Food Safety and Food Handling Practices. Foods, 10(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods10050907>
- Freire, R. D. P., Pino, M., Andrade, P., & Mejía, A. (2020). Evaluación de la calidad del agua del río chambo en época de estiaje utilizando el índice de calidad del agua ICA-NSF. Perfíles, 1(23), 54-60. <https://doi.org/10.47187/perf.v1i23.248>
- Gil, Á., & Marugán, J. (2022). Modelización integral del proceso de desinfección solar de agua: Descripción del viaje del fotón desde el sol hasta el patógeno

- y del sistema de reacciones mecánicas de inactivación. *Revista Ing-Nova*, 1(2), Article 2. <https://doi.org/10.32997/rin-2022-4007>
- Giler, L. V. E., Sánchez, M. P. S., & Álvarez, M. S. V. (2020). El agua: Gravámenes sobre su contaminación. *Dilemas contemporáneos: Educación, Política y Valores*, 38. <https://doi.org/10.46377/dilemas.v35i1.2259>
- Gomez, I. T. (2023). Informe final de semillero de investigación en ingeniería Genética-Geneia.
- Gonzalez, A., Estrada, I., De Los Reyes, M. L., Hernandez, I., & Quintanilla, L. Y. (2023). Identificación de microorganismos patógenos, aislados de moscas de importancia forense, utilizando pruebas bioquímicas, en el noreste de México. *Revista Digital de Ciencia Forense*. <https://doi.org/10.22201/enacif.30617588e.2023.2.2.105>
- González, R. E., Tarón, A., & Pérez, J. (2022). Microbial growth model to predict growth behavior of *Salmonella* spp. On Colombian coastal cheese. *Información tecnológica*, 33(1), 225-234. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642022000100225>
- Hernández, O. (2021). Aproximación a los distintos tipos de muestreo no probabilístico que existen. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 37(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-21252021000300002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Hortelano, I. (2021). Determinación del riesgo para el consumidor de la presencia de *H. pylori* y otros *Helicobacter* spp. Patógenos en aguas de consumo mediante técnicas moleculares y metagenómica [Tesis Doctoral, Universitat Politècnica de València.]. <https://riunet.upv.es/handle/10251/178942>

- INEN. (2020). Agua de Consumo Humano, Requisitos. Corporación de Estudios y Publicaciones. https://drive.google.com/file/d/1dNP7vmr8Ok_x_08sdoqRrlBVSYo7Csg/view
- Ireton, K., Mortuza, R., Gyanwali, G. C., Gianfelice, A., & Hussain, M. (2021). Role of internalin proteins in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 116(6), 1407-1419. <https://doi.org/10.1111/mmi.14836>
- Jiménez, R., Barrionuevo, F. J., & Carmona, F. D. (2021). Manual de prácticas de Ingeniería Genética. <https://digibug.ugr.es/handle/10481/80335>
- Jumbo, N. M., & García, J. M. (2024). Detección de *Escherichia coli* como indicador de contaminación en agua de cisternas de uso domiciliario en la cabecera parroquial de Tendales del cantón El Guabo. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/23588>
- Lainez, W., & Navarrete, G. (2024). Implementación de un Prototipo de Monitoreo para la Visualización en Tiempo Real de Vehículos utilizando GPS y ESP32 [Tesis de Ingeniería]. Universidad Politécnica Salesiana.
- Lecuit, M. (2020). *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology. *Cellular Microbiology*, 22(4), e13186. <https://doi.org/10.1111/cmi.13186>
- Leza, M., Víquez, E., Barquero, E., Sancho, C., & Umaña, R. (2022). Optimización de técnicas de PCR para la detección de *Salmonella* enterica (serotipo Gallinarum) en aves de corral de Costa Rica. *Cuadernos de Investigación UNED*, 14(1). <https://doi.org/10.22458/urj.v14i1.3831>
- Llanos, F. (2024). Evaluación de la Calidad Del Agua Embotellada en la Provincia Bolívar a Través de Análisis Biomoleculares (Pcr) y Cultivos

Microbiológicos. [Universidad Estatal de Bolívar].
<https://dspace.ueb.edu.ec/server/api/core/bitstreams/14343418-8f91-4bf6-b484-5e9612834ed5/content>

Lozada, : Jennifer. (2023). Estudio de los criterios fisicoquímicos, microbiológicos y metales pesados en agua para consumo humano en la comunidad de Misquilli, en la parroquia de Santa Rosa, provincia de Tungurahua [Tesis de Ingeniería, Universidad Técnica de Ambato].
<https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/60dd6f94-3cda-4892-915d-0c31f43ec1da/content>

Machado, R. A. L., Cisneros, K. M. C., Guanoliq, Á. P. J., Apolo, A. E. A., & Eras, R. A. Y. (2022). Evaluación del Índice de la Calidad de Aguas de los Ríos de la Provincia de “El Oro”. *Revista de Investigaciones en Energía Medio Ambiente y Tecnología RIEMAT* ISSN 2588-0721, 7(2), Article 2.
<https://doi.org/10.33936/riemat.v7i2.5220>

Magaña, F. E., Montiel, L. J., & Ruano-Iraheta, C. E. (2021). Evaluación de parámetros microbiológicos en concordancia con la norma salvadoreña de jalea real NSO: 67.38.03:05 usando diferentes técnicas de extracción de jalea real de abejas (*Apis mellifera*). *Revista Agrociencia*, 4(18), Article 18.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.10659532>

Mamani, M. (2023). Evaluación del nivel de contaminación de los principales parámetros microbiológicos de control sanitario del agua potable del distrito de Ilave 2021 – 2022. Universidad Privada San Carlos.
<http://repositorio.upsc.edu.pe:8080/handle/UPSC/567>

- Martínez, M. A. (2020). BACTERIAS versus VIRUS. *Kuxulkab'*, 26(56), Article 56. <https://doi.org/10.19136/kuxulkab.a26n56.3776>
- Medvid, O. O., Shcherbakova, N. S., & Peredera, S. B. (2024). The legal norms of the European Union regarding the prevention of foodborne *listeriosis*, consumer risk assessment, diagnostic methods, and identification of *Listeria* spp. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(114), Article 114. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11406>
- Mellado, O. M. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *NPunto*, 3(30), 88-111.
- Mercado, J., & Coronado, J. (2021). Manual de Temas Nodales de la Investigación Cuantitativa. Un Abordaje Didáctico. En *El muestreo y su relación con el diseño metodológico de la investigación (Primera)*. <https://centro-investigacion-innovacion-educativa.bravesites.com/files/documents/306aa3ba-3be8-4e59-ab4d-51508f7513c6.pdf#page=82>
- Minaya, M. (2020). Implementación del método de filtración por membrana empleando el sistema de filtración EZ-FIT TM en análisis microbiológico de agua purificada en laboratorio de caramelos farmacéuticos en el periodo de mayo – octubre del 2019. <https://hdl.handle.net/20.500.13053/4243>
- Molina, J., Paños, E., & Ruiz, J. (2021). Microorganismos y hábitos de higiene. Estudio longitudinal en los cursos iniciales de Educación Primaria. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 18(2), Article 2.

https://doi.org/10.25267/Rev_Eureka_ensen_divulg_cienc.2021.v18.i2.22

01

Molina, J., & Uribarren, T. (2020). Generalidades de las bacterias.

