

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN
Escherichia coli AISLADOS DE MUESTRAS DE AGUA DEL RÍO
VENTILLA, MOLINOPAMPA, AMAZONAS, PERÚ”**

Presentada por:

MARÍA ELENA ROJAS CASTAÑEDA

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Lima – Perú

2022

**La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN
Escherichia coli AISLADOS DE MUESTRAS DE AGUA DEL RÍO
VENTILLA, MOLINOPAMPA, AMAZONAS, PERÚ”**

Presentada por:

MARÍA ELENA ROJAS CASTAÑEDA

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dra. Doris Elizabeth Zúñiga Dávila
PRESIDENTE

Dra. Ilanit Samolski Klein
MIEMBRO

Blgo. Juan Juscamaita Morales
MIEMBRO

Mg. Katty Ogata Gutiérrez
ASESORA

Mg. Jesús Rascón Barrios
Co Asesor

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mi familia, a mis padres por su invaluable apoyo durante mis años de estudiante que me permitieron culminar mis estudios y embarcarme en lo que es ahora mi proceso de titulación.

Mi agradecimiento al equipo de trabajo conformado por Rainer, Jesús, Dámaris, Hugo, Yessica y Zoila que me dieron una gran bienvenida a esta nueva ciudad desconocida para mí. Especialmente a los miembros del proyecto PROKIT por la oportunidad brindada incluso en las circunstancias de pandemia que seguimos viviendo.

Mi agradecimiento a los miembros del jurado por su tiempo y observaciones valiosas que me permitieron mejorar el trabajo que ahora puedo presentar. Asimismo, a mi asesora Katty Ogata y la profesora Doris Zúñiga, cuyo apoyo data de ya varios años, aquellos en los que iniciaba mi aprendizaje práctico junto a los tantos los otros tabussinos que conocí, como Francis y Carolina, mentores míos.

Asimismo, agradecer profundamente la compañía de amigas y amigos, a los que acudí muchas veces por dudas académicas, sobre trámites y como no, sobre la vida, compartiendo gratos momentos a pesar de la distancia.

Finalmente, agradecer el financiamiento de CONCYTEC-FONDECYT en el marco de la convocatoria E063-2019-01 BM Contrato N°006-2020-FONDECYT-BM y al Laboratorio de Investigación de Suelos y Aguas (LABISAG), dependencia del Instituto Nacional de Desarrollo de Ceja de Selva, ubicada en la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú, sin cuyo aporte no habría sido posible la elaboración de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo general	2
1.2. Objetivos específicos	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. ANTECEDENTES	3
2.2. ANTIBIÓTICOS	4
2.2.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS	4
2.2.2. PRINCIPALES GRUPOS DE ANTIBIÓTICOS	4
2.3. RESISTENCIA ANTIBIÓTICA	7
2.3.1. Clasificación de la resistencia antibiótica	7
2.3.2. Mecanismos generales de resistencia antibiótica	8
2.3.3. Bases genéticas de la resistencia antibiótica	9
2.3.4. El resistoma	9
2.3.5. Dispersión de la resistencia antibiótica	10
2.3.6. Resistencia antibiótica en el ambiente	10
2.4. LA CALIDAD DE AGUA SEGÚN LA NORMATIVA PERUANA	12
2.4.1. Parámetros microbiológicos evaluados en el ECA	13
III. METODOLOGÍA	14
3.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	14
3.2. MATERIALES	17
3.2.1. Material biológico	17
3.2.2. Materiales de trabajo	17
3.2.3. Medios de cultivo	17
3.2.4. Agentes antibióticos	18

3.2.5. Reactivos y soluciones.....	18
3.2.5. Equipos e instrumentos.....	18
3.3. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO.....	19
3.3.1. Determinación de los puntos de muestreo.....	19
3.3.2. Muestreo de agua superficial del río Ventilla.....	20
3.3.3. Análisis de los parámetros microbiológicos en muestras de agua superficial.....	21
3.3.4. Identificación bioquímica de aislados de <i>E. coli</i>	22
3.3.5. Evaluación de la resistencia a antibióticos comerciales de los aislados de <i>E. coli</i>	24
3.3.6. Análisis estadístico.....	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	27
4.1. DETERMINACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL AGUA SUPERFICIAL DEL RÍO VENTILLA.....	27
4.1.1. Determinación de la contaminación microbiológica del agua superficial del tramo en estudio del río Ventilla.....	27
4.1.2. Determinación de la contaminación microbiológica del agua en cada punto de muestreo.....	28
4.2. IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE AISLADOS DE <i>E. COLI</i>	31
4.3. EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN UN TRAMO DEL RÍO VENTILLA.....	35
4.3.1. Análisis de las resistencias antibióticas en todo el río, de acuerdo con el antibiótico evaluado.....	35
4.3.2. Análisis de los eventos de resistencia antibiótica de acuerdo con el punto de muestreo evaluado.....	38
4.3.3. Análisis de los eventos de resistencia antibiótica de acuerdo con los aislados de <i>E. coli</i> trabajados.....	39
4.3.4. Análisis de los diámetros de halo de inhibición de acuerdo con los antibióticos evaluados y el punto de muestreo.....	40

V. CONCLUSIONES	44
VI. RECOMENDACIONES	45
VII. BIBLIOGRAFÍA	46
VIII. ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Coordenadas GPS en UTM de los puntos de muestreo trabajados	20
Tabla 2: Valores de la curva de calibración de McFarland	24
Tabla 3: Resumen de resultados de la calidad microbiológica del tramo del río Ventilla evaluado.....	27
Tabla 4 Estándar de calidad ambiental para aguas de consumo, categoría I.....	28
Tabla 5 Estándar de calidad ambiental para aguas riego y bebida de animales, categoría III.....	28
Tabla 6: Valores de NMP/100 ml de acuerdo con el punto de muestreo.....	29
Tabla 7: Identificación bioquímica de <i>E. coli</i> . Cada número es el porcentaje de reacciones positivas luego de 2 días de incubación a 36 grados. Tabla adaptada de (D. Brenner et al., 2005; Ewing, 1986)	31
Tabla 8: Porcentajes de aislados de <i>E. coli</i> susceptibles, intermedios o resistentes a cada antibiótico evaluado.....	36
Tabla 9: Eventos de resistencia entre los aislados con resistencia a tetraciclina, ampicilina, sulfametoxazol trimetoprima y Gentamicina. “R” resistente, “I” intermedio, “S” susceptible.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química del anillo betalactámico.....	5
Figura 2: Clasificación de los antibióticos betalactámicos	5
Figura 3: Estructura general de los antibióticos tipo tetraciclina	6
Figura 4: Estructura química de la gentamicina.	6
Figura 5: Izquierda Estructura de sulfanilamida, una sulfamida. Derecha: estructura de trimetoprima.	7
Figura 6: Estructura de levofloxacino, una quinolona.	7
Figura 7: Mecanismos generales de la resistencia antibiótica.	9
Figura 8: Los cuatro reactores genéticos definidos por Baquero et al., 2008.	11
Figura 9: Área de estudio de la presente tesis. Elaboración propia	16
Figura 10: Curva de calibración de McFarland	25
Figura 12 Resultados en el medio LIA. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de <i>E. coli</i> , resultado atípico.....	32
Figura 13: Resultados en el medio TSI. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de <i>E. coli</i> , resultado atípico.....	32
Figura 14: Resultados en el medio Citrato de Simmons. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de <i>E. coli</i> , resultado atípico.....	33
Figura 15: Resultados en el medio urea. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de <i>E. coli</i> , resultado atípico.....	34
Figura 16: Resultados en el medio SIM. De izquierda a derecha: Control negativo, resultado típico de <i>E. coli</i> , resultado atípico.....	35
Figura 17: Eventos de resistencia antibiótica de acuerdo con el punto de muestreo.....	38

Figura 18: Diagramas de caja indicando media, mediana, dispersión de datos de los diámetros de halos de aislados de <i>E. coli</i> , de acuerdo con el punto de muestreo (V1, V2, V3, V4, V5) y al tipo de antibiótico (tetraciclina, penicilina, ampicilina, trimetoprima sulfametoxazol).....	41
Figura 19: Diagramas de caja indicando media, mediana, dispersión de datos de los diámetros de halos de aislados de <i>E. coli</i> , de acuerdo con el punto de muestreo (V1, V2, V3, V4, V5) y al tipo de antibiótico (levofloxacino, enrofloxacino, gentamicina, amoxicilina ácido clavulánico).	42
Figura 20: Diagramas de caja indicando media, mediana, dispersión de datos de los diámetros de halos de aislados de <i>E. coli</i> , de acuerdo con el punto de muestreo (V1, V2, V3, V4, V5) y al tipo de antibiótico (cefepime, aztreonam, cefotaxima, ceftazidima).	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Informe de ensayo de cinco muestras de agua superficial. Resultados emitidos por el Laboratorio de Investigación en Suelo y Aguas (LABISAG).....	56
Anexo 2: Composición de los medios de cultivo bioquímicos utilizados	59
Anexo 3: Volúmenes trabajados para la elaboración del estándar de McFarland.....	61
Anexo 4: Evaluación de la normalidad de los datos de CT, CF Y EC en NMP/100 mL. Obtención de valores descriptivos del conjunto de datos.....	62
Anexo 5: Evaluación de la igualdad de medianas de grupos por puntos de muestreo de los datos de CT, CF Y EC, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.....	63
Anexo 6: Comparaciones por pares de los datos de CT, CF Y EC de acuerdo con el punto de muestreo, mediante la prueba de Conover.	65
Anexo 7: Análisis estadístico de los halos de inhibición antibiótica y diagrama de cajas de cada antibiótico, agrupado por punto de muestreo.	68
Anexo 8: Evidencia fotográfica de las actividades realizadas durante el desarrollo experimental del trabajo de tesis	104

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó la presencia de resistencia a antibióticos en *Escherichia coli* aislados de agua superficial del río Ventilla, en un tramo aledaño al distrito de Molinopampa, Amazonas, Perú. Se evaluó la calidad del agua superficial en tres parámetros microbiológicos: coliformes totales, fecales y *E. coli*. Los parámetros se cuantificaron con valores de Número más probable por 100 ml (NMP/100 ml), encontrando un mínimo de 46 NMP/100 ml y un máximo de 1600NMP/100 ml para los tres parámetros. Los valores de NMP/100 ml mayores coincidieron con los puntos ubicados a la salida del distrito. Se aisló e identificó bioquímicamente *E. coli*, para su posterior evaluación frente a antibióticos de las familias de betalactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, sulfamidas y trimetoprimas. De acuerdo con los lineamientos del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), los resultados indicaron que la resistencia predominante fue a tetraciclina con el 36% de aislados resistentes, seguido de ampicilina, con 20% de aislados resistentes y Sulfametotaxol/trimetoprima con 16% de aislados resistentes. Se encontró resistencia intermedia a gentamicina en un 60% de los aislados. Es decir, existen aislados de *E. coli* en el tramo de río evaluado que presentan resistencia antibiótica. No se encontró resistencia frente a antibióticos betalactámicos de espectro extendido. Sin embargo, al analizar los diámetros de inhibición de cada uno de los antibióticos evaluados, se observó que éstos disminuían a medida que se acercaban a los efluentes del distrito de Molinopampa. Ello sugiere que los residuos presentes en dichos efluentes promueven la adquisición de resistencia antibiótica.

Palabras clave: *Escherichia coli*, NMP, resistencia antibiótica, susceptibilidad antimicrobiana, río Ventilla, Amazonas

ABSTRACT

In this investigation, the existence of antibiotic resistance was evaluated in *Escherichia coli* isolated from surface water of the Ventilla River, in a section near the district of Molinopampa, Amazonas, Peru. First, the quality of the surface water was evaluated in three microbiological parameters: total coliforms, fecal coliforms and *E. coli*. The parameters were quantified with Most probable number per 100 ml (MPN/100ml) values. The lowest value was 46 MPN / 100 ml and the highest was 1600NMP / 100ml in the three parameters. The highest MPN / 100 ml values were found in points located at the exit of the district. *E. coli* was isolated and biochemically identified. The isolates were evaluated against betalactam, tetracycline, aminoglycoside, fluoroquinolone, sulfonamide and trimethoprim antibiotics. According to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), the predominant resistance was to tetracycline with 36% resistant isolates, followed by ampicillin, with 20% resistant isolates and sulfametotaxol / trimethoprim with 16 % resistant isolates. Intermediate resistance to gentamicin was found in 60% of the isolates. From this information, it can be assured that there are *E. coli* isolates in the section of the river evaluated that have antibiotic resistance. No resistance was found against extended-spectrum betalactam antibiotics. However, the diameter of the antibiotic inhibition zone of each one of the evaluated antibiotics, decreased as it approached the points located near the effluents of the Molinopampa district. This suggests that the residues in Molinopampa's wastewater promote the antibiotic resistance acquisition.

Keywords: *Escherichia coli*, MPN, antibiotic resistance, antimicrobial resistance, Ventilla river, Amazonas.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia antibiótica es el resultado de la adaptación microbiana al estrés antibiótico. (Iwu et al., 2020; Munita & Arias, 2016). Debido a su rápida dispersión a nivel mundial y la inefectividad de muchos tratamientos disponibles, la resistencia antibiótica es considerada una amenaza a la salud, la seguridad alimentaria y el desarrollo. La gran cantidad de microorganismos con dicha capacidad hizo necesario priorizar las medidas contra grupos microbianos específicos como las enterobacterias, entre las que se encuentra *E. coli* (Organización Mundial de la Salud, 2020).

El agua es un recurso natural imprescindible para el desarrollo humano. Como factor abiótico en los ecosistemas, alberga organismos que pueden interactuar entre sí. En particular, los cuerpos de agua donde desembocan desechos agrícolas, ganaderos y/o humanos son potenciales espacios de interacción microbiana e intercambio genético. Ello puede facilitar la dispersión de la resistencia antibiótica (Baquero et al., 2008; He et al., 2020; Iwu et al., 2020). El agua puede ser analizado para determinar si cumple con los estándares mínimos para su uso en consumo humano, animal, recreación, etc. Entre los parámetros microbiológicos utilizados se encuentra el análisis de los coliformes (MINAM, 2017). *E. coli*, su mayor representante, es un microorganismo con facilidad de adquirir resistencia antibiótica (Titilawo, Obi, et al., 2015; Poirel et al., 2018).

La lucha contra la resistencia antibiótica requiere recabar la mayor información de ella en cada región. Por ello, la OMS, la Unión Europea y otras organizaciones han trabajado para cuantificar su prevalencia en sus respectivas jurisdicciones (JIACRA, 2017; Organización Mundial de la Salud, 2020; Sriram et al., 2021). En Perú, recientemente se ha detectado resistencia antibiótica en *E. coli* en los ríos Rímac, Chillón, Piura y una laguna de oxidación en Puno (Coila Apaza, 2017; Palacios Farias, 2019; Romero et al., 2020). Es por ello que la evaluación de la resistencia a antibióticos en *E. coli* en las aguas del río Ventilla, Amazonas se sumaría a los reportes previos, además de establecer un precedente que sirva de base en investigaciones posteriores para evaluar su impacto en la salud de las poblaciones aledañas al río.

Molinopampa, es un distrito de la Región Amazonas cuya principal actividad económica es la ganadería lechera (Oliva et al., 2015; Pilco, 2017). El río Ventilla, que atraviesa el distrito, es utilizado directamente para abastecer de agua al ganado, y al mismo tiempo, es receptor de los desechos originados por dicha actividad. Investigaciones previas identificaron la contaminación por coliformes del río Ventilla evidenciando la necesidad del tratamiento del agua previo a su consumo (Chávez et al., 2017; Gamarra et al., 2018).

El análisis de aguas convencional suele enfocarse en el grupo de coliformes (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2017), entre los que se encuentra *Escherichia coli*, un microorganismo ubicuo (Titilawo, Obi, et al., 2015). En ese sentido, el problema de investigación del presente proyecto es evaluar la posible resistencia a antibióticos de aislados de *E. coli* provenientes de agua superficial de río Ventilla.

1.1. Objetivo general

Evaluar la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* aislados de agua superficial del río Ventilla, Molinopampa, Amazonas, Perú.

1.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de los contaminantes microbiológicos coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*. en el agua superficial del río Ventilla.
- Identificar bioquímicamente la presencia de *E. coli* entre las colonias aisladas.
- Evaluar, mediante el método de difusión en disco, la resistencia a antibióticos comerciales de las familias de los betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, quinolonas e inhibidores de la vía del folato de los aislados de *E. coli*. obtenidos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

En el año 2019, se realizó una evaluación de la resistencia antibiótica en *E. coli* aislados de tres ríos aledaños a la ciudad de Lima: río Chillón, río Rímac y río Lurín. Se evaluó la resistencia frente a los antibióticos cefuroxima, cefixima, amoxicilina ácido clavulánico, ampicilina, ciprofloxacino y norfloxacino. Se detectó resistencia a todos los antibióticos evaluados en los aislados obtenidos de los tres ríos. Las resistencias más frecuentes fueron frente a amoxicilina ácido clavulánico (91.7%), ampicilina (75%) y cefuroxima (63.6%) (Olazábal Vizcarra, 2020).

Entre agosto de 2018 y enero de 2019 se realizó un estudio similar en un tramo del río Piura, el cual atraviesa la ciudad de Piura. Se evaluó la resistencia de aislados de *E. coli* frente a los antibióticos ampicilina, amikacina, cefotaxima, ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim sulfametoxazol; así como los betalactámicos de espectro extendido aztreonam, cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona. Se encontró que el 80,6% de los aislados fueron resistentes a ampicilina; 41,9%, a sulfametoprim sulfametotaxol; 35,5% a cefotaxima y 35,5% a ceftriaxona. Además, el 16,1% de los aislados de *E. coli* fueron productoras de betalactamasas de espectro extendido (Palacios Farias, 2019).