<https://microypara.facmed.unam.mx/index.php/generalidades-de-las-bacterias/>

Mora Alvarado, D. (2024). Evolución de las guías microbiológicas de la OMS para

evaluar la calidad del agua de consumo humano. Periodos 1984-1994-2004-2011 y 2024. Revista Tecnología en Marcha, Pág. 110-120.

<https://doi.org/10.18845/tm.v37i8.7174>

Nakon. (2025). Cultivo mixto de bacterias cultivadas en placas de Petri.

Depositphotos. <https://depositphotos.com/es/photo/mixed-culture-of-bacteria-grown-on-petri-dish-276671176.html>

Núñez, D. (2023). Detección de patógenos en agua de consumo humano mediante

la técnica PCR [Tesis de Maestría, Universidad Técnica de Cotopaxi].

<https://repositorio.utc.edu.ec/server/api/core/bitstreams/dc8178c2-2a23-410e-9595-5586bde7e204/content>

Ortega, J. (2020). Detección de *Salmonella typhimurium* mediante un

inmunosensor basado en microbalanzas de cristal de cuarzo (QCM) inmovilizado con nanopartículas de oro funcionalizadas [Tesis Doctoral,

Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey].

<https://repositorio.tec.mx/server/api/core/bitstreams/1dcb876e-6bd1-4696-a0ba-04ceae7ead50/content>

Pedraza, A. L., & Poveda, D. S. (2020). Estimación de parámetros cinéticos de un

cultivo mixto microbiano basado en bacterias acumuladoras de pha,

procedentes de un sistema de lodos activados.
<https://hdl.handle.net/20.500.11839/7774>

Pino, S. L., Barros, D. V., Sisalema, L. A., Fernandez, P. L., & Molina, C. D. (2021). El costo de remediación del recurso agua por contaminación de coliformes fecales en el Estero Salado, sector La Chala, Guayaquil-Ecuador. *Espacios*, 42(04), 102-120. <https://doi.org/10.48082/espacios-a21v42n04p09>

Poma, D., Balarezo, B., & Zambrano, D. A. (2021). Diagnostico ambiental bacteriológico de vertidos generados en la Planta de tratamiento Pagua cantón El Guabo y planteamiento de medidas correctoras [bachelorThesis, Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/16934>

Quenta, A. (2020). Tipos de siembra en medios de cultivo [Universidad Privada de Tacna]. <https://www.studocu.com/pe/document/universidad-nacional-de-la-amazonia-peruana/microbiologia/tipos-de-siembra-microbiologia/9019969>

Quintana, S., Núñez, O., Mora, M. L., & Díaz, P. (2023). *Salmonella* spp como contaminante de la carne de pollo: Una revisión. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(5), 187-204. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i5.596>

Quispe, A., & Florian, A. (2023). Informe reconocimiento de Equipos. <https://es.slideshare.net/slideshow/informe-reconocimiento-de-equipospdf/258585876>

Ramos, D. (2023). Evaluación del medio cromogénico, CHROMagar™ *Salmonella* Plus, para la detección de *Salmonella* spp. Incluyendo *Salmonella* lactosa

positiva, S. Typhi y S. Paratyphi. Institucional UNFV.
http://190.12.84.13/bitstream/handle/20.500.13084/5893/UNFV_FCNM_Ramos_Torricelli_Diego_Gianmarco_Titulo_profesional_2022.pdf?sequence=3&isAllowed=y

Recalde, M. (2022). «Agencia de Regulación y Control del agua Resolución 2021» (No. 002). Ministerio de Salud Pública.
<https://www.regulacionagua.gob.ec/?s=Agencia+de+Regulacion+y+Control+del+agua+Resolucion+2021>

Reinoso, E., & Cevallos, M. (2024). Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de cinco especies de sobralia (orchidaceae) presentes en el Ecuador. *MQRInvestigar*, 8(2), Article 2.
<https://doi.org/10.56048/MQR20225.8.2.2024.500-523>

Rivera, M., & Cisneros, B. (2024). Análisis de la calidad del agua de consumo en la red de distribución de agua potable del sector urbano del cantón Chambo [bachelorThesis, Riobamba, Universidad Nacional de Chimborazo].
<http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/12984>

Romero, P. R. (2020). La competencia de los abogados, graduados en la Utmach, en defensa de los derechos humanos.
<http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/16425>

Salas, J., Maraver Eizaguirre, F., Rodríguez Mañas, L., Saenz De Pipaón, M., Vitoria Miñana, I., & Moreno Aznar, L. (2020). The importance of water consumption in health and disease prevention: The current situation. *Nutrición Hospitalaria*. <https://doi.org/10.20960/nh.03160>

- Saltos. (2020). La Ciudad. Guaranda.
<https://www.guaranda.gob.ec/newsiteCMT/la-ciudad/>
- Sánchez, T. (2023). Estandarización de un método más preciso para el diagnóstico molecular de la enfermedad de Huntington.
[https://accesoabierto.uh.cu/files/original/2180441/Canal_Sanchez_Thalia_\[2023\].pdf](https://accesoabierto.uh.cu/files/original/2180441/Canal_Sanchez_Thalia_[2023].pdf)
- Sanz, L. (2020). Trabajo de fin de grado Estudio de factores de virulencia en *Escherichia Coli* [Universidad de Valladolid].
<https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/48444/TFG-M-N2387.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Schoder, D., Guldemann, C., & Märtlbauer, E. (2022). Asymptomatic Carriage of *Listeria monocytogenes* by Animals and Humans and Its Impact on the Food Chain. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 11(21), Article 21.
<https://doi.org/10.3390/foods11213472>
- Serrano. (2020). Elaboración de Una Maqueta de Un Termociclador PCR | PDF | Reacción en cadena de la polimerasa | Biotecnología. Scribd.
<https://es.scribd.com/document/474584580/Elaboracion-de-Una-Maqueta-de-Un-Termociclador-Pcr>
- Sierra, C. A. (2021). Calidad del agua: Evaluación y diagnóstico. Ediciones de la U.
<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=2fAYEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA5&dq=calidad+del+agua&ots=ceWSQmYKdn&sig=Yv6sIyfBTlNCo2Um55BhVFcV3SU#v=onepage&q&f=false>

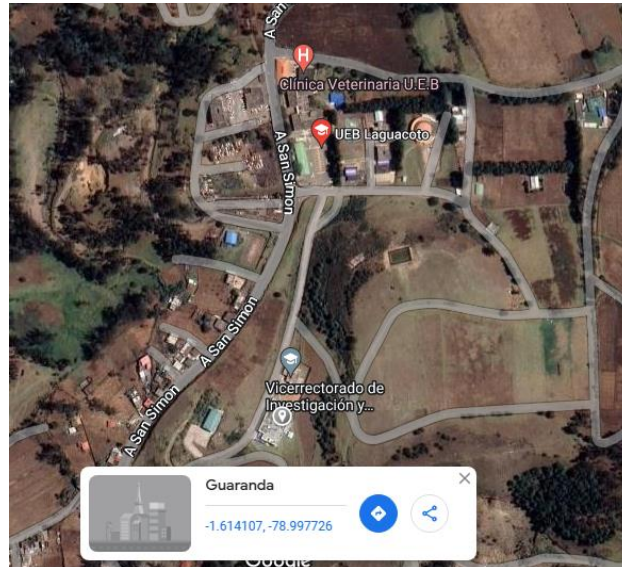
- Silva, V., Lopes, N., Dacle, L., Silva, V. S. da, Santos, K., & Silva, S. E. L. da. (2020). Isolamento e identificação bioquímica de *Salmonella* spp. Em frangos de corte / Isolation and biochemical identification of *Salmonella* spp. In broilers. Brazilian Journal of Development, 6(11), 89982-89993. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n11-420>
- Souza, H., Alves, P., & Costa, T. (2025, enero 18). Is green metallic sheen in emb agar accurate to assist the *Escherichia coli* identification? Revista Pro-Universus. https://www.researchgate.net/publication/388072062_Is_green_metallic_sheen_in_emb_agar_accurate_to_assist_the_Escherichia_coli_identification
- Suárez, M. N. (2021). Producción de hidrógeno mediante fotocatalisis heterogénea [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria]. En Producción de hidrógeno mediante fotocatalisis heterogénea. <https://portalciencia.ull.es/documentos/61949627a2c9596c24a0a09b>
- Trujillo, L., & Beltran, E. (2023). Evaluación del Estado de los Microorganismos del Cepario del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas [Tesis de Grado, Universidad Distrital Francisco José de Caldas]. <https://repository.udistrital.edu.co/server/api/core/bitstreams/8008c442-2fe6-486d-a9cb-1cea6abd9e9e/content>
- Ushca, D. A. (2023). Identificación de *Escherichia coli* en carne de pollo comercializada en expendios de la ciudad de Babahoyo [bachelorThesis, BABAHOYO: UTB, 2023]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/14077>

- Valdés, I. A., Zhurbenko, R., Lobaina, T., & Rodríguez, C. (2023). Control de la calidad y ensayos de rendimiento de CromoCen® SALM según la norma ISO 11133:2014/Amd.1:2018. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*.
- Velázquez, L. D. J., Ortiz, I., Chávez, J., Pámanes, G., Carrillo, A., & Pereda, M. (2022). Influencia de la contaminación del agua y el suelo en el desarrollo agrícola nacional e internacional. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.482>
- Vidal, A. C., Tur, B. N., Crosi, G., & Friss, C. (2020). Primera exploración de *Listeria monocytogenes* en refrigeradores domésticos de la ciudad de Montevideo [Universidad de la República (Uruguay)]. <https://agris.fao.org/search/en/providers/124543/records/670535bbb1dfe472e145fe79>
- Yepes, M. del S., Carrero, K., Vásquez, N., & Correa, E. (2022). Validación de PCR convencional para detectar *Escherichia coli* O157. *Información tecnológica*, 33(2 (Abril)), 3-12.

ANEXOS

Anexo 1.

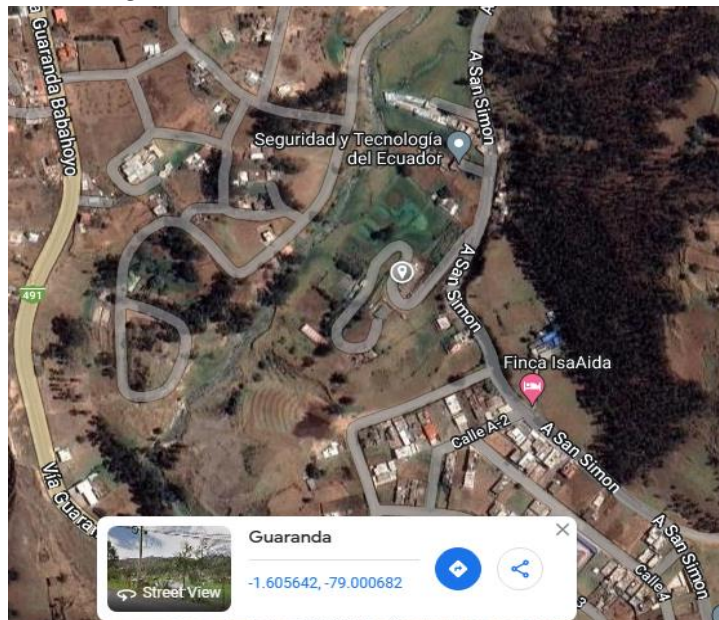
Mapa del laboratorio de vinculación de la UEB.



Fuente. Tomado de la ubicación mediante "Google Maps".

Anexo 2.

Mapa del laboratorio general de la UEB.



Fuente. Toma de la ubicación mediante "Google Maps".

Anexo 3.

Resultados microbiológicos obtenidos a partir del análisis de las 50 muestras de agua.