Entre 2015 y 2016 la zona de Cajabamba y San Marcos en Cajamarca fue estudiada y se analizaron muestras de agua de consumo evaluándose la resistencia antibiótica. El resultado mostró que 38 de 117 aislados de *E. coli* eran resistentes a tetraciclina. Un número menor de aislados eran resistentes frente a otros antibióticos como ampicilina, gentamicina, trimetoprim sulfametazol, ciprofloxacino etc. (Larson et al., 2019). Se evaluaron los antibióticos ácido nalidíxico, cloranfenicol, nitrofurantoína, ciprofloxacino, gentamicina, tetraciclina, trimetoprima-sulfametoxazol, ampicilina, cefotaxima, azitromicina y cefoxitina. Se evaluó también la resistencia a betalactámicos de amplio espectro como aztreonam, ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona, amoxicilina-ácido clavulánico y cefepima. Las resistencias de los aislados de *E. coli* más frecuentes fueron frente a tetraciclina (37,6%), ampicilina (34,2%), sulfametoxazol-trimetoprima (21,4%) y

ácido nalidíxico (13%). Frente a los demás antibióticos del 1 al 11% de los aislados exhibía resistencia (Larson et al., 2019). La resistencia a antibióticos como ciprofloxacino es un fenómeno antes observado en una comunidad de amazonas del Perú (Bartoloni et al., 2009), y podría ser una evidencia de la dispersión de la resistencia antibiótica en zonas sin mucho consumo de antibióticos, facilitada por medios como el agua.

2.2. ANTIBIÓTICOS

Un antibiótico es cualquier sustancia química producida naturalmente, semi sintéticamente o sintéticamente que se utiliza para inhibir el crecimiento bacteriano (acción bacteriostática) o eliminarlo (acción bactericida) (Lorenzo et al., 2015; Manyi-Loh & Sampson, 2018). Los antibióticos ayudan a prevenir infecciones y enfermedades como la tuberculosis, diabetes, enfermedades renales y aquellas relacionadas con pobres condiciones de sanidad, presentes en países en vías de desarrollo. De esa manera, ayudan a prolongar la expectativa de vida de las personas e impactan directamente en la salud de la población (Iwu et al., 2020).

2.2.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS

- Por su estructura química: Se agrupan en familias con propiedades generales similares. Las principales grupos son los betalactámicos, tetraciclinas, quinolonas, aminoglucósidos, sulfamidas y trimetoprimas (Lorenzo et al., 2015; Moore, 2021).
- Por su espectro de acción: Pueden ser de amplio espectro si actúa sobre varios tipos de microorganismos como las tetraciclinas y betalactámicos. Es intermedio si actúa sobre un número limitado de especies, como los aminoglucósidos. Son de espectro reducido si actúan sobre especies en específico (Lorenzo et al., 2015).
- Por su mecanismo de acción: La mayoría de antibióticos actúa inhibiendo diferentes procesos de la célula diana como la síntesis de la pared celular, la estabilidad de la membrana plasmática, la síntesis proteica, la síntesis de ácidos nucleicos y las vías metabólicas (Lorenzo et al., 2015; G. Brenner & Stevens, 2019).

2.2.2. PRINCIPALES GRUPOS DE ANTIBIÓTICOS

- a. Antibióticos betalactámicos:** Son el tratamiento de primera elección en procesos infecciosos. Los primeros en descubrirse fueron la penicilina, en 1928 y las cefalosporinas, veinte años después. Actúan inhibiendo la síntesis de pared celular. Su

estructura química tiene en común el anillo betalactámico (Figura 1) (Suárez & Gudiol, 2009; G. Brenner & Stevens, 2019).

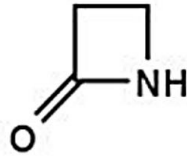


Figura 1: Estructura química del anillo betalactámico
FUENTE: Lorenzo et al., 2015.

De acuerdo con la cadena que se adiciona al anillo betalactámico, se distinguen: las penicilinas, las cefalosporinas y los carbapenémicos (Figura 2). Las cefalosporinas se clasifican de acuerdo con su generación, encontrándose las de primera, segunda, tercera, cuarta e incluso quinta generación. Los carbapenémicos se clasifican como antibióticos de amplio espectro. Una clasificación adicional corresponde a los monobactámicos, cuya estructura es solo el anillo betalactámico. (Lorenzo et al., 2015).



Figura 2: Clasificación de los antibióticos betalactámicos
FUENTE: Lorenzo et al., 2015.

b. Antibióticos tipo tetraciclina: Tienen en común un núcleo central tetracíclico al que se le unen diferentes radicales (Figura 3). Poseen un espectro bacteriano amplio. Inhiben la síntesis proteica al asociarse a la subunidad 30S de los ribosomas procariotas, bloqueando la unión del ARN transferencia a la cadena peptídica en síntesis. Algunos ejemplos son la tetraciclina, oxitetraciclina y la doxiciclina (Mendoza Patiño, 2008; Lorenzo et al., 2015; G. Brenner & Stevens, 2019).

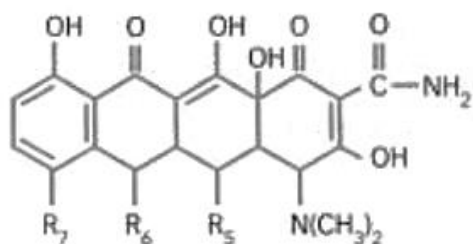


Figura 3: Estructura general de los antibióticos tipo tetraciclina
FUENTE: Lorenzo et al., 2015.

- c. Antibióticos tipo aminoglucósido:** Son potentes antibióticos contra bacterias Gram negativas aerobias. La mayoría proviene de sustancias naturales producidas por actinomicetos. Su estructura química tiene en común un anillo aminociclitol unido a dos o más azúcares (Figura 4). Actúa alterando la síntesis proteica, la membrana celular y modificando el metabolismo y respiración bacterianos. Algunos ejemplos son estreptomicina, kanamicina y gentamicina (Mendoza Patiño, 2008; Lorenzo et al., 2015).

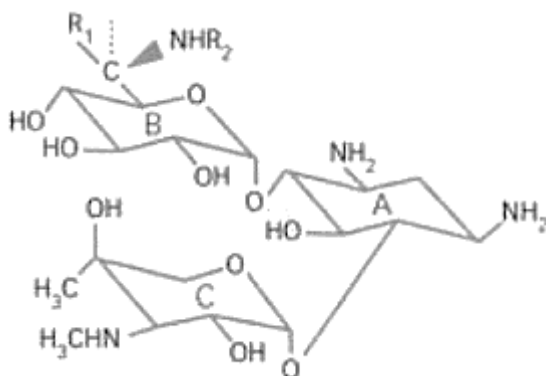


Figura 4: Estructura química de la gentamicina
FUENTE: Lorenzo et al., 2015.

- d. Antibióticos tipo sulfamidas y trimetoprima:** Comparten el mismo mecanismo de acción: bloquean competitiva y secuencialmente la síntesis del ácido fólico bacteriano, produciendo un efecto bacteriostático. Sus estructuras, sin embargo, son diferentes. Las sulfamidas se caracterizan por presentar un núcleo benceno, un grupo amino y un grupo sulfonamida (Figura 5). La trimetoprima es una 2,4-aminopiridina, análogo estructural de un precursor del ácido fólico (Fig. 5) (Vicente & Pérez-Trallero, 2010; Lorenzo et al., 2015).

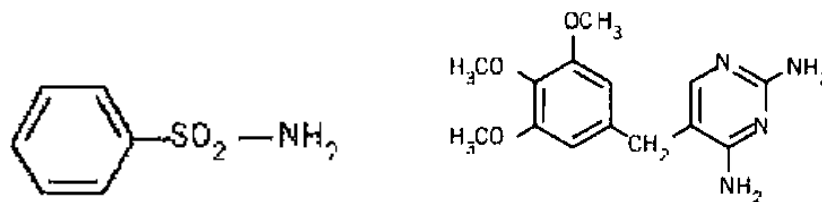


Figura 5: Izquierda Estructura de sulfanilamida, una sulfamida. Derecha: estructura de trimetoprima

FUENTE: Lorenzo et al., 2015.

- e. Antibióticos tipo quinolonas:** Son quimioterápicos sintéticos que presentan en su estructura un anillo 4-quinolona-3 carboxílico (Figura 6). En la tercera y cuarta generación de quinolonas sobresale levofloxacino por su utilidad terapéutica. Su mecanismo de acción actúa sobre una topoisomerasa, afectando el normal funcionamiento del ADN bacteriano (Lorenzo et al., 2015).

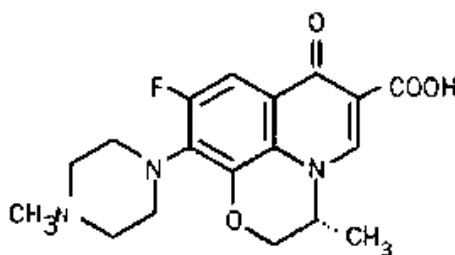


Figura 6: Estructura de levofloxacino, una quinolona

FUENTE: Lorenzo et al., 2015.

2.3. RESISTENCIA ANTIBIÓTICA

La resistencia antibiótica es una respuesta natural evolutiva frente a una cierta presión selectiva ejercida por las moléculas antimicrobianas (Watkins & Bonomo, 2016). Está ampliamente distribuida entre los procariontes y ha sido descrita tanto para bacterias comensales como patógenas (Martinez, 2009).

2.3.1. Clasificación de la resistencia antibiótica

La amplia cantidad de reportes de resistencia antibiótica en microorganismos hizo necesaria la adopción de términos estandarizados sobre la clasificación de la resistencia antibiótica (Magiorakos et al., 2011):

- La resistencia “multidroga” (*multidrug resistant*, MDR) ocurre cuando el microorganismo no es susceptible a al menos un representante de tres grupos de familias antibióticas.
- La resistencia “drogo extrema” (*extreme drug resistant*, XDR) se da en microorganismos que son no susceptibles a al menos un representante de todos o casi todos los grupos antimicrobianos.
- La resistencia “pan drogo” (*pan drug resistance*, PDR) se da en microorganismos que no son susceptibles a todos los agentes en todos los grupos de antimicrobianos (Magiorakos et al., 2011; Fodor et al., 2020).

2.3.2. Mecanismos generales de resistencia antibiótica

Las bacterias han evolucionado mecanismos sofisticados de resistencia a antibióticos para evitar sus efectos bacteriostáticos o bactericidas (Munita & Arias, 2016). De manera general, la resistencia se basa en cuatro mecanismos (Figura 7):

- Inactivación: El antibiótico sufre modificaciones antes de alcanzar su objetivo. Las modificaciones pueden ser químicas como acetilaciones, fosforilaciones, adenilaciones, etc. El resultado es la disminución de la afinidad del antibiótico por su diana. Asimismo, las modificaciones podrían causar la destrucción del medicamento. El ejemplo representativo de mecanismo de destrucción corresponde a las betalactamasas, enzimas capaces de destruir los antibióticos betalactámicos
- Impermeabilidad: La entrada del medicamento a la célula se reduce debido a cambios en la permeabilidad de la membrana celular, así como la alteración de porinas por las que ingresarían los medicamentos.
- Expulsión: El medicamento entra en la célula, pero es expulsado. La expulsión se debe a la actividad de bombas de extrusión o eflujo, que pueden ser específicas o de amplio espectro.
- Alteración del objetivo: el objetivo del fármaco se altera para que no sea reconocido. La modificación de la diana se da de diversas maneras como mutaciones puntuales, metilación del sitio de unión, reemplazo o desviación de la diana. El resultado final es la reducción de la afinidad del antibiótico por su diana (Munita & Arias, 2016; Alav et al., 2018).

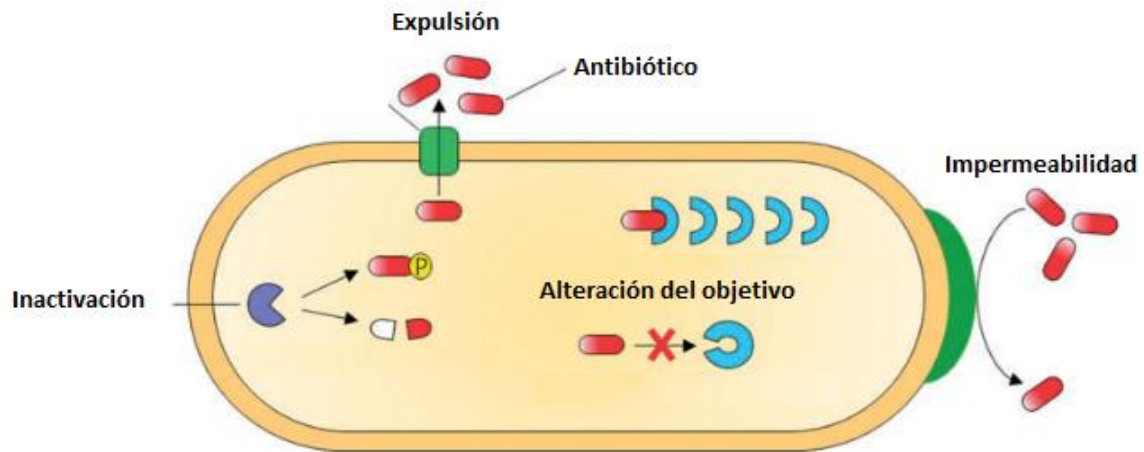


Figura 7: Mecanismos generales de la resistencia antibiótica.
FUENTE: Modificado de Alav et al., 2018)

2.3.3. Bases genéticas de la resistencia antibiótica

Los mecanismos descritos dependen de la presencia de enzimas y proteínas expresadas a partir de genes de resistencia. La capacidad de resistencia se puede obtener a través de dos estrategias:

- Las mutaciones en genes que codifican para proteínas relacionadas a algún mecanismo de resistencia. Los resultados al utilizar esta estrategia son, por tanto, diversas y varían en complejidad.
- La adquisición de dicho material genético a través de la transferencia horizontal de genes (THG). A su vez, la THG se basa en tres mecanismos básicos: la transformación (la incorporación de ADN desnudo), la transducción (la transferencia de ADN mediada por fagos) y la conjugación (intercambio genético entre individuos) (Munita & Arias, 2016; Partridge et al., 2018).

2.3.4. El resistoma

El resistoma es el reservorio de genes de resistencia, elementos genéticos que participan en la transferencia de genes de resistencia e incluso potenciales genes de resistencia que no necesariamente son expresados de manera natural en el ambiente (Canto & Ramo, 2009; Fodor et al., 2020).

Desde los inicios del uso de antibióticos, se descubrían casi a la par los microorganismos resistentes. Es probable que esta rápida adquisición de resistencia no se debiera a mutaciones sino a transferencia de material genético. Dos fuentes de potenciales genes de resistencia se

encuentran en los actinomicetos y estreptomicetos, microorganismos productores de antibióticos que a la vez poseen mecanismos para resistirlos (Davies, 2010).

2.3.5. Dispersión de la resistencia antibiótica

Debido a que una gran cantidad de genes de resistencia potenciales están escondidos en los nichos microbianos, al darse condiciones de estrés por antibióticos, las bacterias susceptibles son eliminadas y predominan las resistentes (Munita & Arias, 2016; Fodor et al., 2020).

La evidencia molecular demuestra que la multiresistencia antibiótica ha surgido principalmente por la diseminación de genes de resistencia mediante conjugación. La conjugación utiliza elementos genéticos móviles como los plásmidos (elementos extracromosomales) y los elementos conjugativos e integrativos (elementos móviles integrados al cromosoma), antes llamados transposones conjugativos (Munita & Arias, 2016; Partridge et al., 2018; Botelho & Schulenburg, 2020).

Ambos elementos pueden ser transferidos vertical y horizontalmente (mediante conjugación) y podrían cargar genes no relacionados a sus ciclos de vida, como genes de resistencia antibiótica. Es así que al interactuar con otros microorganismos, pueden contribuir a la diseminación de resistencia antibiótica (Botelho & Schulenburg, 2020)

2.3.6. Resistencia antibiótica en el ambiente

La resistencia antibiótica, como mecanismo evolutivo natural encuentra en ciertos ambientes las condiciones que facilitan la dispersión de los genes de resistencia. Ambientes como los sistemas de tratamiento de aguas, efluentes farmacéuticos y desechos de actividades agrícolas y ganaderas se caracterizan por contener grandes cantidades de bacterias y antibióticos (Watkins & Bonomo, 2016). Es así que Baquero et al. (2009) definieron cuatro “reactores genéticos” (Figura 8), los cuales son:

- “Reactor genético” 1: La microbiota humana y animal en donde los antibióticos ejercen su acción directamente.
- “Reactor genético” 2: Hospitales y granjas, en donde se encuentran muchos individuos susceptibles juntos y expuestos al intercambio microbiano.
- “Reactor genético” 3: Residuos del segundo reactor, en donde los microorganismos de diversas fuentes convergen e interactúan.
- “Reactor genético” 4: El suelo y agua ambientales, en donde los microorganismos

previos interaccionan con organismos ambientales.

Si bien se ha identificado a la resistencia antibiótica como un problema nosocomial, el impacto en el ambiente está siendo cada vez más reconocido. Una característica especial de los microorganismos resistentes y los genes de resistencia es que pueden persistir y dispersarse en el ambiente, multiplicándose en sus hospederos, interaccionando con otras bacterias o desarrollando mutaciones (Iwu et al., 2020). Es evidente que la vía principal de diseminación es el agua, mediante la cual, además, los microorganismos resistentes y los genes de resistencia ingresan a los ecosistemas naturales (Baquero et al., 2008; Davies, 2010).