N° de muestra	Fecha	Coliformes Totales			Coliformes Fecales		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
M1	27 de agosto	+	+	-	-	-	-
M2	27 de agosto	+	+	-	-	-	-
M3	27 de agosto	-	-	-	-	-	-
M4	27 de agosto	-	-	-	-	-	-
M5	27 de agosto	+	+	+	-	-	-
M6	27 de agosto	+	+	+	-	-	-
M7	27 de agosto	-	-	-	-	-	-
M8	27 de agosto	+	+		-	-	-
M9	27 de agosto	-	-	-	-	-	-
M10	27 de agosto	+	+	+	-	-	-
M11	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M12	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M13	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M14	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M15	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M16	28 de agosto	+	+	+	-	-	-
M17	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M18	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M19	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M20	28 de agosto	-	-	-	-	-	-
M21	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M22	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M23	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M24	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M25	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M26	29 de agosto	-	-	-	-	-	-

M27	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M28	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M29	29 de agosto	+	+	+	-	-	-
M30	29 de agosto	-	-	-	-	-	-
M31	2 de septiembre	+	+	+	+	+	+
M32	2 de septiembre	+	+	+	-	-	-
M33	2 de septiembre	+	+	+	-	-	-
M34	2 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M35	2 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M36	2 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M37	2 de septiembre	-	-	-	+	+	+
M38	2 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M39	2 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M40	2 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M41	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M42	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M43	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M44	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M45	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M46	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M47	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M48	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M49	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-
M50	4 de septiembre	-	-	-	-	-	-

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Anexo 4.

Análisis microbiológicos mediante pruebas bioquímicas para la identificación de Escherichia coli O157:H7.

<i>Bacteria</i>	<i>Código</i>	<i>Pruebas Bioquímicas</i>						<i>Pruebas IMViC</i>											
		<i>Catalasa</i>			<i>Oxidasa</i>			<i>Rojo de Metilo</i>			<i>Indol</i>			<i>Voges-Poskauer</i>			<i>Citrato</i>		
		<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>
	<i>M1</i>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	<i>M3</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	<i>M7</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	<i>M8</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. Coli</i>	<i>M16</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M17</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M18</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	<i>M19</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M20</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Anexo 5.

Análisis microbiológicos mediante pruebas bioquímicas para la identificación de Salmonella spp.

<i>Bacteria</i>	<i>Código</i>	<i>Pruebas Bioquímicas</i>						<i>Pruebas IMViC</i>											
		<i>Catalasa</i>			<i>Oxidasa</i>			<i>Rojo de Metilo</i>			<i>Indol</i>			<i>Voges-Proskauer</i>			<i>Citrato</i>		
		<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>
	<i>M4</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella spp</i>	<i>M8</i>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M9</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M10</i>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Fuente. Autoría propia Pasto & Taco.

Anexo 6.

Análisis microbiológicos mediante pruebas bioquímicas para la identificación de listeria monocytogene.

<i>Bacteria</i>	<i>Código</i>	<i>Pruebas Bioquímicas</i>						<i>Pruebas IMViC</i>											
		<i>Catalasa</i>			<i>Oxidasa</i>			<i>Rojo de Metilo</i>			<i>Indol</i>			<i>Voges Proskauer</i>			<i>Citrato</i>		
		<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>M1</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M2</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M3</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M4</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M8</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M9</i>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M12</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M16</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M18</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M21</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M23</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	<i>M24</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M26</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	<i>M28</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	<i>M29</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M34</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>M36</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M37</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>M38</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>M40</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>M44</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>M46</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
<i>M50</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	

Fuente. Autoría propia Pasto & Taco.

Anexo 7.

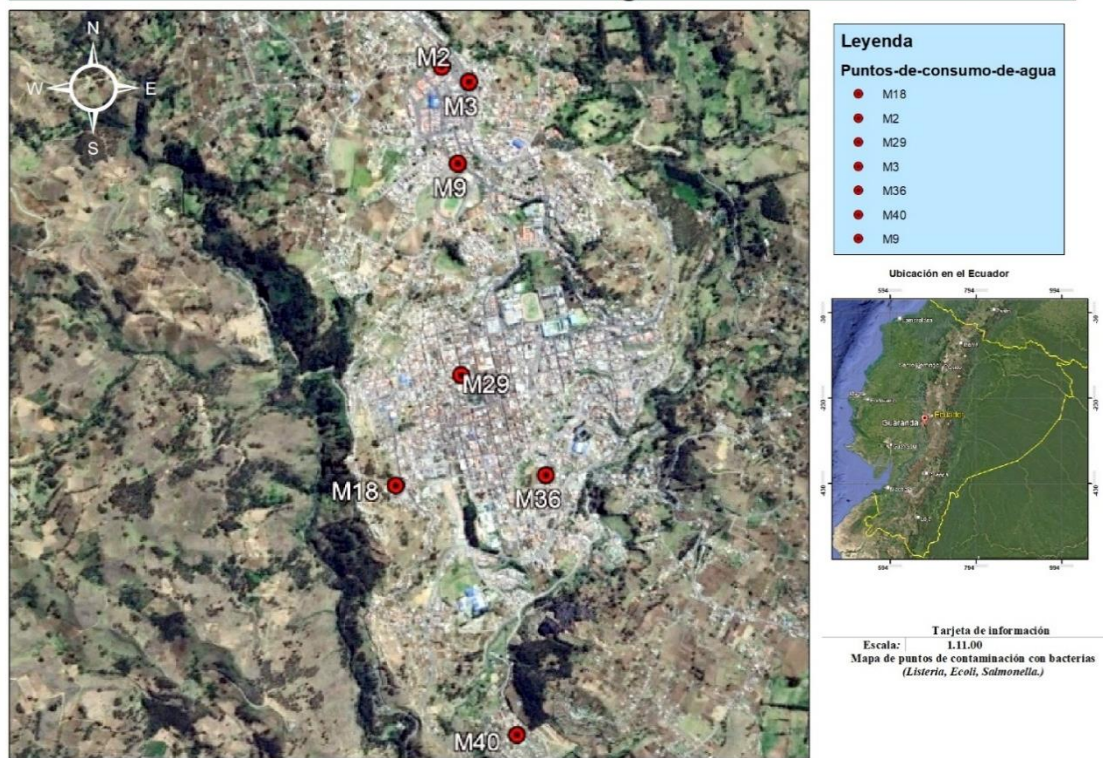
Caracterización bioquímica e identificación mediante pruebas IMViC de las muestras seleccionadas para el análisis de PCR.

Muestra	Microorganismo	Catalasa	Oxidasa	Rojo de Metilo (RM)	Indol	Voges-Proskauer (VP)	Citrato
M3	<i>E. coli</i>	+	-	+	+	-	-
M2	<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-	-	-	+	+
M18	<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-	-	-	+	+
M29	<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-	-	-	+	+
M36	<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-	-	-	+	+
M40	<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-	-	-	+	+
M9	<i>Salmonella spp</i>	+	-	+	-	-	+

Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Anexo 8.


Ubicación geográfica de las muestras de agua contaminadas analizadas mediante PCR.



Fuente. Autoría propia Pasto &Taco.

Anexo 9.

Informe del Laboratorio de Investigación sobre el análisis microbiológico de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*.

 VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN LABORATORIO II, KM 1.1/2, VÍA a SAN SIMÓN, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	BBM202502
		Versión	1
		Año	2025
		Página	1 de 2
INFORME DE RESULTADOS DE TESIS			

INFORME DE ENSAYOS N.º 110-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Nataly Mishelle Taco Amangandi Marylin Verónica Pasto Tandapilco
Muestras	Muestras de agua potable
Código asignado UEB	INV 110
Estado de la muestra	Líquida
Envase de recepción	Envases
Análisis requerido(s)	Evaluación de la calidad microbiológica del agua del casco urbano de Guaranda mediante técnicas de cultivo, caracterización por perfiles bioquímicos.
Fecha de recepción	6 de enero 2025
Fecha de análisis	6 de enero 2025 al 18 de marzo del 2025
Fecha de informe	3 de abril 2025
Técnico asignado	SXSJ

Análisis microbiológicos y pruebas bioquímicas para la identificación de *E. coli* en muestras de agua potable.

Bacteria	Código	Pruebas Bioquímicas									Pruebas IMViC								
		Catalasa			Oxidasa			Rojo de Metilo			Indol			Voges Poskauer			Citrato		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<i>Escherichia coli</i> .	M1	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	M3	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	M7	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	M8	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M17	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M18	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	M19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M20	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Análisis microbiológicos y pruebas bioquímicas para la identificación de *Salmonella* spp. En muestras de agua potable.

Bacteria	Código	Pruebas Bioquímicas									Pruebas IMViC								
		Catalasa			Oxidasa			Rojo de Metilo			Indol			Voges Poskauer			Cittrato		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<i>Salmonella</i> spp	M4	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M8	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	M10	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+


Análisis microbiológicos y pruebas bioquímicas para la identificación de *Listeria spp.* En muestras de agua potable.

Bacteria	Código	Pruebas Bioquímicas									Pruebas IMVIC								
		Catalasa			Oxidasa			Rojo de Metilo			Indol			Voges Poskauer			Citrato		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<i>Listeria spp</i>	M1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M2	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	M3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M4	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M8	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M9	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M12	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M18	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	M21	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M23	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	M24	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M26	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	M28	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	M29	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	M34	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	M36	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	M37	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	M38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	M40	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M44	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
M46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
M50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	

 Elaborado por: SANTIAGO XAVIER SANTOS JARA	 Revisado por: ESIDRO FAVIAN BAYAS MORUCHI
Elaborado Ing. Santiago Santos	Revisado Dr. Favian Bayas

Anexo 10.

Informe del Laboratorio de Investigación sobre el análisis microbiológico de coliformes totales y fecales.

 DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacolo R. Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Código	
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2025
		Página	Página 1 de 3

INFORME N°149-2025

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	
Solicitante	Pasto Tandapilco Marilyn Veronica, Taco Amangandi Nataly Mishelle
Muestra	Muestras de agua potable correspondientes al casco urbano del cantón Guaranda.
Código asignado UEB	INV 124- INV-125, INV 126, INV127, INV 128
Estado de la muestra	Líquido
Envase de recepción	Envase de plástico de 1.5 l
Análisis requerido(s)	Identificación de coliformes totales, coliformes fecales.
Fecha de recepción	28/08/2024
Fecha de análisis	28-29-30/08/2024. 01-02-03/09/2025
Fecha de informe	05/05/2025
Técnico (s) asignado	MIPV

Código	Identificación de la muestra	Código de muestra	Coliformes Totales			Coliformes Fecales		
			R1	R2	R3	R1	R2	R3
INV-124	Agua del sector correspondiente a la ruta 14, entregado por el EMAPG	M1	+	-	-	-	-	-
		M2	+	-	-	-	-	-
		M3	-	-	-	-	-	-
		M4	-	-	-	-	-	-
		M5	+	+	+	-	-	-
		M6	+	+	+	-	-	-
		M7	-	-	-	-	-	-
		M8	+	-	-	-	-	-
		M9	-	-	-	-	-	-
		M10	+	+	+	-	-	-
INV-125	Agua del sector correspondiente a la ruta 18, entregado por el EMAPG	M11	-	-	-	-	-	-
		M12	-	-	-	-	-	-
		M13	-	-	-	-	-	-
		M14	-	-	-	-	-	-
		M15	-	-	-	-	-	-
		M16	+	+	+	-	-	-
		M17	-	-	-	-	-	-



UEB UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Leguacob 8, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Código	
				Versión	1
				Año	2025
				Página	Página 3 de 3
		INFORME DE RESULTADOS			

entregado por el EMAPG	M48	-	-	-	-	-	-
	M49	-	-	-	-	-	-
	M50	-	-	-	-	-	-

Dr. Favián Bayas Morejón
Director de Investigación y Vinculación

Anexo 11.

Informe del laboratorio sobre el análisis de muestras de agua mediante técnica de PCR.



Quito-02-abril- 2025

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

REPORTE DE ANÁLISIS PCR EN MUESTRAS DE AGUA

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL CLIENTE

Cliente: Pacheco Muñoz Diana Elizabeth

RUC: 220022220-2

Dirección: Guaranda

Teléfono: 0989053725

e-mail: dpacheco@mailes.ueb.edu.ec

Análisis solicitado por: Pacheco Diana

Fecha de recepción de la muestra: 22/03/2025

Fecha de inicio del análisis: 22/03/2025

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Código	Detalle de la muestra
1	Lis M1-3 F
2	Lis M2-2 F
3	Lis M2-3 F
4	Lis M3-3 F
5	Lis M4 F
6	Lis M4-3 F
7	Lis M5-1 F
8	Lis M6-2 F
9	Sal M2-3 F
10	Sal M3-1 F
11	Sal M6-2 F
12	E. coli M2-1 F
13	E. coli M3 F
14	E. coli M6-2 F
15	Lis M2 A
16	Lis M18 A
17	Sal M9 A
18	Lis M29 A
19	Lis M36 A
20	Lis M40 A
21	E. coli M3 A