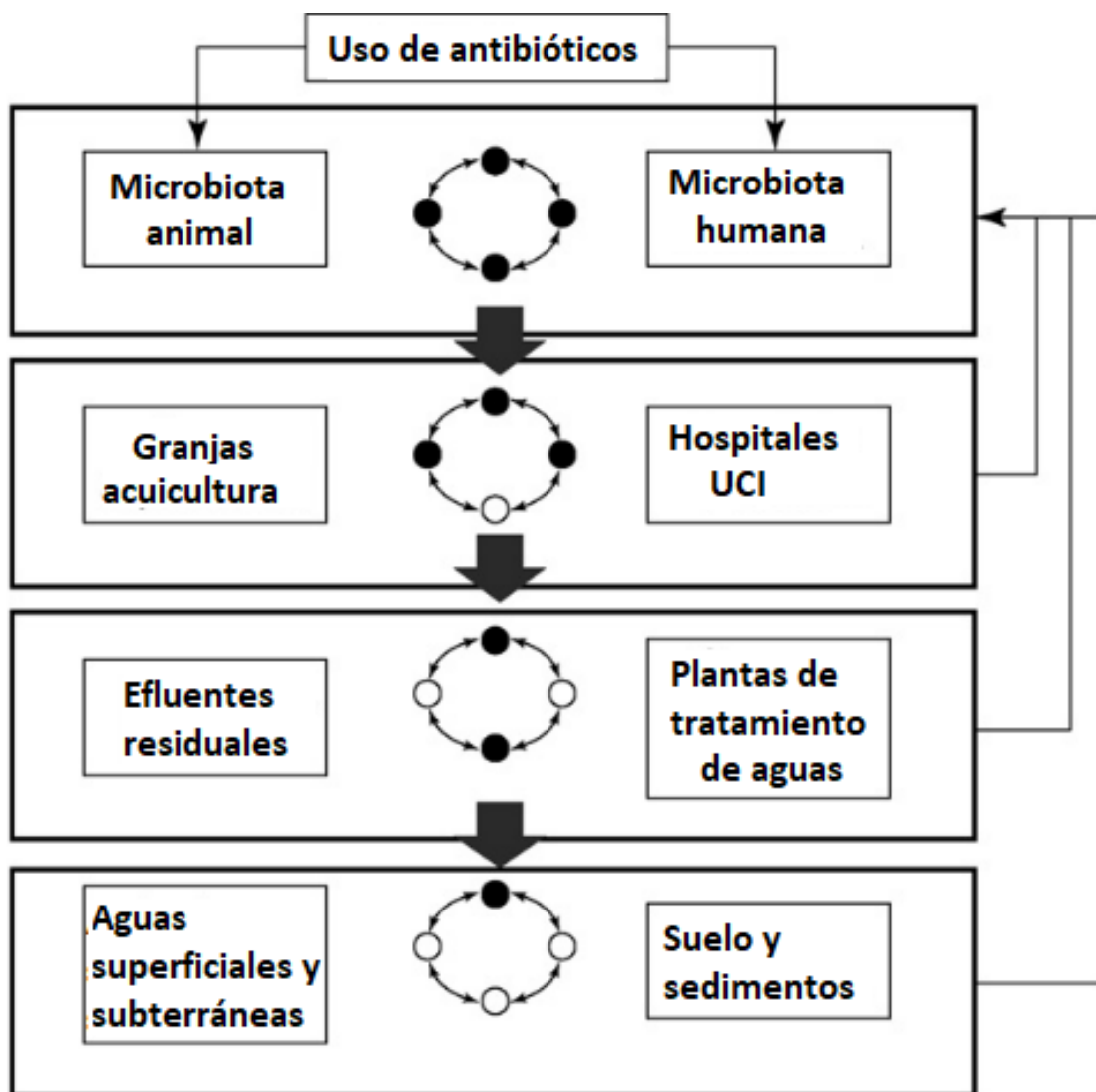


Figura 8: Los cuatro reactores genéticos definidos por Baquero et al.

●: microbiota animal o humana, ○: microbiota ambiental

FUENTE: Baquero et al., 2008

La influencia de las actividades antropogénicas en el ambiente no se limita a que surjan aislados más resistentes, sino que se vean afectadas las bacterias ambientales autóctonas. Éstas son una fuente ilimitada de genes que podrían actuar como genes de resistencia al ingresar a patógenos, lo que se suele llamar el “resistoma” (Baquero et al., 2008; Canto & Ramo, 2009). Por ello, las investigaciones de rutina de bacterias ambientales son necesarias y van tomando importancia para el monitoreo de la resistencia antibiótica a nivel mundial (Iwu et al., 2020).

2.4. LA CALIDAD DE AGUA SEGÚN LA NORMATIVA PERUANA.

Los contaminantes presentes en el agua, además de ser potencialmente dañinos a la salud pública, pueden ser un estímulo para procesos como la generación de resistencia antibiótica (Iwu et al., 2020). En Perú, el estado del agua se evalúa de acuerdo al Estándar de Calidad Ambiental (ECA). Se define como “la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, en su condición de cuerpo receptor, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente” (MINAM, 2017). Dichas medidas varían de acuerdo la categoría de agua estudiada. Son:

- Categoría 1: Poblacional y recreacional
 - o Subcategoría A: Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable
 - o Subcategoría B: Aguas superficiales destinadas para recreación
- Categoría 2: Extracción, cultivo y otras actividades marino costeras y continentales
 - o Subcategoría C1: Extracción y cultivo de moluscos, equinodermos y tunicados en aguas marino costeras
 - o Subcategoría C2: Extracción y cultivo de otras especies hidrobiológicas en aguas marino costeras
 - o Subcategoría C3: Actividades marino portuarias, industriales o de saneamiento en aguas marino costeras
 - o Subcategoría C4: Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos o lagunas
- Categoría 3: Riego de vegetales y bebida de animales

- Subcategoría D1: Riego de vegetales
- Subcategoría D2: Bebida de animales
- Categoría 4: Conservación del ambiente acuático
 - Subcategoría E1: Lagunas y lagos
 - Subcategoría E2: Ríos
 - Subcategoría E3: Ecosistemas costeros y marinos (MINAM, 2017).

2.4.1. Parámetros microbiológicos evaluados en el ECA

La normativa peruana se basa en los métodos estándares de examinación de aguas y aguas residuales (APHA, 2017). En ella, se definen diversos parámetros microbiológicos como los coliformes totales, coliformes termotolerantes y *Escherichia coli*.

Las bacterias coliformes son microorganismos presentes en los intestinos de animales homeotermos, por ello su presencia en aguas podría indicar contaminación fecal reciente. Se definen como todas aquellas bacterias anaerobias facultativas, Gram negativas, no formadoras de esporas, de morfología bacilar, que fermentan lactosa con producción de gas y ácido en presencia de sales biliares a 35 °C en 48 horas. Taxonómicamente, abarca diversos géneros de bacterias pertenecientes a la familia de las Enterobacteriaceae (APHA, 2017).

Los coliformes termotolerantes, tradicionalmente llamados coliformes fecales se han documentado en aguas ricas en compuestos orgánicos o en climas tropicales en ausencia de contaminación fecal reciente. La presencia de *E. coli* en agua es considerado un indicador de contaminación fecal y de posible presencia de patógenos entéricos (APHA, 2017).

III. METODOLOGÍA

3.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El río Ventilla es afluente del río Sonche, el cual es uno de los tributarios del río Utcubamba, ubicados en la región Amazonas, Perú. Se extiende a lo largo de 28902 metros hasta su confluencia con el río Olia, en donde dan inicio al río Sonche. En consecuencia, forma parte de la cuenca hidrográfica de Utcubamba, bajo la jurisdicción de la Autoridad Administrativa del Agua de la cuenca del Marañón (Maco García, 2010; Autoridad Nacional del Agua (ANA) et al., 2015; Chávez et al., 2017).

Según se muestra en la Figura 9, el área de estudio comprendió un tramo de 10 kilómetros del río Ventilla, cercano al distrito de Molinopampa. Este es un distrito ubicado en la región natural sierra, específicamente en ceja de selva, una altitud de 2407 m.s.n.m, a una latitud $6^{\circ}40'33''S$ y una longitud de $77^{\circ}45'58''O$. Es uno de los veintiún distritos de la provincia de Chachapoyas (Pinedo Mori, 2019). Sus límites distritales son

- Norte: distritos Quinjalca y Granada (Provincia de Chachapoyas)
- Sur: Con el distrito de Cheto (provincia de Chachapoyas) y provincia Rodríguez de Mendoza
- Oeste: Con el distrito de Cheto, distrito de San Francisco de Daguas y distrito de Sonche (Pinedo Mori, 2019).
- Este: Con la provincia de Rodríguez de Mendoza (Pinedo Mori, 2019)

Según el Instituto Nacional de Estadística e Informática, INEI, la población de Molinopampa es de 2737 habitantes, dedicándose un 76.95 % de los adultos entre 20 y 59 años a la actividad agropecuaria. De acuerdo con el mapa de superficie agrícola del Perú, Molinopampa cuenta con 7380 hectáreas de superficie agrícola. Asimismo, según el IV Censo Nacional Agropecuario, de las 768 unidades agropecuarias que posee el distrito, aproximadamente el 80% (635), realiza la crianza de ganado (Bardales, 2018; Livia et al., 2021). Por ello, el distrito de Molinopampa cuenta con establecimientos comerciales

relacionados a la actividad agropecuaria, tales como agro veterinarias, comercios de alimento animal y venta de productos lácteos.

Según el Instituto Nacional de Estadística e Informática, INEI, la población de Molinopampa es de 2737 habitantes, dedicándose un 76.95 % de los adultos entre 20 y 59 años a la actividad agropecuaria. De acuerdo con el mapa de superficie agrícola del Perú, Molinopampa cuenta con 7380 hectáreas de superficie agrícola. Asimismo, según el IV Censo Nacional Agropecuario, de las 768 unidades agropecuarias que posee el distrito, aproximadamente el 80% (635), realiza la crianza de ganado (Bardales, 2018; Livia et al., 2021). Por ello, el distrito de Molinopampa cuenta con establecimientos comerciales relacionados a la actividad agropecuaria, tales como agro veterinarias, comercios de alimento animal y venta de productos lácteos.

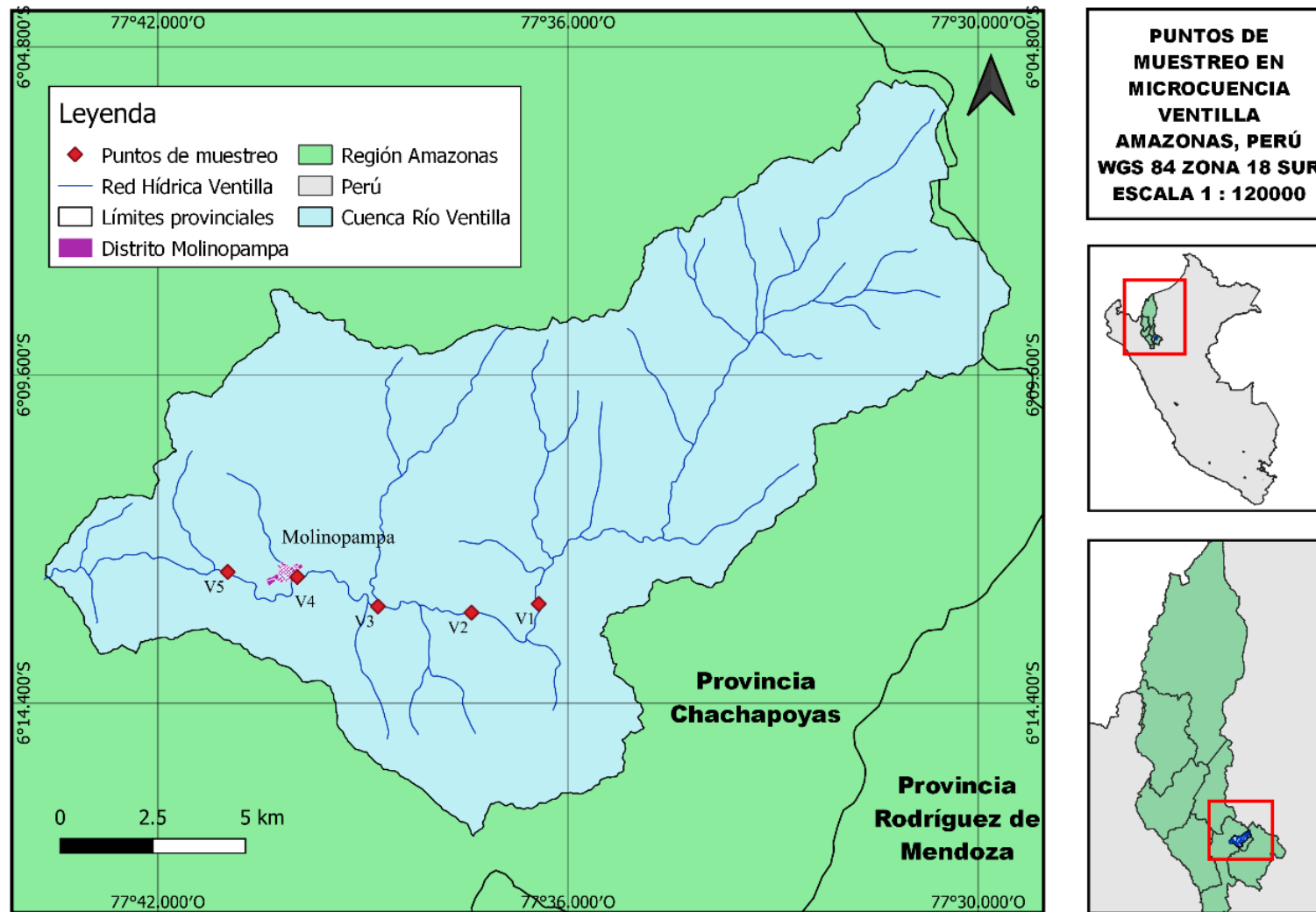


Figura 9: Área de estudio de la presente tesis.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Material biológico

- Colonias aisladas de agua superficial del río Ventilla

3.2.2. Materiales de trabajo

- Micropipetas y puntas de micropipeta de 20-200 μ l, 100-1000 μ l y 1 ml-5 ml.
- Material de vidrio diverso: vasos de precipitado, matraces volumétricos, probetas, pipetas, tubos de ensayo, campanas Durham, placas Petri, baguetas y botellas de tapa rosca.
- Material de plástico diverso: pizeta, placas Petri descartables 90 x 15", microtubos de 1.5 ml, gradillas de tubos de ensayo.
- Módulo básico de microbiología: Mechero de alcohol, alcohol de 96°, algodón hidrófilo, asas de Kölle, papel toalla, marcador indeleble, encendedor, jabón desinfectante enzimático.

3.2.3. Medios de cultivo

- Medio de cultivo de caldo Lauril Sulfato (LS).
- Medio de cultivo de caldo Bilis Verde Brillante (BVB).
- Medio de cultivo de caldo *E. coli* (EC).
- Medio de cultivo agar Eosina Azul de Metileno (EMB).
- Medio de cultivo sulfuro indol para motilidad (SIM).
- Medio de cultivo agar Urea según Christensen (base).
- Medio de cultivo agar Lisina hierro (LIA).
- Medio de cultivo agar Hierro tres azúcares (TSI).
- Medio de cultivo agar Citrato de Simmons.
- Medio de cultivo agar Mueller Hinton.

3.2.4. Agentes antibióticos

- Discos de antibióticos de tetraciclina (TE) 30 µg.
- Discos de antibióticos de penicilina G (P) 10 µg.
- Discos de antibióticos de trimetoprim/sulfametoxazol (SXT) 1.25/23.75 mcg.
- Discos de antibióticos de gentamicina (CN) 10 µg.
- Discos de antibióticos de ampicilina (AM) 10 µg.
- Discos de antibióticos de levofloxacina (LEV) 5 µg.
- Discos de antibióticos de enrofloxacino (EE) 30 mcg.
- Discos de antibióticos de ceftazidima (CAZ) 30 µg.
- Discos de antibióticos de cefotaxima (CTX) 30 µg.
- Discos de antibióticos de cefepima (FEP) 30 µg
- Discos de antibióticos de aztreonam (ATM) 30 µg.
- Discos de antibióticos de amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) 20/10 µg.

3.2.5. Reactivos y soluciones

- Reactivo de indol
- Urea
- Agua oxigenada
- Glicerol
- Cloruro de Bario al 1%
- Ácido sulfúrico al 1%

3.2.5. Equipos e instrumentos

- Agitador magnético
- Autoclave vertical
- Balanza analítica
- Incubadora

- Congeladora de -20°C
- Espectrofotómetro UV-VIS

3.3. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO

3.3.1. Determinación de los puntos de muestreo

Los puntos de muestreo se establecieron de acuerdo con la metodología F. E. M. (*Fresh Water Management*), la cual brinda las herramientas necesarias para el muestreo y determinación de la calidad de agua de los ríos (Prat et al., 2012). Las consideraciones fundamentales son:

- a. Selección de estación de muestreo: los puntos de muestreo deben mantener una distancia de entre 1 y 10 kilómetros. Las distancias cortas son adecuadas para estudios de tipo local (efectos puntuales).
- b. Identificación del punto de muestreo: se identifican mediante un código cada punto de muestreo, registrando datos como el día y la hora (Prat et al., 2012).

De acuerdo con la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), la ubicación de los puntos de muestreo debe cumplir con tres criterios:

- a. Identificación: determinada por el sistema de posicionamiento satelital GPS, registrado en coordenadas UTM.
- b. Accesibilidad: que facilite un acceso rápido y seguro al punto de muestreo.
- c. Representatividad: determinado por no incluir zonas de embalse o turbulencias (Fernández Estela et al., 2007).