EXTRACCIÓN DE ADN

Código	Ng/ μ L
Lis M2 A	60.1
Lis M18 A	63.6
Sal M9 A	58.2
Lis M29 A	87.4
Lis M29 A	54.6
Lis M36 A	72.8
Lis M40 A	86.4
E. coli M3 A	54.7
Lis M1-3 F	77.2
Lis M2-2 F	70.6
Lis M2-3 F	56.8
Lis M3-3 F	68.9
Lis M4 F	90.2
Lis M4-3 F	78.4
Lis M5-1 F	55.5
Lis M6-2 F	90.5
Sal M2-3 F	70.2
Sal M3-1 F	85.9
Sal M6-2 F	743
E. coli M2-1 F	51.2
E. coli M3 F	91.11
E. coli M6-2 F	75.8

PCR -E. COLI- AGUA POTABLE

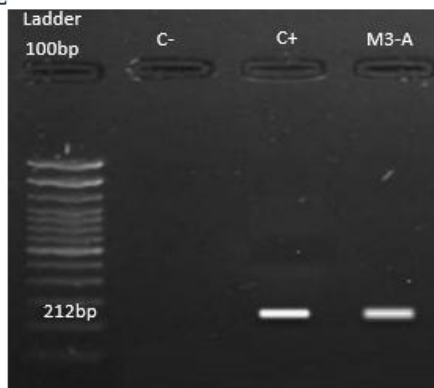


Figura 1. Amplificación para determinación *E. Coli* (212 pb).

Nota: Se utilizó un Ladder de 100 bp de la marca Thermo Scientific, en el primer control negativo, y control positivo *E. Coli* ATCC 25922, seguida de las muestras.

RESULTADOS

Código de muestra	PCR
M3-A	Positivo

PCR -SALMONELLA - AGUA POTABLE

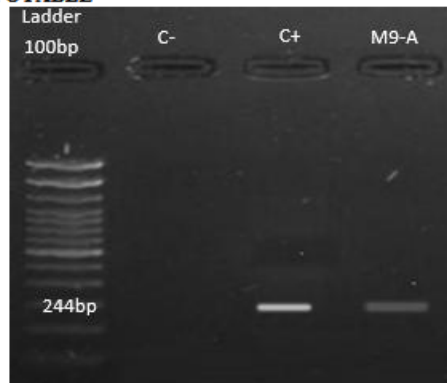


Figura 2. Amplificación para determinación de *Salmonella* spp. (244 bp).

Nota: Se utilizo un Ladder de 100 bp de la marca Thermo Scientific, en el primer control negativo, y control positivo *Salmonella* ATCC 14028, seguida de las muestras.

RESULTADOS

Código de muestra	PCR
M3-A	Positivo

PCR -LISTERIA - AGUA POTABLE

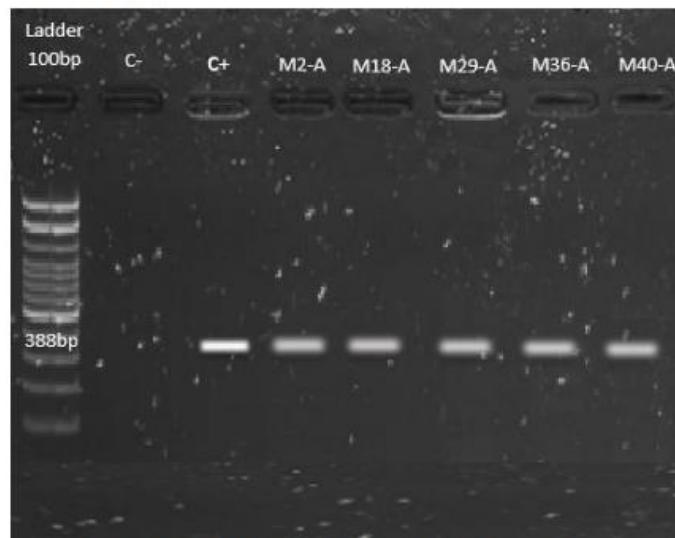


Figura 3. Amplificación para la determinación de *Listeria* (388bp).

Nota: Se utilizo un Ladder de 100 bp de la marca Thermo Scientific, en el primer control negativo, y control positivo *Listeria* ATCC 15313, seguida de las muestras.

RESULTADOS

Código de muestra	PCR
M2-A	Positivo
M18-A	Positivo
M29-A	Positivo
M36-A	Positivo
M40-A	Positivo

Anexo 12.

Evidencia fotográfica del desarrollo del trabajo de investigación.

Georreferenciación	Puntos de toma de muestra de agua
	
Envases utilizados para la recolección de muestras de agua	Cooler para el transporte y conservación de las muestras de agua
	

Flameación del grifo de agua



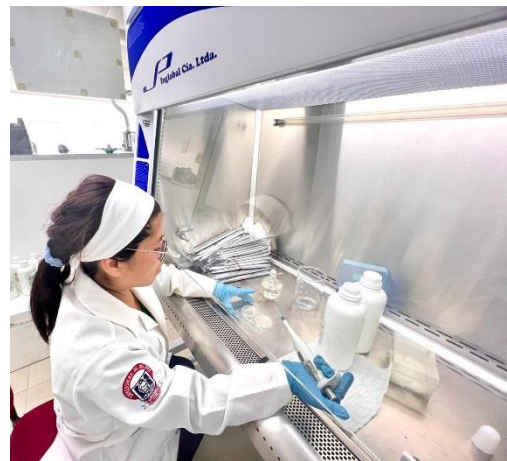
Toma de la muestra de agua



Transporte en el cooler de las muestras de agua

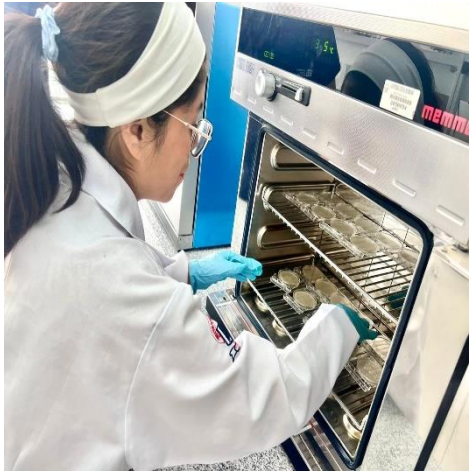


Análisis microbiológico de las muestras de agua para Coliformes Totales y Coliformes Fecales