En el tramo de 10 km del río Ventilla, se evaluaron cinco puntos. Los puntos se ubicaron de manera consecutiva, con una separación aproximada de 2.5 km. Tres de ellos se ubicaron aguas arriba del distrito de Molinopampa y las restantes, a la salida del distrito. Las coordenadas de los puntos de muestreo se presentan en la Tabla 1, trabajadas bajo el sistema de coordenadas Universal Transversal de Mercator (UTM).

Tabla 1: Coordenadas GPS en UTM de los puntos de muestreo trabajados

Punto		x	y
V1		211486.3145	9312233.58
V2		209672.8706	9311988.403
V3		207144.8109	9312143.269
V4		204962.4114	9312928.755
V5		203083.7153	9313051.467

3.3.2. Muestreo de agua superficial del río Ventilla

Las muestras de agua en estudio pueden clasificarse como simple, compuesta o integrada. La muestra simple, también llamada discreta o puntual, representa las condiciones y características del cuerpo de agua en un determinado lugar, tiempo y circunstancia del momento en que se recolectó (ANA, 2016). Se optó por realizar el análisis de muestras simples.

El procedimiento para la toma de muestras se realizó de acuerdo con lo indicado por la Autoridad Nacional del Agua (ANA, 2016):

1. El personal que realizó la toma de muestra se colocó las botas de jebe y los guantes descartables antes del inicio de la toma de muestras de agua.
2. Se ubicó en un punto medio de la corriente principal, donde la corriente era homogénea, evitando aguas estancadas y poco profundas.
3. Sin realizar enjuague, la botella se cogió por debajo del cuello, sumergiéndose en dirección opuesta al flujo de agua.
4. Se dejó libre un 10% del volumen del recipiente para asegurar un adecuado suministro de oxígeno para los microorganismos.
5. Se almacenó la muestra a 4°C para su conservación hasta la llegada al laboratorio.

El muestreo de agua se realizó en los meses de abril y mayo de 2021. Las características de las condiciones climatológicas de dicha temporada corresponden a la denominada época lluviosa (Rascón et al., 2020).

3.3.3. Análisis de los parámetros microbiológicos en muestras de agua superficial

Se evaluaron los parámetros microbiológicos coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *E. coli* (EC) de acuerdo a lo indicado por los métodos estandarizados para el análisis de aguas establecidos por la Asociación Americana De Salud Pública (APHA, 2017). Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Investigación en Aguas y Suelo, LABISAG, dependencia del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES). Los informes de resultados se presentan en el Anexo 1. Las muestras de agua tomadas se evaluaron por triplicado, haciendo un total de tres resultados por punto y 15 resultados para todo el río.

Previamente al muestreo, se prepararon los tubos de trabajo para las pruebas presuntivas. Se dispensaron 10 ml de caldo Lauril Sulfato (LS) a concentración doble (2X) y concentración simple (X) en tubos de vidrio y se colocó una campana Durham en cada tubo para visualizar la formación de gas. Se esterilizó en autoclave, a 121°C por 15 minutos. Por cada repetición, se utilizaron cinco tubos con caldo lauril sulfato 2X para la dilución “1” y cinco tubos con caldo lauril sulfato X para las demás diluciones “10⁻¹”, “10⁻²” y “10⁻³”. (APHA, 2017)

Se homogenizó la muestra agitando manualmente el envase cerrado y se desinfectó el cuello y tapa del envase. Se inocularon 10 ml del agua superficial de río en cada tubo, diluyendo previamente para obtener las concentraciones “10⁻¹”, “10⁻²” y “10⁻³”. Los tubos se incubaron a 35°C (± 1°C). Luego de 24 se evaluó la presencia de turbidez y/o burbujas en las campanas Durham. (APHA, 2017).

Para las pruebas confirmativas de coliformes totales y coliformes fecales se utilizaron tubos con caldo Bilis Verde Brillante (BVB) y caldo *E. coli* (EC), respectivamente, al igual que lo descrito para los tubos con caldo LS. Se inocularon los tubos con 100 µl del caldo LS presuntamente positivo en cada tubo. Los tubos con caldo BVB se incubaron a 35 °C (± 1 °C). y los tubos con caldo EC se incubaron a 44 °C (±0,5 °C). A las 24 horas se evaluaron como positivos aquellos tubos que evidenciaron producción de gas y turbidez (APHA, 2017).

Para la prueba confirmativa de *E. coli* se sembró una asada por estrías en placas con agar Eosina Azul de Metileno (EMB) y se incubó la placa invertida a 37 °C (± 1 °C). Luego de 24 horas se evaluó el crecimiento microbiano como positivo si las colonias presentaban un color verde metálico (APHA, 2017).

3.3.4. Identificación bioquímica de aislados de *E. coli*

Las colonias verde metálicas obtenidas en las placas EMB se observaron para realizar la elección de cinco por punto de muestreo, haciendo un total de 25 colonias. Las colonias elegidas se sembraron en caldo Cerebro Corazón (CCC) y se incubaron a 37 °C (± 1 °C) por 24 horas para su posterior inoculación en los medios de identificación bioquímica. Se trabajaron los medios de cultivo: sulfuro indol para motilidad (SIM), Lisina hierro (LIA), Hierro tres azúcares (TSI), Urea y Citrato de Simmons. En el Anexo 2 se presenta la composición de cada medio de cultivo.

3.3.4.1. Agar Lisina Hierro (Lysine Iron Agar, LIA)

La glucosa es una fuente de carbohidrato fermentable. El indicador de pH, púrpura de bromocresol, vira a amarillo a un pH menor a 5.2 y púrpura a pH mayor a 6.8. La fermentación de glucosa acidifica el medio de cultivo, virándolo a amarillo. Este resultado indica la capacidad de fermentar glucosa del organismo.

Lisina es el sustrato para la detección de dos enzimas. La descarboxilación, actividad lisina descarboxilasa, genera como producto la amina cadaverina, la cual causa que el indicador de pH, púrpura de bromocresol vire su color a violeta. La desaminación, actividad lisina desaminasa, produce ácidos que interaccionan con las sales de hierro, tornando rojo al agar

La producción de sulfuro de hidrogeno (H_2S) genera precipitados negros, oscureciendo el medio de cultivo debido a la formación de sulfuro de hierro por su reacción con citrato de amonio férrico y el tiosulfato de sodio (Beckton & Dickson, 2009; Merck, 2010).

3.3.4.2. Agar Hierro Tres Azúcares (Triple Sugar Iron Agar, TSI)

Glucosa, lactosa y sucrosa son tres azúcares fermentables. El indicador de pH, rojo fenol, vira a amarillo a un pH menor a 6.8 y rojo a pH mayor a 7.4. Los azúcares fermentables son distinguibles por la formación de gas y el viraje de rojo a amarillo dado por el colorante rojo fenol. Aquellos organismos que solo fermenten glucosa presentarán una leve acidificación que podría revertirse, resultando en un tubo rojizo. El sulfato de amonio y hierro permite detectar la producción de sulfuro de hidrógeno, mediante la formación de precipitado negro (Beckton & Dickson, 2009; Merck, 2010)

3.3.4.3. Agar Citrato de Simmons (Simmon's Citrate Agar)

Amonio dihidrogeno fosfato y citrato de sodio son fuente de nitrógeno y carbono respectivamente. El indicador de pH, Azul de bromotimol, vira a color amarillo a pH menor a 6.5, verde de 6.5 a 7.5, azul a partir de 7.5. Los organismos capaces de utilizar amonio dihidrogeno fosfato y citrato de sodio como las únicas fuentes de nitrógeno y carbono respectivamente, crecerán en el medio y producirán una reacción alcalina dada por el cambio de color de azul de bromotimol, de verde a azul (Beckton & Dickson, 2009; Merck, 2010)

3.3.4.4. Agar urea (Urea Agar)

La urea actúa como sustrato para la acción de la enzima ureasa. Es hidrolizada a dióxido de carbono y amonio por ella. El amonio generado causa que el medio se torne alcalino, esta reacción es detectada por el indicador rojo fenol, el cual vira de amarillo a rojo (Merck, 2010)

3.3.4.5. Agar Motilidad Indol (SIM Agar)

Las peptonas proveen aminoácidos y compuestos nitrogenados. Se adiciona una pequeña cantidad de agar para demostrar la motilidad a lo largo de la punción de inoculación. Los organismos móviles se desplazan desde la línea de punción hacia los lados, generando una turbidez a los lados. Si el microorganismo es capaz de hidrolizar el aminoácido triptófano, producirá indol, el cual será detectado por adición del reactivo de Kovacs (p-dimetilaminobenzaldehído), produciendo un complejo rojo. La formación de precipitados de color negro indica la producción de H₂S.

Se inoculó por punción y a continuación por estrías y se incubaron a 37 °C (± 1 °C) por 24 horas. La identificación bioquímica de *E. coli* se realizó de acuerdo a los resultados presentados en el Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey (D. Brenner et al., 2005). Los resultados no esperados se explicaron por la presencia de contaminantes al momento de picar la colonia. Se re estrieron las colonias y se pudo confirmar la presencia de contaminantes, aislando finalmente las colonias de *E. coli*.

Las colonias identificadas bioquímicamente como *E. coli* se criopreservaron en microtubos con glicerol al 50%. A partir de los tubos con Caldo Cerebro Corazón (CCC) previamente trabajados, se dispensaron 500 µl de CCC con el aislado confirmado como *E. coli* y 500 µl de glicerol al 50%. Se homogenizó la mezcla y se almacenó a -20°C.

3.3.5. Evaluación de la resistencia a antibióticos comerciales de los aislados de *E. coli*

Para realizar la evaluación de resistencia a antibióticos se utilizó el método de Kirby-Bauer o difusión en disco (Murray et al., 2007; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021).

3.3.5.1. Preparación del inóculo líquido

De acuerdo con la metodología de Kirby-Bauer estandarizada por el CLSI, el inóculo utilizado debe presentar una turbidez en el rango de 0.08 - 0.1 a 625 nanómetros, equivalente al estándar 0.5 de la escala de MacFarland (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021). Para ajustar el valor de turbidez, se preparó una curva de calibración de McFarland, mezclando soluciones de 1% BaCl₂ y 1% H₂SO₄ como se indica en el Anexo 3 (DALYNN biologicals, 2014). Los valores de absorbancia obtenidos se presentan en la Tabla 2 y la curva de calibración en la Figura 10.

Para preparar el inóculo líquido, los aislados identificados como *E. coli* se inocularon en CCC y se incubaron a 37°C por 4 horas. Tras la incubación, se evaluó y/o ajustó la turbidez hasta alcanzar el rango deseado.

Tabla 2: Valores de la curva de calibración de McFarland

Estándar McFarland	Suspensión bacteriana aproximada/mL	Absorbancia obtenida
0.5	1.5x10 ⁸	0.091
1	3x10 ⁸	0.172
2	6x10 ⁸	0.409
3	9x10 ⁸	0.575
4	1.2x10 ⁹	0.808

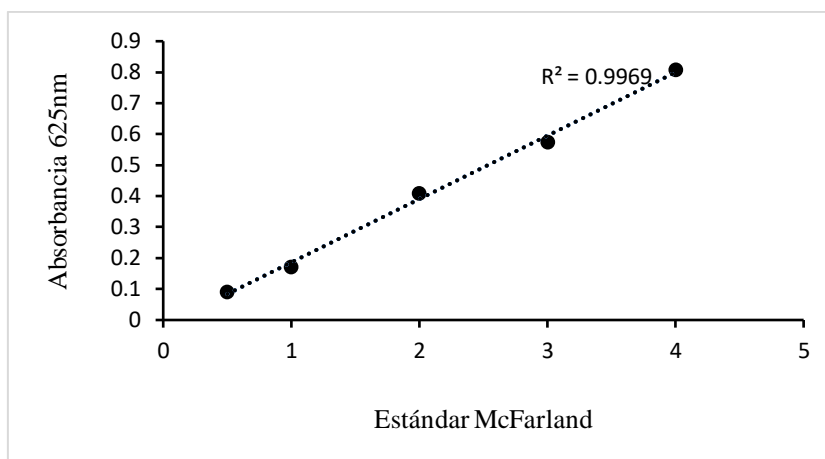


Figura 10: Curva de calibración de McFarland

3.3.5.2. Inoculación en placas con agar Mueller Hinton

Se procedió a realizar un hisopado de la suspensión bacteriana en toda la superficie de una placa de agar Mueller Hinton, rotando 60 ° la placa tres veces. Se ubicaron los discos de antibióticos con ayuda de pinzas estériles, colocando como máximo cinco discos de antibióticos en la misma placa, ubicados a no menos de 24 mm de distancia entre ellos. Se trabajó por triplicado y se incubaron las placas 35 °C por 18 - 24 horas (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021).

Se trabajó con discos de sensibilidad comerciales de tetraciclina (TE) 30 µg, penicilina (P) 10 µg, ampicilina (AM) 10 µg, gentamicina (CN) 10 µg, trimetoprima/sulfametoxazol (STX) 25 µg, levofloxacina (LEV) 5 µg y enrofloxacino (EE) 5 µg. También se evaluó la resistencia frente a cinco betalactámicos de espectro extendido: ceftazidima (CAZ) 30 µg, cefotaxima (CTX) 30 µg, cefepima (FEP) 30 µg, aztreonam (ATM) 30 µg y amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) 20/10 µg.

Se incubaron las placas a 35° C por 16-18 horas. Los diámetros de halos se registraron y se interpretaron de acuerdo con los lineamientos de CLSI, asignando la categoría susceptible, intermedia o resistente correspondiente de acuerdo con cada antibiótico.

3.3.6. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos y los diagramas de cajas se realizaron con el *software* libre R ®. Se realizaron pruebas de normalidad de datos, pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis y pruebas *post-hoc*.

3.3.6.1. Evaluación de parámetros microbiológicos

Los datos expresados en NMP/100 ml, obtenidos de cada parámetro microbiológico, se evaluaron en normalidad. Debido a que la cantidad de observaciones era menor a 50, se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Los datos no siguieron una distribución normal, por lo que se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para evaluar la igualdad de medianas. Los resultados estadísticos para cada parámetro microbiológico se presentan en el Anexo 4 y 5. Como prueba *post hoc* se utilizó la prueba de Conover, para detectar si existían diferencias significativas entre los valores de NMP/100 ml agrupadas de acuerdo con el punto de muestreo (Kloke & McKean, 2015; Dinno, 2017). Los resultados estadísticos para cada parámetro microbiológico se presentan en el Anexo 6. Para facilitar la observación de la dispersión de los datos, se construyeron diagramas de cajas relacionando los parámetros microbiológicos evaluados con los valores NMP/100 ml.

3.3.6.2. Evaluación de resistencia antibiótica

Las interpretaciones de los resultados de la evaluación antibiótica se organizaron en tablas de frecuencia relativa. Por otro lado, los datos de diámetro de halo de inhibición de cada antibiótico se evaluaron en normalidad. Debido a la cantidad de observaciones mayor a 50, se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Los datos no siguieron una distribución normal, por lo que se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para evaluar la igualdad de medianas. Como prueba *post hoc* se utilizó la prueba de Conover, para detectar si existían diferencias significativas entre los valores de diámetro de halo, de acuerdo con el punto de muestreo origen. Este procedimiento se repitió para los doce antibióticos utilizados (Kloke & McKean, 2015; Dinno, 2017). Para facilitar la observación de los resultados, se construyeron diagramas de caja, indicando la media, en rojo, la mediana, percentiles y datos atípicos de los halos de inhibición de los aislados de *E. coli* agrupados de acuerdo con el punto de muestreo, repitiendo el análisis frente a cada tipo de antibiótico. Dicha agrupación se evaluó estadísticamente, encontrándose que, para todos los antibióticos, los diámetros de halo no eran constantes a lo largo del río. En consecuencia, se evaluaron estadísticamente las agrupaciones para encontrar diferencias significativas. El detalle estadístico se presenta en el Anexo 7.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. DETERMINACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL AGUA SUPERFICIAL DEL RÍO VENTILLA

4.1.1. Determinación de la contaminación microbiológica del agua superficial del tramo en estudio del río Ventilla

Los muestreos realizados en abril de 2021 indicaron que las concentraciones de CT y CF oscilaron entre 140 y 1600 NMP/100 ml, con un promedio general de 1176 NMP/100 ml. En el caso de EC, los valores oscilaron entre 46 y 1600 NMP/100 ml, con un promedio general de 1124.6 NMP/100 ml. El coeficiente de variación fue, aproximadamente, 50% en los tres parámetros evaluados, evidenciando una alta dispersión de los datos en torno a la media. Los valores se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3: Resumen de resultados de la calidad microbiológica del tramo del río Ventilla evaluado

Parámetro microbiológico	Promedio NMP/100 ml	Min	Max	Coefficiente de variación
Coliformes totales (CT)	1176	140	1600	0.4916954
Coliformes fecales (CF)	1176	140	1600	0.4916954
<i>Escherichia coli</i> (EC)	1124.6	46	1600	0.5527593

El agua del río Ventilla es aprovechado como agua para fines agropecuarios, debido a su cercanía, los pobladores consumen sus aguas para uso doméstico y de bebida (Chávez et al., 2017; Valqui, 2016; Vela Tafur, 2018).. En tal sentido, el agua del río Ventilla fue evaluado de acuerdo a los Estándares de Calidad Ambiental en dos categorías: categoría I, agua de consumo humano y categoría III, riego de vegetales y bebidas animales. Los valores de los ECA son rangos de parámetros físicos, químicas y/o biológicos que aseguran la salud humana y ambiental (MINAM, 2017). En las Tablas 4 y 5 se presentan los estándares para las categorías mencionadas.

Tabla 4 Estándar de calidad ambiental para aguas de consumo, categoría I.

Parámetros microbiológicos NMP/100ml	A1: Aguas	A2: Aguas potabilizables	A3 Aguas
	potabilizables por desinfección	por tratamiento convencional	potabilizables por tratamiento avanzado
Coliformes totales (CT)	50	**	**
Coliformes termotolerantes (CF)	20	2000	20000
<i>Escherichia coli</i> (EC)	0	**	**

El símbolo ** dentro de la tabla significa que el parámetro no aplica para esta Subcategoría.

Tabla 5 Estándar de calidad ambiental para aguas riego y bebida de animales, categoría III..

Parámetros microbiológicos NMP/100 ml	D1: RIEGO DE VEGETALES		D2: BEBIDA DE ANIMALES
	Agua para riego no restringido	Agua para riego restringido	
Coliformes termotolerantes (CF)	1000	2000	1000
<i>Escherichia coli</i> (EC)	1000	**	**

El símbolo ** dentro de la tabla significa que el parámetro no aplica para esta Subcategoría.

En el tramo evaluado del río Ventilla, los valores del ECA para la categoría I indican que no son aptas para consumo humano si se aplica solo desinfección, debido a la presencia de *E. coli*. Sin embargo, bajo los métodos de tratamiento convencionales y avanzados, sí sería posible potabilizar sus aguas, puesto que los resultados encontrados en el parámetro CT son menores a los 2000 NMP/100 ml indicado en el ECA (MINAM, 2017).

Respecto al uso en riego de vegetales, correspondiente a la categoría III, las aguas del río Ventilla en el tramo estudiado se consideran inocuas para el riego restringido. No lo son, sin embargo, para el riego no restringido y bebida de animales, ya que el parámetro CF supera los 1000 NMP/100 ml indicados en la norma peruana.

4.1.2. Determinación de la contaminación microbiológica del agua en cada punto de muestreo

En la Tabla 6 se presentan las medianas para los tres parámetros, diferenciando entre puntos de muestreos. Se observa que las agrupaciones obtenidas se ajustan, ($p < 0.05$), a la disposición espacial de los puntos de muestreo. El punto 1, es el punto evaluado más distante de la concentración humana del distrito de Molinopampa. Presenta valores menores a 200NMP/100 ml en los tres parámetros microbiológicos evaluados, sugiriendo una fuente de contaminación existente externa al distrito de Molinopampa. Los puntos 2 y 3 evidencian un marcado aumento en los niveles de contaminantes respecto al punto 1, esto a pesar de

encontrarse a 2 kilómetros de él. Los puntos 4 y 5 evidencian los valores máximos detectables de contaminantes microbiológicos en agua.

Tabla 6: Valores de NMP/100 ml de acuerdo con el punto de muestreo.

Punto de muestreo	Coliformes	Coliformes	<i>Escherichia</i>	Agrupación
	totales	fecales	<i>coli</i>	
	Mediana	Mediana	Mediana	
1	160	160	93	a
2	1260	1260	1070	ab
3	1260	1260	1260	ab
4	1600	1600	1600	b
5	1600	1600	1600	b

Nota: Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los puntos de muestreo. Se presentan tres agrupaciones, “a”, “ab” y “b” significativamente diferentes ($p < 0.05$). El grupo “ab” comparte similitudes con “a” y a la vez con “b”, mientras que entre “a” y “b” no existe tal relación

Una explicación para la marcada diferencia de valores es la descarga de aguas contaminadas provenientes del distrito de Molinopampa. De acuerdo con los valores hallados y a los ECA, el agua del río Ventilla, entre los puntos trabajados, es apto para el riego de vegetales y consumo de animales. Su uso para consumo humano requeriría realizar trabajo de desinfección

La contaminación observada en el río Ventilla tendría como origen la descarga de aguas residuales provenientes de actividades humanas. En 2017 se realizó una evaluación de la calidad microbiológica del agua en la zona cercana al desagadero de la laguna de oxidación de Molinopampa, encontrando valores entre 500 a 32×10^5 NMP/100 ml para CT, 170 a 32×10^5 NMP/100 ml para CF y 170 a 17×10^5 NMP/100 ml de EC. La contaminación se explicó por la presencia del desagadero y por los desechos generados por la crianza de ganado (Chávez et al., 2017).

El río Olla, de similares características al Ventilla y que, además, desemboca junto a él para dar inicio al río Sonche, fue evaluado microbiológicamente por Vargas Montoya en 2019. Se obtuvieron los valores de 170 NMP/100 ml en CT, 1600 NMP/100 ml CF y 1600 NMP/100 ml en EC. Las fuentes de contaminación se explicaron por la descarga de efluentes domésticos, pozos sépticos y los desechos provenientes de la crianza de ganado. Sin embargo, considerando los valores NMP/100 ml y los estándares de calidad ambiental, las

aguas del río Olia aún eran adecuadas para la bebida de animales y riego (Categoría III) (MINAM, 2017; Vargas Montoya, 2019).

Similares estudios se han realizado en zonas agropecuarias. El río Mayo, receptor de las descargas de la ciudad de Moyobamba fue evaluado en 2009 en un tramo que comprendía un vertedero. se evaluaron puntos 50 metros aguas arriba de él, así como aguas abajo. 140 metros aguas abajo del vertedero había pastos para consumo de ganado vacuno, así como individuos bebiendo de las aguas aledañas. En este caso, las aguas 50 metros antes de vertimiento exhibieron una contaminación mayor a 1000 UFC/100 ml. Ello podría indicar que la mezcla con aguas contaminadas podría ser la causante de la contaminación en zonas aguas arriba. Los puntos posteriores a la descarga de efluentes alcanzó niveles de hasta 10^8 en el parámetro CT Y CF (Tananta del Águila, 2009).

En 2017, se evaluó el río Torococha, un río tributario que desemboca en el río Coata y por tanto contribuye a su contaminación. El río Torococha atraviesa por el centro a la ciudad de Juliaca, en donde se encontró una cantidad elevada de contaminantes, con valores superiores a 2000 NMP/100 ml (Aguilar Apaza, 2017).

En 2018 se evaluó la calidad de aguas de regadío provenientes del río Yura, ubicado al noreste de la ciudad de Arequipa. A su alrededor se ubican zonas agrícolas y hortícolas, con cultivos como papa, alverja, ajo y cebolla, y animales domésticos, así como ganado vacuno. Se evaluaron cuatro zonas, cuyos valores de parámetros microbiológico CT, CF y EC fluctuaron entre 0 y 1100 NMP/100 ml. Una de las zonas con valores más altos de contaminación, Yura, recepciona agua del río Yura y de la zona de Quiscos, en donde los pobladores acuden a los baños termales. El autor sugiere que dichas aguas podrían estar contribuyendo a la contaminación en el río Yura (Mendoza Ramos, 2018).

El impacto que pudieran tener ríos tributarios como Ventilla y Olia sobre ríos de mayor importancia económica como el río Sonche o Utcubamba no se ha estudiado. Se tienen reportes sobre la contaminación en cada uno de ellos. Torres García en 2010 calculó índices de calidad de agua del río Sonche, encontrando que se encontraba entre estado bueno y muy malo para los parámetros CT y CF, dependiendo del punto de muestreo. La contaminación se explicó por el vertimiento de efluentes de ciudad de Chachapoyas y disponibilidad de oxígeno, fosfatos y adecuada temperatura para la proliferación bacteriana (Torres García, 2010). Respecto al río Utcubamba, en 2018, los parámetros microbiológicos evaluados se hallaron mayoritariamente en el rango de 200 a 2000 NMP/100 ml. Menos de 5 de los 25

puntos de muestreo presentaron valores menores a 1000 NMP/100 ml en los parámetros CT y CF. En contraste, hasta 10 puntos de muestreo presentaron valores menores a 1000 NMP/100 ml en el parámetro EC (Gamarra Torres et al., 2018).

4.2. IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE AISLADOS DE *E. COLI*

Se identificaron 5 colonias provenientes de cada punto de muestreo, haciendo un total de 25 aislados de *E. coli*. El criterio de identificación bioquímica de *E. coli* se presenta en la Tabla 7.

Tabla 7: Identificación bioquímica de *E. coli*. Cada número es el porcentaje de reacciones positivas luego de 2 días de incubación a 36 grados.

Medio de cultivo	Reacción	Resultado en <i>E. coli</i>	Porcentaje de positivos* en <i>E. coli</i>
SIM (Sulfuro - Indol- Motilidad)	Producción de indol (actividad triptofanasa)	+	98%
	Motilidad	+	95%
	Producción H ₂ S	-	1%
TSI (<i>Triple sugar Iron</i>)	Fermentación de glucosa	+	95%
	Fermentación de sacarosa	+	50%
	Fermentación de lactosa	+	100%
Caldo urea	Degradación de urea	-	1%
Citrato de Simmons	Degradación citrato	-	1%
LIA (<i>Lysine Iron Agar</i>)	Descarboxilación de lisina	+	
	Producción H ₂ S	-	1%
	Desaminación	-	
Prueba catalasa	Reacción H ₂ O ₂	+	100%

FUENTE: Tabla adaptada de (D. Brenner et al., 2005; Ewing, 1986)

En el medio LIA se observaron dos resultados diferentes, el primero característico de *E. coli* y el segundo con producción de H₂S y base casi incolora. *E. coli* en el medio LIA produce base amarilla y superficie púrpura, estando ausente la producción de H₂S. Es decir, *E. coli* se caracteriza por ser fermentador de glucosa, poseer la actividad lisina descarboxilasa y no producir H₂S. Cabe destacar que en *E. coli* la producción de lisina descarboxilasa es inducida por condiciones ácidas (Kanjee et al., 2011), que en el medio LIA son dadas por la fermentación de glucosa (Figura 12).



Figura 11: Resultados en el medio LIA. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de *E. coli*, resultado atípico

En el medio TSI, *E. coli* se caracteriza por ser capaz de fermentar los tres azúcares produciendo gas, además no genera precipitados negros (Merck, 2010). Se observó que todos los tubos viraron a color amarillo, indicando una acidez significativa, así como formación de gas. Ello indica que los tres azúcares fueron fermentados (Figura 13).



Figura 12: Resultados en el medio TSI. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de *E. coli*

En el medio Citrato de Simmons, *E. coli* no produce reacción alguna (Merck, 2010). Son capaces de crecer en este medio los organismos que utilizan amonio dihidrógeno fosfato y citrato de sodio como las únicas fuentes de nitrógeno y carbono respectivamente, produciendo una reacción alcalina dada por el cambio de color de azul de bromotimol, de

verde a azul (Beckton & Dickson, 2009; Merck, 2010). Se observaron dos resultados diferentes. El primero, característico de *E. coli*, no presentó cambios en el medio de cultivo. El segundo presentó coloración azul en la superficie, indicando alcalinización (Figura 14).

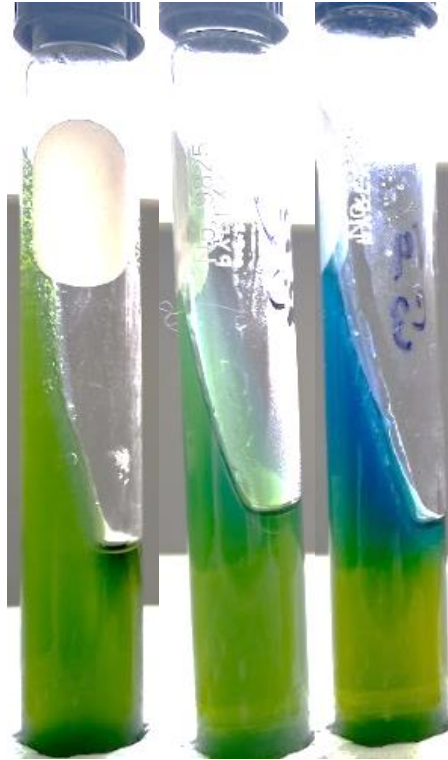


Figura 13: Resultados en el medio Citrato de Simmons. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de *E. coli*, resultado atípico

En el medio de cultivo de urea, la urea puede ser hidrolizada a dióxido de carbono y amonio si el microorganismo posee la enzima ureasa. *E. coli* se considera ureasa negativa, a excepción de la variante UPEC, *E. coli* uropatogénica, pero corresponde a variantes poco frecuentes y concentradas en ambientes nosocomiales (Konieczna et al., 2013).

Se observó crecimiento en la superficie del agar inclinado, notándose dos resultados diferentes: agar de color amarillo en su totalidad, característico de *E. coli* y tubos con una leve coloración rosada en su superficie, indicativa de alcalinidad. El componente peptona de carne es un hidrolizado que suele variar en sus contenidos de aminoácidos, sin embargo es común que contengan aminoácidos como lisina (Merck, 2010). El metabolismo de glucosa podría acidificar el medio, permitiendo la inducción de enzimas como lisina descarboxilasa, lo cual podría explicar la leve alcalinidad observada (Figura 14).



Figura 14: Resultados en el medio urea. De izquierda a derecha: control negativo, resultado típico de *E. coli*, resultado atípico

En el medio SIM, los organismos móviles se desplazan desde la línea de punción hacia los lados, generando turbidez. Adicionalmente, si el microorganismo es capaz de hidrolizar el aminoácido triptófano, producirá indol, el cual será detectado por adición del reactivo de Kovacs (p-dimetilaminobenzaldehído), produciendo un complejo rojo. La formación de precipitados de color negro indica la producción de H_2S . *E. coli* es un organismo con motilidad, con capacidad de hidrolizar triptófano, resultando positivo a la prueba de indol. Se observaron aislados con el crecimiento típico de *E. coli*, exhibiendo motilidad. También se observaron reacciones no características de *E. coli*, con producción de H_2S (Figura 16).

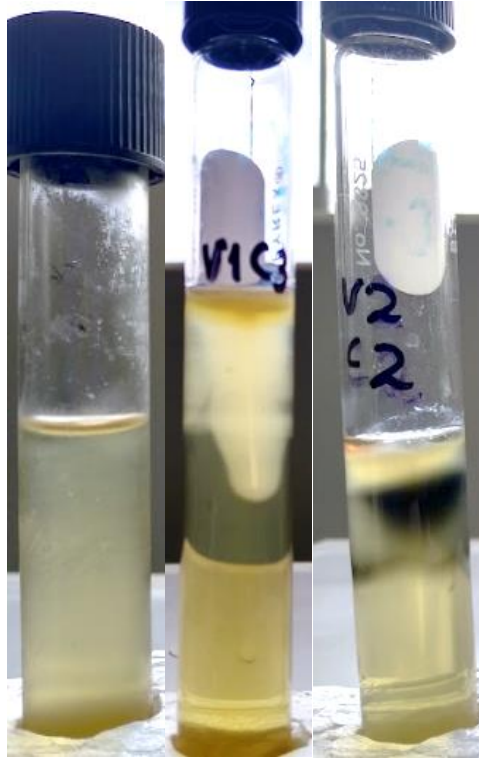


Figura 15: Resultados en el medio SIM. De izquierda a derecha: Control negativo, resultado típico de *E. coli*, resultado atípico.

4.3. EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN UN TRAMO DEL RÍO VENTILLA.

4.3.1. Análisis de las resistencias antibióticas en todo el río, de acuerdo con el antibiótico evaluado

Las pruebas de resistencia antibiótica evaluaron la susceptibilidad de colonias de *E. coli* aisladas de agua superficial del río Ventilla, frente a 12 antibióticos. De acuerdo con los rangos proporcionados por CLSI, se encontraron aislados de *E. coli* resistentes a tres de ellos: tetraciclina, ampicilina y sulfametoxazol-trimetoprima. Asimismo, se encontró resistencia intermedia a Gentamicina (Tabla 8). El mayor porcentaje de resistencia entre los 25 aislados del agua superficial correspondió a tetraciclina con 36% de aislados resistentes, seguido de ampicilina, con 20% de aislados resistentes y sulfametotaxol/trimetoprima con 16% de aislados resistentes. En el caso de gentamicina un 60% de los aislados mostraron una resistencia intermedia a dicho antibiótico. Dos de los antibióticos evaluados, penicilina y enrofloxacino, no presentaban rangos de interpretación de acuerdo con CLSI.

Tabla 8: Porcentajes de aislados de *E. coli* susceptibles, intermedios o resistentes a cada antibiótico evaluado.

Antibiótico	Categoría		
	Susceptible	Intermedio	Resistente
Tetraciclina	64%	0%	36%
Ampicilina	80%	0%	20%
Sulfametoxazol/trimetoprima	84%	0%	16%
Levofloxacino	100%	0%	0%
Gentamicina	40%	60%	0%
Cefepime	100%	0%	0%
Aztreonam	100%	0%	0%
Cefotaxima	100%	0%	0%
Ceftazidima	100%	0%	0%
Amoxicilina ácido clavulánico	100%	0%	0%

La resistencia frente a tetraciclina ha sido previamente evaluada en muestras de agua. En una zona alto andina rural de Cajamarca, con gran actividad ganadera en sus alrededores, se encontró que el 32.5% de las colonias de *E. coli* aisladas de fuentes de agua doméstica presentaban resistencia a tetraciclina (Larson et al., 2019). Como continuación de dicha investigación, se repitieron los análisis de acuerdo con la fuente de agua reservorio, fuente principal y agua de bebida, encontrando que el 15.4%, 31.3% y 41.7% de aislados eran resistentes a tetraciclina respectivamente (Hartinger et al., 2021).

Al igual que tetraciclina, la resistencia a ampicilina fue evaluada en la región Cajamarca. Un 28.2% de los aislados encontrados en 2016, eran resistentes a ampicilina (Larson et al., 2019); mientras que en la evaluación de 2019, se encontró que el 0%, 18% y 25% de aislados obtenidos de reservorios, agua doméstica y agua de bebida, respectivamente, evidenciaban resistencia a ampicilina (Hartinger et al., 2021). De manera similar, en una evaluación de los ríos Chillón, Rímac y Lurín, en la región de Lima, se evaluó la resistencia de aislados de *E. coli* frente a ampicilina. Se encontró que un 32.4%, 14.3% y 4% de los aislados eran resistentes a ampicilina, respectivamente (Olazábal Vizcarra, 2020). En el río Piura se encontró que un 80.6% de los aislados de *E. coli* eran resistentes a ampicilina (Palacios Farias, 2019).