Incubación de las muestras

1

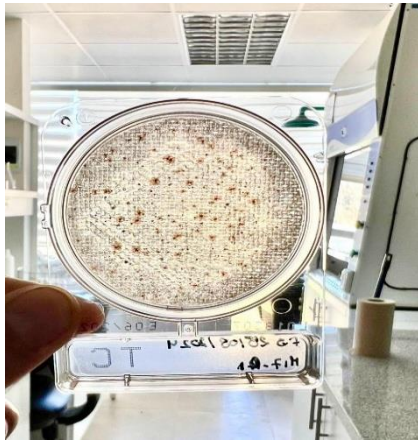


Incubación de las muestras

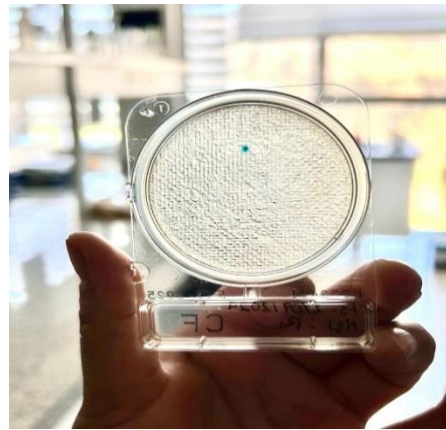
2



Lectura y recuento de las colonias contaminadas, coliformes totales



Lectura y recuento de las colonias contaminadas, coliformes fecales



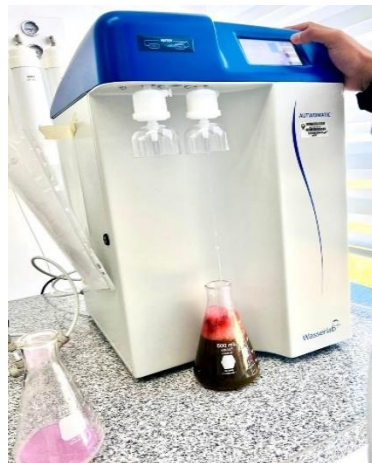
Medios de cultivos empleados



Composición y acondicionamiento de medios de cultivo 1



Composición y acondicionamiento de medios de cultivo 2



Esterilización de medios de cultivo



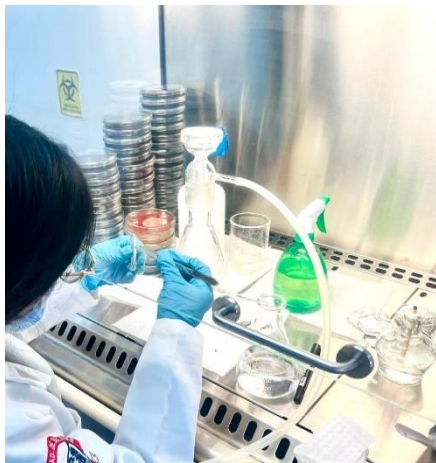
Colocación del medio en cajas Petri



Filtración de las muestras de agua



**Siembra por contacto del filtro en las
placas Petri**



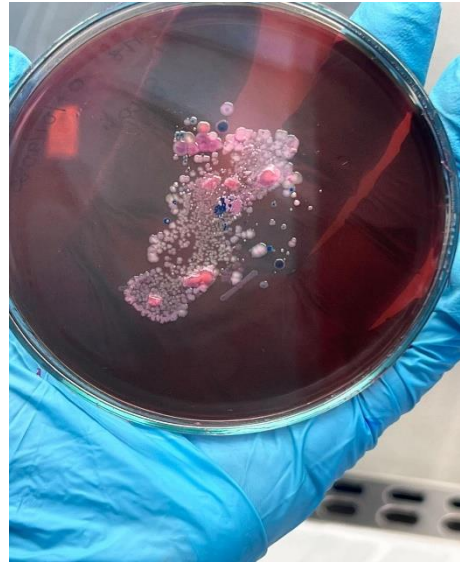
Incubación de las placas inoculadas



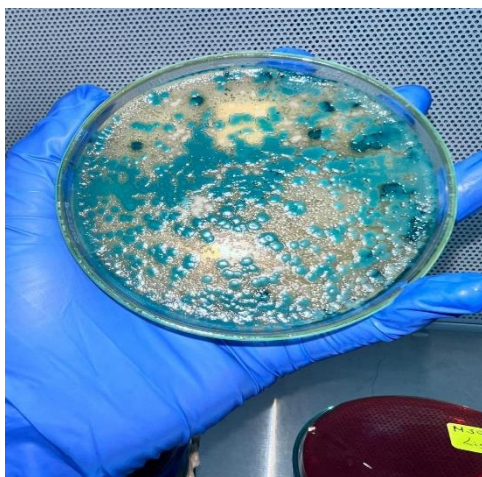
Recuento de unidades formadoras de colonias 1



Recuento de unidades formadoras de colonias 2



Recuento de unidades formadoras de colonias 3



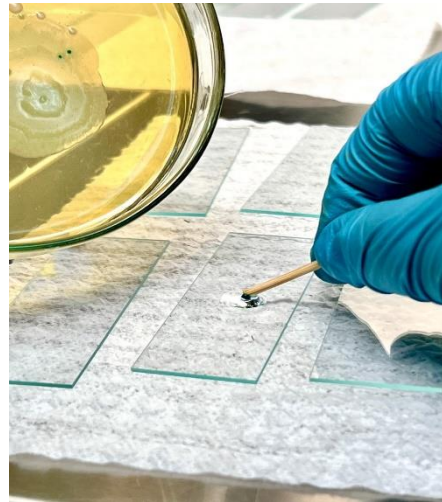
Recuento de unidades formadoras de colonias 4



Sub cultivo por estría



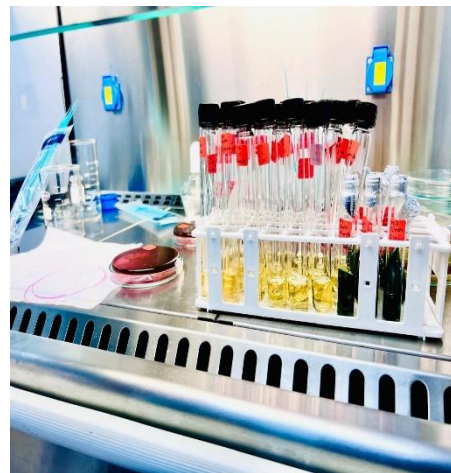
Aplicación de las pruebas de oxidasa y catalasa