En la región Cajamarca, la resistencia a trimetoprima sulfametoxazol, se presentó en el 17.9% y 8.3% de aislados de *E. coli* provenientes de agua de uso doméstico y bebida respectivamente; mientras que la resistencia a gentamicina estuvo presente en 2.6% y 8.3% de ellos (Larson et al., 2019; Hartinger et al., 2021). En el río Piura, un 41.9% de aislados de *E. coli* fueron resistentes a trimetoprima sulfametoxazol y 19.4% fueron resistentes a

gentamicina (Palacios Farias, 2019).

La resistencia evidenciada frente a tetraciclina, penicilina, trimetropima sulfametoxazol y gentamicina por parte de los aislados de *E. coli* podría explicarse por el uso de antibióticos debido a la actividad ganadera en la microcuenca Ventilla. Durante la visita al distrito de Molinopampa, se pudo observar que contaba con establecimientos de venta de productos veterinarios. El adecuado uso de ellos sería el indicado por los especialistas técnicos. Sin embargo, tal situación no siempre ocurre. No existen evaluaciones sobre el uso de antibiótico en la microcuenca Ventilla, pero sí se ha realizado un estudio muy completo en Cajamarca.

Redding et al., (2014), investigó sobre patrones y determinantes del uso de antibióticos en los alrededores de la ciudad de Cajamarca. Realizando encuestas a 156 granjeros, encontró que existía una baja incidencia de enfermedades, 0.57 episodios por vaca por año, siendo las más frecuentes: mastitis clínica, diarrea, infecciones respiratorias e infecciones peri parturientas. El 83% de los episodios, indistintamente de si eran de origen bacteriano, fueron tratados con antibióticos. Los más usados fueron: oxitetraciclina, penicilina, cloxacilina y trimetoprima sulfametoxazol (Redding et al., 2013, 2014). En Lima, en granjas cercanas a la ciudad de Lima, se realizó un estudio similar en 2021, en la que encontraron como antibióticos más usados a tetraciclina, penicilina, gentamicina y trimetropima sulfametoxazol, así como la cefalosporina de tercera generación ceftiofur. El uso generalizado de oxitetraciclina y penicilina fue confirmado por el hecho de que el 20% de los entrevistados podía recordar dichos nombres. Se notaron algunas prácticas no recomendables como la interrupción del tratamiento al ver mejoría, expresado por el 20% de los entrevistados (Benavides et al., 2021). La aplicación innecesaria de antibióticos podría contribuir a la generación de resistencia antibiótica.

Las investigaciones de Redding y Benavides brindan un importante panorama del uso de antibióticos en nuestro país. A partir de ello, se inician los esfuerzos por identificar los puntos críticos de la contaminación con antibióticos y su diseminación en el ambiente. Al respecto, Hartinger et al., (2021) elaboró un detallado esquema de la diseminación de la resistencia antibiótica en localidades rurales peruanas, como el de la microcuenca Ventilla. En dicho estudio, se lograron identificar vías críticas para la dispersión de la resistencia antibiótica. Sin embargo, se concluyó que la resistencia antibiótica en Perú aún está enormemente inexplorada y que los perfiles de resistencia encontrados parecen relacionarse a los antibióticos más usados en tratamientos. Finalmente, recomendaron el uso de análisis moleculares para elucidar si los aislados encontrados son clones, así como para la

identificación de genes de resistencia (Hartinger et al., 2021).

4.3.2. Análisis de los eventos de resistencia antibiótica de acuerdo con el punto de muestreo evaluado.

Se contabilizaron los eventos de resistencia frente a un antibiótico determinado tomando como referencia al punto de muestreo. Debido a que en cada punto de muestreo se analizaron 5 aislados de *E. coli*, solo fue posible observar, como máximo, 5 eventos de resistencia frente a cada antibiótico. Los eventos de resistencia frente a tetraciclina, ampicilina, trimetoprimasulfametotaxol y gentamicina no se concentraron en un solo punto de muestreo.

Como se observa en la Figura 17, el punto V1 presenta 1 evento de resistencia intermedia frente a gentamicina y 1 frente a sulfametoxazol/trimetoprima, mientras que el punto V5 presenta 5 eventos de resistencia intermedia a gentamicina, 2 eventos de resistencia a sulfametoxazol trimetoprima, 4 frente a ampicilina y 3 frente a tetraciclina. El punto 5 concentra la mayor cantidad de eventos de resistencia.

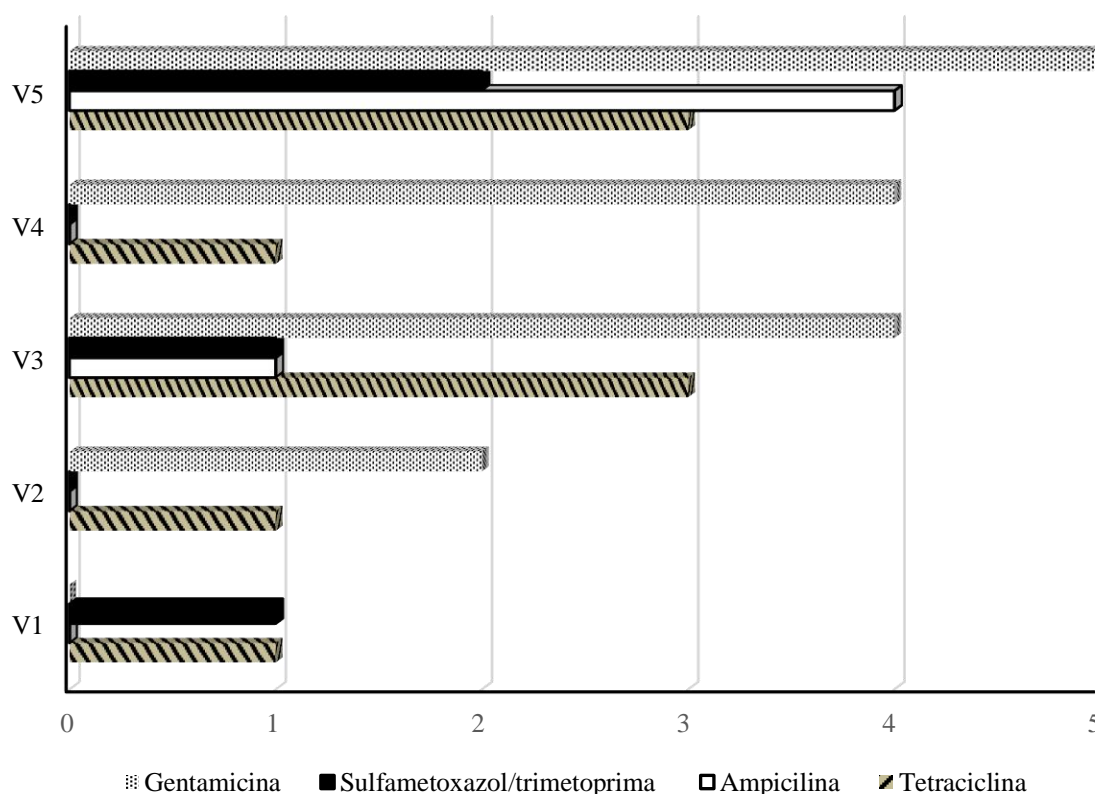


Figura 16: Eventos de resistencia antibiótica de acuerdo con el punto de muestreo.

En el estudio de Olazábal, 2020, se evaluó la resistencia antibiótica de *E. coli* en tres puntos de muestreo de tres ríos limeños: río Chillón, Rímac y Lurín. El antibiótico ampicilina presentó 7.7%, 16.7% y 75% de resistencia en el río Chillón, 0%, 0% y 27.3% en el río Rímac y 0%, 18.2% y 0% en el río Lurín. Las diferencias encontradas se atribuyeron a los efluentes de actividades económicas (Olazábal Vizcarra, 2020). En el caso del río Ventilla, la fuente de contaminación son los efluentes del distrito de Molinopampa. En el tramo estudiado del río Ventilla, los puntos V1, V3 y V5, presentan un 0%, 4% y 16% de aislados resistentes a ampicilina respectivamente. El punto 3 se ubica aproximadamente al medio del tramo evaluado, mientras que el punto 5 es el más cercano a la salida de Molinopampa. El incremento de los valores de CT, CF y EC en dirección al punto V5 y, a su vez, el incremento de los porcentajes de aislados resistentes en la misma dirección, sugiere que una mayor concentración de microorganismos facilita la interacción entre ellos, facilitando la adquisición de resistencia antibiótica (Baquero et al., 2008). En tal sentido, los distintos porcentajes de aislados resistentes se explicarían por la mayor cercanía al punto de contaminación.

4.3.3. Análisis de los eventos de resistencia antibiótica de acuerdo con los aislados de *E. coli* trabajados.

Los eventos de resistencia frente a los 4 antibióticos ya mencionados ocurrieron de manera heterogénea entre los aislados. En la Tabla 8 se puede observar que todos los eventos de resistencia del punto V1 corresponden a lo encontrado en el aislado V1C5. Los eventos de resistencia del punto V5 se distribuyen entre los aislados V5C2, V5C3, V5C4 y V5C5. Los aislados que presentan resistencia a tres o más familias de antibióticos son categorizados como resistentes multidroga (Magiorakos et al., 2011). Este sería el caso de los aislados V3C4, V5C2, V5C3, V5C4 y V5C5. Palacios Farias en 2019 cuantificó el número de aislados de *E. coli* que fueron resistentes a algún tipo de antibiótico, encontrando que el 32.25% fue resistente a al menos 1 antibiótico, 9.68% fue resistente a 2 y 3 antibióticos y el 6.45% fue resistente a 4 antibióticos (Palacios Farias, 2019). En la presente investigación, el 76% de los aislados presentó al menos una resistencia, el 16% fue resistente a 2 y 3 antibióticos y el 4% presentó resistencia a 4 antibióticos.

Tabla 9: Eventos de resistencia entre los aislados con resistencia a tetraciclina, ampicilina, sulfametoxazol trimetoprima y Gentamicina. “R” resistente, “I” intermedio, “S” susceptible.

	Tetraciclina	Ampicilina	Sulfametoxazol Trimetoprima	Gentamicina	Número de eventos de resistencia
V1C5	R	S	R	S	2
V2C2	R	S	S	S	1
V3C3	R	S	S	I	2
V3C4	R	R	R	S	3
V3C5	R	S	S	I	2
V4C2	R	S	S	I	2
V5C2	R	R	S	I	3
V5C3	R	R	R	I	4
V5C4	R	R	S	I	3
V5C5	S	R	R	I	3

4.3.4. Análisis de los diámetros de halo de inhibición de acuerdo con los antibióticos evaluados y el punto de muestreo.

Los diámetros de halo de inhibición se utilizan como criterio de determinación de la susceptibilidad a un antibiótico. Mediante modelos estadísticos y un gran número de ensayos, instituciones como CLSI establecen los rangos que determinan la susceptibilidad, resistencia intermedia o resistencia total de un microorganismo frente a un antibiótico. Dichos rangos son actualizados frecuentemente (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021).

En la Figura 18 se presenta un diagrama de cajas organizando los diámetros de halo de los aislados de *E. coli* frente al antibiótico tetraciclina por punto de muestreo. Los diámetros tuvieron como mínimo valor 0 cm y máximo valor 2,9 cm. Los valores mínimos se encontraron predominantemente en los puntos V3, V4 y V5.

La resistencia al antibiótico penicilina no pudo ser evaluada de acuerdo con el CLSI debido a que no se encontraron rangos de halo de inhibición (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021). De acuerdo a Lehtinen & Lilius (2007), la resistencia a penicilina G es considerada una característica intrínseca en *E. coli*. Ello se debe a la presencia de bombas de eflujo en su membrana externa, que evita la entrada de moléculas hidrofóbicas como penicilina G. Se explicarían así los bajos diámetros de halo obtenidos al enfrentar a los aislados con penicilina G. Como se aprecia en la Figura 18, el valor máximo de diámetro de halo frente a penicilina es aproximadamente, 1.5 cm; siendo 0 el valor más frecuente en el punto 5. Los diámetros de halo de resistencia antibiótica de ampicilina y trimetoprima

sulfametoxazol, de manera similar a los dos casos anteriores, reducen sus diámetros en el punto 5. En cada uno de los cuatro casos, se distinguen al menos dos grupos estadísticamente diferentes ($p > 0,05$) y, el punto 5 es siempre uno de ellos. Este agrupamiento se asemeja al obtenido en la evaluación de contaminación por coliformes NMP/100 ml (Sección 4.1). Lo anterior sugiere una relación entre las crecientes concentraciones de contaminación por coliformes, concentradas en el punto 5, y el decrecimiento del diámetro de halo del aislado de *E. coli* frente al antibiótico.

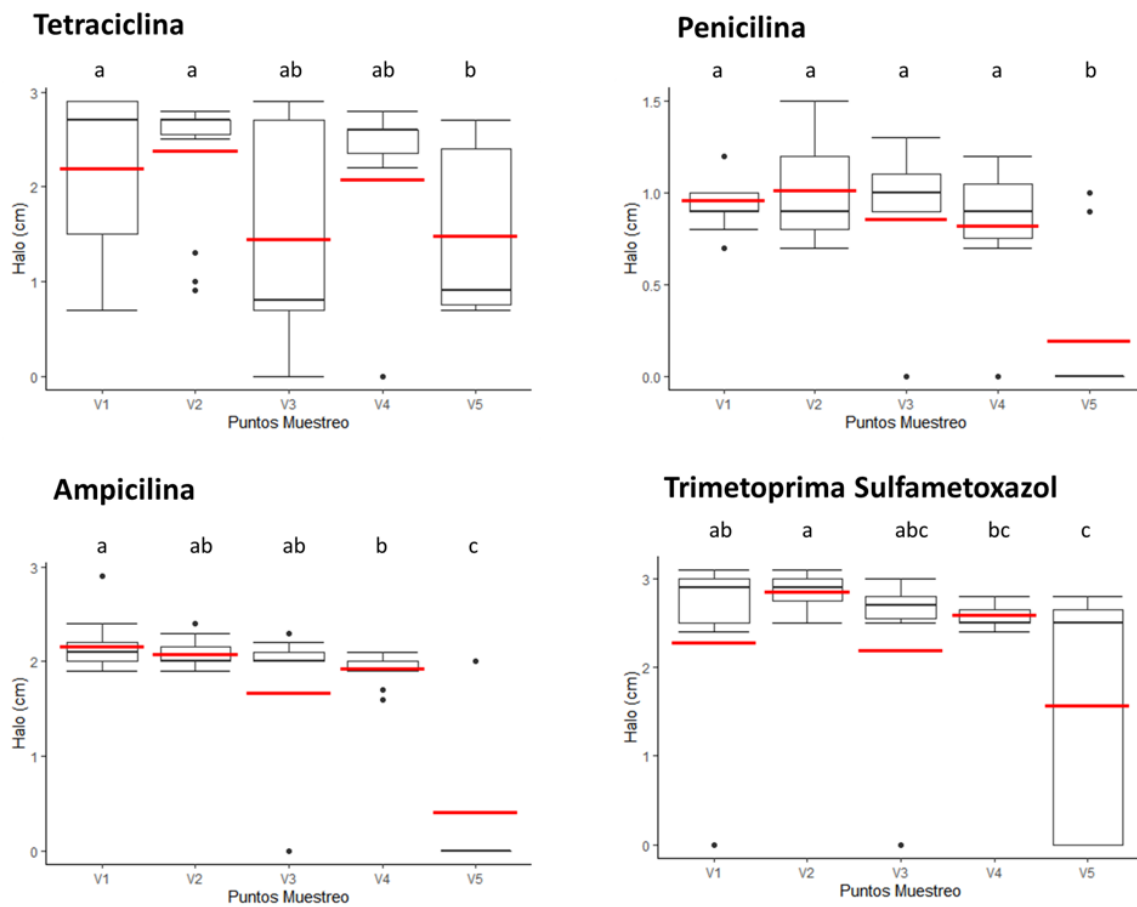


Figura 17: Diagramas de caja indicando media, mediana, dispersión de datos de los diámetros de halos de aislados de *E. coli*, de acuerdo con el punto de muestreo (V1, V2, V3, V4, V5) y al tipo de antibiótico (tetraciclina, penicilina, ampicilina, trimetoprima sulfametoxazol). Se muestran las agrupaciones obtenidas estadísticamente (a, ab, abc, bc, b y c), calculadas independientemente para cada tipo de antibiótico. La escala de halos inicia en 0 cm.

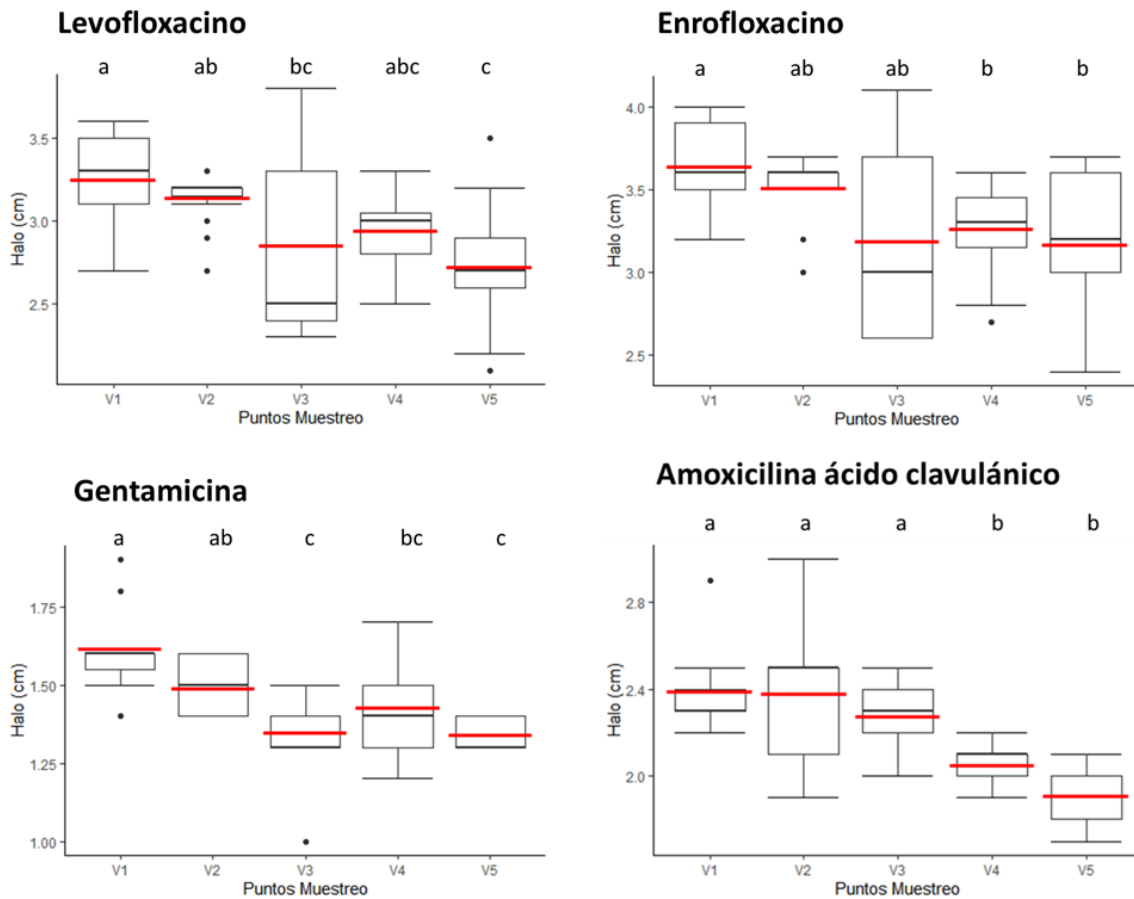


Figura 18: Diagramas de caja indicando media, mediana, dispersión de datos de los diámetros de halos de aislados de *E. coli*, de acuerdo con el punto de muestreo (V1, V2, V3, V4, V5) y al tipo de antibiótico (levofloxacin, enrofloxacin, gentamicina, amoxicilina ácido clavulánico). Se muestran las agrupaciones obtenidas estadísticamente (a, ab, abc, bc, b y c), calculadas independientemente para cada tipo de antibiótico

Los aislados de *E.coli* frente a los antibióticos levofloxacin y enrofloxacin produjeron halos con diámetros mayores a 2 cm. Es de notar, que, de acuerdo con el análisis estadístico, el punto 5 de levofloxacin se ubica en una agrupación diferente a las demás. En el caso de enrofloxacin, los puntos 4 y 5 presentan el agrupamiento b. Los diámetros de halo frente a gentamicina y amoxicilina y ácido clavulánico repiten la tendencia a una disminución a medida que se acercan al punto 5.

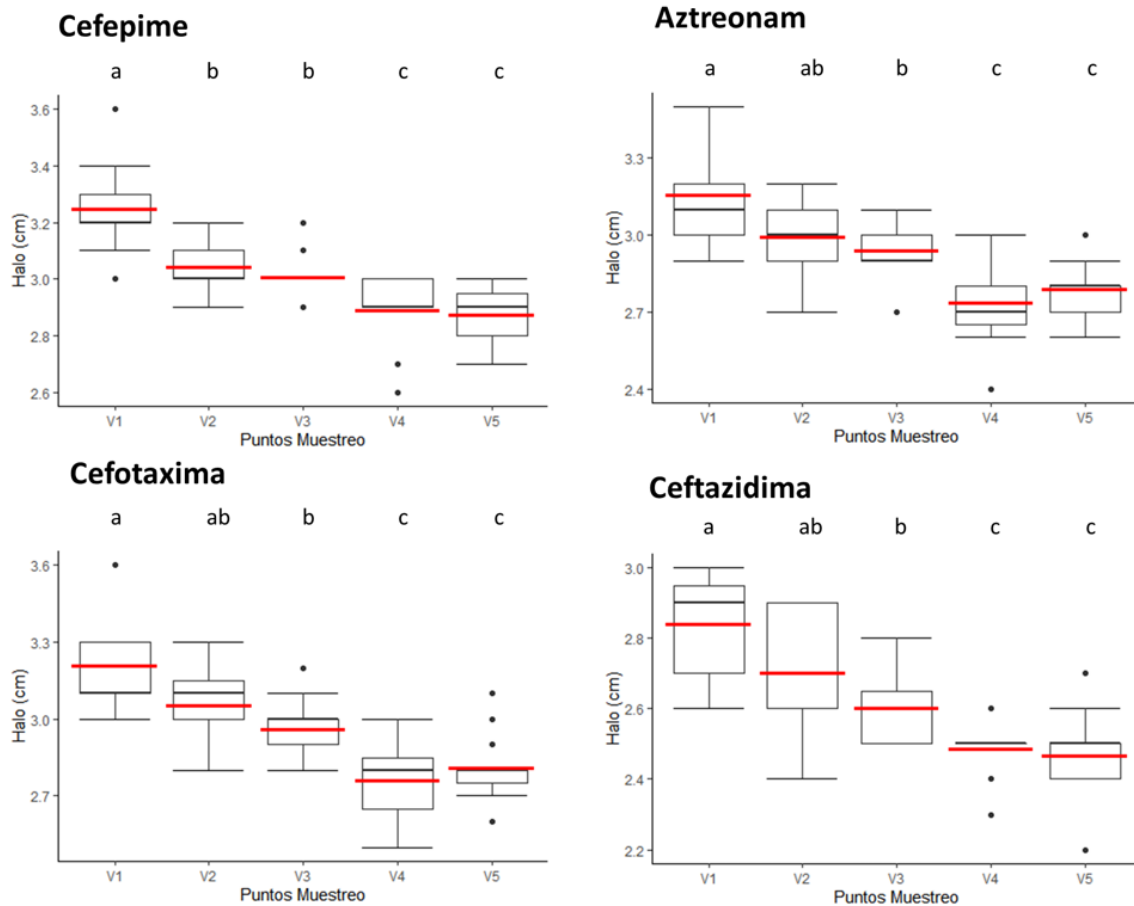


Figura 19: Diagramas de caja indicando media, mediana, dispersión de datos de los diámetros de halos de aislados de *E. coli*, de acuerdo con el punto de muestreo (V1, V2, V3, V4, V5) y al tipo de antibiótico (cefepime, aztreonam, cefotaxima, ceftazidima). Se muestran las agrupaciones obtenidas estadísticamente (a, ab, b y c), calculadas independientemente para cada tipo de antibiótico

Los antibióticos betalactámicos de espectro extendido también se evaluaron frente a los aislados, encontrando que ninguno era resistente a ellos. Sin embargo, la tendencia de menores halos en los puntos 4 y 5 se mantiene en todos los antibióticos, siendo agrupados en el grupo c.

V. CONCLUSIONES

- En el tramo del río Ventilla aledaño al distrito de Molinopampa, se detectó la contaminación del agua superficial del río en los parámetros microbiológicos coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *E. coli* (EC).
- Se cuantificaron los parámetros CT, CF y EC mediante la técnica del número más probable (NMP). La contaminación del agua superficial del río Ventilla oscila entre 46NMP/100 ml y 1600 NMP/100 ml en los parámetros CT, CF y *E. coli*. Los puntos cercanos a la descarga de efluentes del distrito presentaron los valores máximos. Dichas aguas no son aptas para consumo directo, riego, ni bebida de animales de acuerdo con los Estándares de Calidad peruanos.
- Se identificaron bioquímicamente 25 aislados de *E. coli*, mediante las pruebas de producción de indol, fermentación de azúcares y degradación de urea, lisina y citrato.
- El 36% de los aislados de *E. coli* presentaron resistencia total a tetraciclina, 20% a ampicilina y 16% a sulfametotaxol/trimetoprima. El 60% de los aislados tenían una resistencia intermedia a gentamicina.
- El diámetro de halo de inhibición antibiótica de cada antibiótico evaluado mostró una disminución en el punto 5, al compararse con los demás puntos.
- Las crecientes concentraciones de contaminación por CT, CF y EC, concentradas en el punto 5 y el decrecimiento del diámetro de halo sugieren una relación en la adquisición de la resistencia antibiótica.
- Cinco aislados de *E. coli* presentaron 3 o más resistencias frente a antibióticos de distintas familias, considerándose resistentes multidroga.
- No se encontraron aislados resistentes a antibióticos betalactámicos de espectro extendido.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar el estudio de aguas superficiales como un monitoreo, a fin de determinar las diferencias temporales en cada época (seca o lluviosa).
- Ampliar el área de estudio del río y establecer nuevos puntos de muestreo, a fin de obtener una mayor cantidad de datos.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) ante cada antibiótico.
- Incluir un control de agua superficial del río que, presumiblemente, no tenga contacto con actividades humanas, con el fin de establecer el posible origen de la resistencia antibiótica encontrada.
- Realizar encuestas sobre el uso de productos antibióticos en el distrito de Molinopampa, con el fin de identificar los agentes antibióticos que son aplicados en el distrito, distinguiendo entre productos de uso veterinario y humano.
- Analizar las muestras de agua mediante métodos como *High proficiency liquid chromatography*, *HPLC*, con el fin de determinar si los antibióticos utilizados en el distrito son detectables y/o cuantificables en las aguas del río Ventilla.
- Utilizar técnicas de biología molecular para complementar la identificación de *E. coli*, descartar la presencia de clones, e identificar los genes de resistencia que poseen. La evidencia genética se considera un factor más estable que la exhibición fenotípica de resistencia antibiótica.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar Apaza, E. A. (2017). *Calidad bacteriológica del río Torococha y su influencia en las aguas de pozo de los barrios San Isidro y San Jacinto de la ciudad de Juliaca* [Universidad Nacional del Altiplano].
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/10933>
- Alav, I., Sutton, J. M., & Rahman, K. M. (2018). Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(8), 2003–2020.
<https://doi.org/10.1093/jac/dky042>
- ANA. (2016). Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales. In *Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales (Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA)* (p. 92).
https://www.ana.gob.pe/sites/default/files/normatividad/files/r.j._010-2016-ana_0.pdf
- ANA, Consorcio Typsa-Tecnoma-Engecorp, & Grupo Inclam. (2015). *Evaluación de Recursos Hídricos en la Cuenca Marañón. Informe Final (Volumen I)*.
<https://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/39>
- APHA. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (R. Baird, A. Eaton, & E. Rice (eds.); 23rd ed.). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 260–265.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
- Bardales, W. (2018). *Influencia De Las Oportunidades De Mercado En Las Prácticas Pecuarias Y Gestión Administrativa De Los Sistemas Productivos De Ganado Lechero* [Universidad Nacional Agraria La Molina].
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3158/bardales-escalante-william.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

- Bartoloni, A., Pallecchi, L., Rodríguez, H., Fernandez, C., Mantella, A., Bartalesi, F., Strohmeyer, M., Kristiansson, C., Gotuzzo, E., Paradisi, F., & Rossolini, G. M. (2009). Antibiotic resistance in a very remote Amazonas community. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(2), 125–129.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.07.029>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turck, A. M., & Graevenitz, A. Von. (1978). 40 Microbiology: A Centenary Perspective 1966 Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(3), 493–496.
<https://www.asm.org/ccLibraryFiles/FILENAME/0000000295/105bauer.pdf%0Ahttp://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305417978800060>
- Beckton, & Dickson. (2009). *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media* (M. Zimbro, D. Power, S. Miller, G. Wilson, & J. Johnson (eds.); 2nd ed.). BD Diagnostics - Diagnostic systems.
- Benavides, J. A., Streicker, D. G., Gonzales, M. S., Rojas-Paniagua, E., & Shiva, C. (2021). Knowledge and use of antibiotics among low-income small-scale farmers of Peru. *Preventive Veterinary Medicine*, 105287.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105287>
- Botelho, J., & Schulenburg, H. (2020). The Role of Integrative and Conjugative Elements in Antibiotic Resistance Evolution. *Trends in Microbiology*, August.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.05.011>
- Brenner, D., Krieg, N., Staley, J., & Garrity, G. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed.). Springer.
- Brenner, G., & Stevens, C. (2019). Quimioterapia. In *Farmacología básica* (pp. 425–436). Elsevier Health science.
- Canto, R., & Ramo, H. U. (2009). *Antibiotic resistance genes from the environment: a perspective through newly identified antibiotic resistance mechanisms in the clinical setting*. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02679.x>
- Chávez, J., Rascón, J., & Eneque, A. (2017). *Evaluación del impacto del vertimiento de aguas residuales en la calidad del río Ventilla, Amazonas*. 3(1), 99–107.
<https://doi.org/10.25127/indes.201501.00>

- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2021). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirty- first Informational Supplement Clinical and Laboratory Standards Institute. In Weinstein, Lewis, Bobenchik, Campeau, Cullen, Galas, Gold, Humphries, Kirn, Limbago, Mathers, Mazzulli, Richter, Satlin, Schuetz, & Simner (Eds.), *CLSI document M100-S16CLSI*, Wayne, PA (30th ed., Vol. 32, Issue 1). Clinical and Laboratory Standards Institute. <http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI M100 ED31:2021&scope=user>
- Coila Apaza, G. K. (2017). *Resistencia a antibióticos y a metales pesados en bacterias coliformes aisladas de la laguna de oxidación espinar de la ciudad de Puno* [Universidad Nacional del Altiplano]. http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5302/Condori_Mamani_Meyner_Uriel_Ruelas_Yanque_Julio.pdf?sequence=1 http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2816/Luna_Mamani_Elizabeth.pdf?sequence=1
- DALYNN biologicals. (2014). McFarland Standard. 0, 2. http://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech/TM53.pdf
- Davies, J. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Evolution of Antibiotic Resistance*, 74(3). <https://doi.org/10.1128/membr.00016-10>
- Dinno, A. (2017). *Package “conover.test”*. 1–7. <https://cran.r-project.org/web/packages/conover.test/conover.test.pdf>
- Fernández Estela, A., Huamaní Alfaro, F., Rojas Ramos, J., Lavado Baldeón, I., Goetendía Lacma, L., Toro Vilchez, C., Guevara Vásquez, S., & Huapaya Porras, R. (2007). *Protocolo de Monitoreo de la Calidad Sanitaria de los Recursos Hídricos Superficiales*. [http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/informes_tecnicos/PROTOCOLO-MONITOREO-CALIDAD-RECURSOS-HIDRICOS-SUPERFICIALES-\(CONTINENTALES\).pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/informes_tecnicos/PROTOCOLO-MONITOREO-CALIDAD-RECURSOS-HIDRICOS-SUPERFICIALES-(CONTINENTALES).pdf)
- Fodor, A., Abate, B. A., Deák, P., Fodor, L., Gyenge, E., Klein, M. G., Koncz, Z., Muvevi, J., Ötvös, L., Székely, G., Vozik, D., & Makrai, L. (2020). Multidrug resistance (MDR) and collateral sensitivity in bacteria, with special attention to genetic and evolutionary aspects and to the perspectives of antimicrobial peptides—a review. *Pathogens*, 9(7),

1–55. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070522>

Gamarra, O., Corroto, F., Chávez, J., Leiva, D., Silva, D., & Leiva, D. (2018). *INFORME TÉCNICO N ° 02 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS: MICROBIOLÓGICOS, FÍSICOQUÍMICOS, METALES PESADOS, PROTOZOOS Y HELMINTOS EN 7 MICROCUENCAS DE LA REGIÓN AMAZONAS.*

Gamarra Torres, O., Barrena Gurbillón, M., Barboza Castillo, E., Rascón Barrios, J., Corroto, F., & Taramona Ruiz, L. A. (2018). Fuentes de contaminación estacionales en la cuenca del río Utcubamba, región Amazonas, Perú. *Arnaldoa*, 25(1), 179–194. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992018000100011

Hartinger, S. M., Medina-Pizzali, M. L., Salmon-Mulanovich, G., Larson, A. J., Pinedo-Bardales, M., Verastegui, H., Riberos, M., & Mäusezahl, D. (2021). Antimicrobial resistance in humans, animals, water and household environs in rural andean peru: Exploring dissemination pathways through the one health lens. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9). <https://doi.org/10.3390/ijerph18094604>

He, Y., Yuan, Q., Mathieu, J., Stadler, L., Senehi, N., Sun, R., & Alvarez, P. J. J. (2020). Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. *Npj Clean Water-Nature*, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41545-020-0051-0>

Iwu, C. D., Korsten, L., & Okoh, A. I. (2020). The incidence of antibiotic resistance within and beyond the agricultural ecosystem: A concern for public health. *MicrobiologyOpen*, 9(9), 1–28. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1035>

JIACRA. (2017). ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals: Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistan. In *EFSA Journal* (Vol. 15, Issue 7). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4872>

Kanjee, U., Gutsche, I., Alexopoulos, E., Zhao, B., Bakkouri, M. El, Thibault, G., Liu, K., Ramachandran, S., Snider, J., Pai, E. F., & Houry, W. A. (2011). Linkage between the bacterial acid stress and stringent responses: the structure of the inducible lysine decarboxylase. *The EMBO Journal*, 30(5), 931–944.