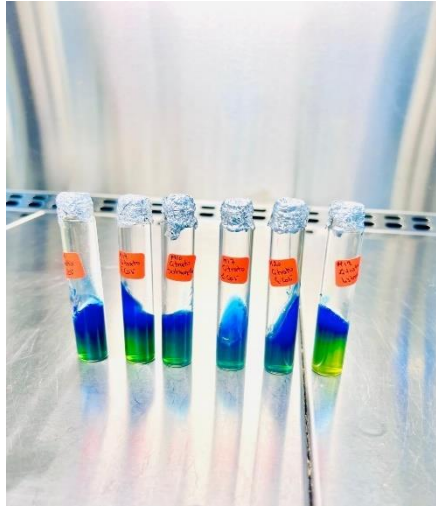
Ejecución de pruebas IMViC 1



Ejecución de pruebas IMViC 2



Interpretación y verificación de resultados de las pruebas IMViC



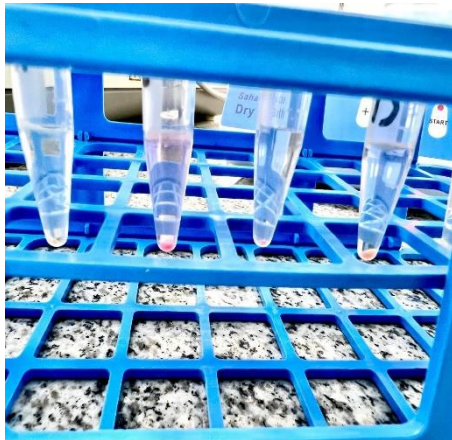
Extracción de ADN

1



Extracción de ADN

2



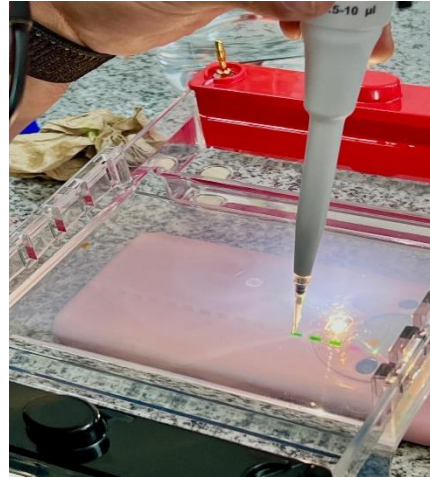
Cuantificación de ADN mediante espectrofotometría con NanoDrop



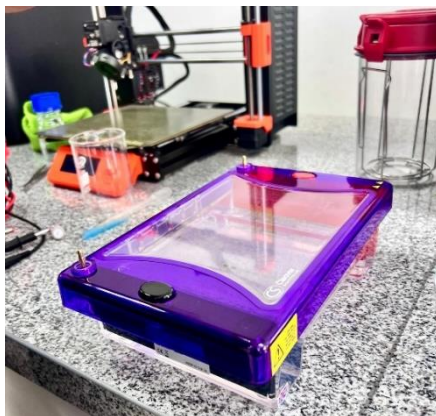
**Amplificación del ADN extraído
mediante la técnica de PCR 1**



**Amplificación del ADN extraído
mediante la técnica de PCR 2**



**Amplificación del ADN extraído
mediante la técnica de PCR 3**



**Amplificación del ADN extraído
mediante la técnica de PCR 4**



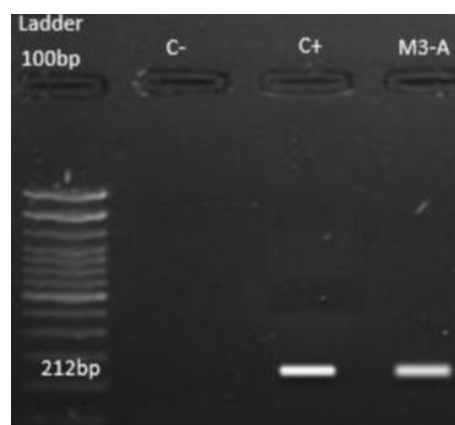
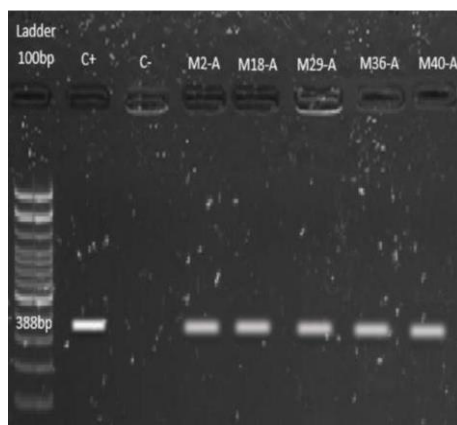
Amplificación del ADN extraído mediante la técnica de PCR 5

Visualización y documentación de bandas de ADN mediante foto documentador de geles



Resultados de la Amplificación de ADN por PCR 1

Resultados de la Amplificación de ADN por PCR 2



Anexo 13.

Glosario de términos

- **ALOA:** Es cultivo creado para el aislamiento y detección de *Listeria monocytogenes* y otras *listerias* spp en muestras alimentarias, este medio facilita la diferenciación de colonias
- **EMB:** medio selectivo es utilizado para el aislamiento de bacilos Gram negativos de desarrollo rápido
- **XLD:** Medio de cultivo selectivo utilizado en microbiología para el aislamiento de entero bacterias patógenas como la salmonella, su composición principal es la xilosa.
- **Medios de cultivo:** Son mezclas de nutrientes que en condiciones adecuadas permiten el crecimiento de microorganismos.
- **Electroforesis:** Técnica más poderosa en la bioquímica y biología molecular el cual permite separar macromoléculas para estudiar de manera aisladas.
- **Secuenciadores:** Son instrumentos que automatizan el proceso de determinar el orden exacto de los nucleótidos de las bases A, C, G y T.
- **Desnaturalización:** Es el proceso inicial de separar el ADN bicatenario, mediante calor a 94 y 95 °C para romper el enlace de hidrógeno
- **Elongación:** Etapa en la que el ADN polimerasa y utilizando los cebadores, extienden las cadenas de ADN a partir de los nucleótidos libres.
- **Hibridación:** Proceso de unión de los cebadores al ADN molde, en la PCR se desnaturaliza el AND.
- **PCR:** Es una técnica de reacción en cadena de polimerasa que tiene como objetivo realizar muchas copias de ADN.
- **Ladder:** Es un conjunto de fragmentos de ADN que determina el taño del mismo.