<https://doi.org/10.1038/emboj.2011.5>

- Kloke, J., & McKean, J. W. (2015). *Nonparametric Statistical Methods Using R*. CRC Press, Taylor & Francis Group. https://books.google.com.pe/books?id=b-msBAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Konieczna, I., Zarnowiec, P., Kwinkowski, M., Kolesinska, B., Fraczyk, J., Kaminski, Z., & Kaca, W. (2013). Bacterial Urease and its Role in Long-Lasting Human Diseases. *Current Protein and Peptide Science*, 13(8), 789–806. <https://doi.org/10.2174/138920312804871094>
- Larson, A., Hartinger, S. M., Riveros, M., Salmon-Mulanovich, G., Hattendorf, J., Verastegui, H., Huaylinos, M. L., & Mäusezahl, D. (2019). Antibiotic-resistant *Escherichia coli* in drinking water samples from rural andean households in Cajamarca, Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(6), 1363–1368. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0776>
- Lehtinen, J., & Lilius, E. M. (2007). Promethazine renders *Escherichia coli* susceptible to penicillin G: real-time measurement of bacterial susceptibility by fluoro-luminometry. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30(1), 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.02.019>
- Livia, L., Sánchez, R., Galiano, A., Cajas, J., Arévalo, E., & Rosas, E. (2021). ATLAS DE LA SUPERFICIE AGRÍCOLA DEL PERÚ. In *DIRECCIÓN GENERAL DE ESTADÍSTICA SEGUIMIENTO Y EVALUACIÓN DE POLÍTICAS*. <https://boutique.lemonde.fr/hors-series/atlas-de-la-terre-la-vie-le-monde-n-34.html>
- Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J. C., Moro, M. A., & Portolés, A. (2015). Antibióticos y quimioterápicos. Generalidades. In *Farmacología Básica y clínica*. [https://books.google.com.pe/books?id=BeQ6D40wTPQC&pg=PA825&dq=antibiotic os+clasificacion&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjrp_2MkavvAhVlIrKGHQgYDw4Q6AEwBXoECAEQAg#v=onepage&q=antibioticos clasificacion&f=true](https://books.google.com.pe/books?id=BeQ6D40wTPQC&pg=PA825&dq=antibiotic+os+clasificacion&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjrp_2MkavvAhVlIrKGHQgYDw4Q6AEwBXoECAEQAg#v=onepage&q=antibioticos clasificacion&f=true)
- Maco García, J. (2010). Hidrografía de la Región Amazonas. In (IIAP) Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana & (PROTERRA) Programa de Investigaciones en Cambio Climático (Eds.), *Zonificación Ecológica y Económica del Departamento de Amazonas. Hidrografía*. (Desarrol). IIAP, Gobierno Regional de Amazonas.

<http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/PUBL511.pdf>

- Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., & Hindler, J. F. (2011). Multidrug-resistance, extensively drug resistant and pandrug-resistant bacteria : an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Manyi-Loh, C., & Sampson, M. (2018). *Antibiotic Use in Agriculture and Its Consequential Resistance in Environmental Sources: Potential Public Health Implications*. <https://doi.org/10.3390/molecules23040795>
- Martinez, J. L. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*, 157(11), 2893–2902. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.051>
- Mendoza Patiño, N. (2008). Principios generales de la terapia antimicrobiana. In *Farmacología médica* (pp. 568–582). Editorial Panamericana.
- Mendoza Ramos, J. L. (2018). *Determinación de la calidad bacteriológica en aguas de regadío y cultivos de vegetales de tallo bajo ubicados al margen izquierdo del río Yura durante los meses de julio-setiembre, Arequipa, 2018*. [Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/7668>
- Merck. (2010). *Merck Microbiology Manual* (12th ed.). microbiology.merck.de
- MINAM. (2017). Aprueban Estandares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen disposiciones complementarias. DECRETO SUPREMO N°004-2017-MINAM. *El Peruano*, 6–9. <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-004-2017-MINAM.pdf>
- Moore, D. W. (2021). *Antibiotic Classification & Mechanism*. Orthobullets. <https://www.orthobullets.com/basic-science/9059/antibiotic-classification-and-mechanism>
- Munita, J., & Arias, C. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr.*, 4(2), 37. [https://doi.org/10.1016/S0065-7743\(08\)60495-9](https://doi.org/10.1016/S0065-7743(08)60495-9)
- Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Landry, M., & Tenover, M. C. (2007). *Manual of Clinical Microbiology* (P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M. Landry, & M. Tenover (eds.); 9th ed.). ASM PRESS.

- Olazábal Vizcarra, N. (2020). Evaluación de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislado en agua superficial de los ríos Chillón, Rímac y Lurín [Universidad Ricardo Palma]. In *Universidad Ricardo Palma*. <http://repositorio.urp.edu.pe/handle/urp/1040>
- Oliva, M., Oliva, C., Rojas, D., Oliva, M., & Morales, A. (2015). Botanical identification of native species most important of dairy basins Molinopampa, Pomacochas and Leymebamba, Amazonas, Peru. *Scientia Agropecuaria*, 6(2), 125–129. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.02.05>
- Organización Mundial de la Salud. (2020). *Antibiotic resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). *Guidelines for drinking-water quality, 4th edition, incorporating the 1st addendum*.
- Palacios Farias, S. E. (2019). *Frecuencia de Escherichia coli resistente a antibióticos aisladas del agua del río de Piura, Perú en un tramo de la ciudad*. [Universidad Nacional de Piura]. <http://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/1957/CIE-PAL-FAR-2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). *Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance*. 31(4), 1–61.
- Pilco, L. (2017). *EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA PRODUCCIÓN DE DERIVADOS LÁCTEOS EN LAS TRES CUENCAS GANADERAS DE LA REGIÓN AMAZONAS (Pomacochas, Leymebamba y Molinopampa)*. 1–66.
- Pinedo Mori, K. R. (2019). *OFICIO N°333-2019-MDM/PCH/A. Presupuesto Institucional de apertura 2020*.
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals*, 289–316. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>
- Prat, N., Rieradevall, M., & Fortuño, P. (2012). *Metodología F.E.M.* 1–44.
- Rascón, J., Angeles, W. G., Oliva, M., Quiñones, L., & Barrena Gurbillón, M. Á. (2020). Determinación de las épocas lluviosas y secas en la ciudad de Chachapoyas para el periodo de 2014-2018. *Revista de Climatología*, 20(July), 15–28.

- Redding, Barg, Smith, Galligan, Levy, & Hennessy. (2013). The role of veterinarians and feed-store vendors in the prescription and use of antibiotics on small dairy farms in rural Peru. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 7349–7354. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7045>.The
- Redding, Cubas-Delgado, Sammel, Smith, Galligan, Levy, & Hennessy. (2014). The use of antibiotics on small dairy farms in rural Peru. *Preventive Veterinary Medicine*, 113(1), 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.012>.The
- Romero, P., Calla-Quispe, E., Castillo-Vilcahuaman, C., Yokoo, M., Fuentes-Rivera, H., Ramírez, J., Ibáñez, A., & Wong, P. (2020). From the Andes to the desert: First overview of the bacterial community in the Rimac river, the main source of water for Lima, Peru. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.7551/mitpress/3215.003.0017>
- Sriram, A., Kalanxhi, E., Kapoor, G., Craig, J., Balasubramanian, R., Brar, S., Criscuolo, N., Hamilton, A., Klein, E., Tseng, K., Van Boeckel, T., & Laxminarayan, R. (2021). The State of the World’s Antibiotics in 2021: A global analysis of antimicrobial resistance and its drivers. In *The Center for Disease Dynamics, Economics & Policy*. <https://resistancemap.cddep.org/>
- Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(2), 116–129. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>
- Tananta del Águila, F. (2009). *Determinación de la Concentración de Coliformes Fecales y Totales en el Río Mayo, por Incidencia de la Descarga de Aguas Residuales de la Ciudad de Moyo bamba 2009*. Universidad Nacional de San Martín.
- Titilawo, Y., Obi, L., & Okoh, A. (2015). Antimicrobial resistance determinants of *Escherichia coli* isolates recovered from some rivers in Osun State, South-Western Nigeria: Implications for public health. *Science of the Total Environment*, 523, 82–94. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.095>
- Torres García, L. A. (2010). *Contaminación y capacidad de autorrecuperación del río Sonche, sector de confluencia de las Quebradas Santa Lucía y Taquiahuayco, Distrito de Chachapoyas, Departamento de Amazonas, 2007* [Universidad Nacional de Trujillo]. [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2183/Tesis Maestría - Luz Azucena Torres García.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2183/Tesis%20Maestría%20-%20Luz%20Azucena%20Torres%20García.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Valqui, E. (2016). Identificación y distribución de malezas, en praderas cultivadas de la

microcuenca de Ventilla del distrito de Molinopampa- Chachapoyas- Amazonas. *Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza-Amazonas*. [http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/823/Identificación y distribución de malezas, en praderas cultivadas de la microcuenca ganadera ventilla del distrito de Molinopampa- Chachapoyas- Amazonas.pdf?sequence=1](http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/823/Identificación_y_distribución_de_malezas_en_praderas_cultivas_de_la_microcuenca_ganadera_ventilla_del_distrito_de_molinopampa-chachapoyas-amazonas.pdf?sequence=1)

Vargas Montoya, M. J. (2019). “Evaluación De La Contaminación Fecal Y Propuesta De Control En La Microcuenca Del Río Olia, Región Amazonas.” *Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur*, 1, 1–81. <http://repositorio.untels.edu.pe/handle/UNTELS/166>

Vela Tafur, C. (2018). *Patrones De Distribución De Macroinvertebrados Bentónicos Y Su Relación Con La Calidad Ecológica Del Agua En La Microcuenca Del Río Ventilla, Chachapoyas, Amazonas*. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza.

Vicente, D., & Pérez-Trallero, E. (2010). Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(2), 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.10.002>

Watkins, R. R., & Bonomo, R. A. (2016). Overview: Global and Local Impact of Antibiotic Resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(2), 313–322. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.001>

VIII. ANEXOS

INFORME DE ENSAYO Nº : **LAB21-AA-117** **LAB21-AA-117 R2** **LAB21-AA-118** **LAB21-AA-118 R2**

RAZÓN SOCIAL O NOMBRE	L. DATOS GENERALES			
DIRECCIÓN	PROYECTO IEO PRO-FONDECYT			
RUC / DNI	UNTRM 72624868			
REFERENCIA	VENTILLA			
PROCEDENCIA	VENTILLA	VENTILLA	VENTILLA	VENTILLA
PRESENTACIÓN	01 FRASCO ESTERILIZADO DE 250 ML			
MUESTREADO POR	MARIA ELENA ROJAS CASTAÑEDA			
FECHA DE COLECTA	14/04/2021			
HORA DE COLECTA	11:00:00 a.m.			
FECHA DE RECEPCIÓN	14/04/2021			
HORA DE RECEPCIÓN	11:30:00 a.m.			
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS	14/04/2021			
HORA DE INICIO DE ENSAYOS	04:00:00 p.m.			
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME DE ENSAYO	14/04/2021			
HORA DE EMISIÓN DEL INFORME DE ENSAYO	04:00:00 p.m.			
CÓDIGO DE MUESTRA CLIENTE	19/072021			
TIPO DE AGUA	02:45:44 p.m.			
LUGAR DE DESARROLLO DE LOS ANÁLISIS	V3-R1	V3-R2	V4-R1	V4-R2
	RIO	RIO	RIO	RIO
	MB	MB	MB	MB
AUTORIZADO POR:	FUNCIONES:		FIRMA:	
José Raulón Barrios	Responsable del Laboratorio			

2. RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

PARÁMETROS FÍSICOS Y DE AGREGACIÓN

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	LAB21-AA-117	LAB21-AA-117 R2	LAB21-AA-118	LAB21-AA-118 R2
pH	Método 4500-HI-1 APHA, AWWA, WEF	pH	<0,001	#	#	#	#
Tª (en °C)	Método 2550B APHA, AWWA, WEF	°C	<0,1	#	#	#	#
TURBIDEZ	Método 2130B-0 APHA, AWWA, WEF	UNT	<0,13	#	#	#	#
OXÍGENO DISUELT	Método 4500-OI-0 APHA, AWWA, WEF	mg/L	<0,01	#	#	#	#
CONDUCTIVIDAD ELECTRICA	Método 2510 B APHA, AWWA, WEF	µS/cm²	<0,25	#	#	#	#
SOLIDOS DISUELTOS TOTALES		mg/L	-	#	#	#	#
SOLIDOS TOTALES	Método 2540 B APHA, AWWA, WEF	mg/L	<0,1	#	#	#	#

PARÁMETROS INORGÁNICOS NO METÁLICOS

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	LAB21-AA-117	LAB21-AA-117 R2	LAB21-AA-118	LAB21-AA-118 R2
ALCALINIDAD	Método 2320B APHA, AWWA, WEF	ppm CaCO ₃	<0,5	#	#	#	#
CLORURO	Método 4500-Cl-B APHA, AWWA, WEF	ppm Cl	<0,355	#	#	#	#
DUREZA	Método 2340C APHA, AWWA, WEF	ppm CaCO ₃	<0,5	#	#	#	#
NITRATOS	Método 8039 HACCL	ppm NO ₃	<0,1	#	#	#	#
NITRITOS	Método 8037 HACCL	ppm NO ₂	<0,001	#	#	#	#
SULFATOS	Método 375 A EPA	ppm SO ₄	<1,0	#	#	#	#
POSFATOS	Método 4396 HACCL	ppm PO ₄	<0,04	#	#	#	#
AMONIO	Método 4500 NH ₃ -C APHA, AWWA, WEF	ppm NH ₃	<0,02	#	#	#	#

3. RESULTADOS DE ANÁLISIS DE MATERIA ORGÁNICA

PARÁMETROS MATERIA ORGÁNICA

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	LAB21-AA-117	LAB21-AA-117 R2	LAB21-AA-118	LAB21-AA-118 R2
D.B.O. ₅	Método 8043 HACCL Dilución	mg/L de O ₂	<0,01	#	#	#	#
D.Q.O.	Método 8000 HACCL Digestión de Resorcina	mg/L de O ₂	<0,7	#	#	#	#

4. RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

GRUPO COLIFORMES

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	LAB21-AA-117	LAB21-AA-117 R2	LAB21-AA-118	LAB21-AA-118 R2
DILUCIÓN	Número Más Probable	10 ⁶		10-3	10-3	10-3	10-3
COLIFORMES TOTALES	Técnica Enumeración por Filtración en Tubo (Método NMP) de Coliformes Totales	NMP/100mL	NMP	920	>1600	>1600	>1600
COLIFORMES FECALIS	Método 9221-C APHA, AWWA, WEF. Procedimiento de 180° para Coliformes Fecales	NMP/100mL	NMP	920	>1600	>1600	>1600
COLI	Método 9221-B APHA, AWWA, WEF. Coliformación de Bacterias Coliformes	NMP/100mL	NMP	920	>1600	>1600	>1600

GRUPO ESTREPTOCOCOS

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	LAB21-AA-117	LAB21-AA-117 R2	LAB21-AA-118	LAB21-AA-118 R2
DILUCIÓN	Número Más Probable	10 ⁶		10-3	10-3	10-3	10-3
ESTREPTOCOCOS	Método 9220-B APHA, AWWA, WEF. Técnica de Tubo Múltiple	NMP/100mL	NMP	#	#	#	#
ENTEROCOCOS	Método 9220-B APHA, AWWA, WEF. Técnica de Tubo Múltiple	NMP/100mL	NMP	#	#	#	#

SALMONELLA

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	LAB21-AA-117	LAB21-AA-117 R2	LAB21-AA-118	LAB21-AA-118 R2
SALMONELLA	Método 9200-B APHA, AWWA, WEF. Procedimiento General de Cultivo en de Anilinas y 10% de Solución de Selenita F	PRESENCIA/AUSENCIA	PIA	#	#	#	#

V. CHOLERAE

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	LAB21-AA-117	LAB21-AA-117 R2	LAB21-AA-118	LAB21-AA-118 R2
V. CHOLERAE	Método 9200-H APHA, AWWA, WEF. Método de cultivo	PRESENCIA/AUSENCIA	PIA	#	#	#	#

L. D. = Límite máximo de detección del parámetro. U.D. = Unidad de Medida. # = Parámetro en actividad. MB = Área de Análisis Microbiológico. FQ = Área de Análisis Físicoquímico. EEA = Área de Experimentación de Estudios Ambientales.

Los resultados presentados son válidos únicamente para la muestra presentada.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita del LABTAG.

Los resultados no pueden ser usados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Calle Tigua Uica N°142-350-356 - Calle Universitaria N°304 - Chachapoyas - Amazonas - Perú
 labitag@unfm.edu.pe / labitag@mbc.unfm.edu.pe

INFORME DE ENSAYO N° : LAB21-AA-107 LAB21-AA-107 R2 LAB21-AA-107 R3

RAZÓN SOCIAL O NOMBRE		I. DATOS GENERALES	
DIRECCIÓN		PROYECTO H2O PRO-FONDECYT	
REF. DNI		UNTRM	
REFERENCIA		72624068	
PRESENTACIÓN	VENTILLA	VENTILLA	VENTILLA
MUESTREO POR		01 FRASCO ESTERILIZADO DE 250 ML	
FECHA DE MUESTREO	17/03/2021	MARIA ELENA ROJAS CASTAÑEDA	17/03/2021
HORA DE MUESTREO	12:00:00 a.m.		12:00:00 a.m.
FECHA DE RECEPCIÓN	17/03/2021		17/03/2021
HORA DE RECEPCIÓN	06:50:00 p.m.		06:50:00 p.m.
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS	18/03/2021		18/03/2021
HORA DE INICIO DE ENSAYOS	09:00:00 a.m.		09:00:00 a.m.
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME DE ENSAYO			
HORA DE EMISIÓN DEL INFORME DE ENSAYO			
CODIGO DE MUESTRA CLIENTE			
TIPO DE AGUA	PéV-R1	PéV-R2	PéV-R3
LUGAR DE DESARROLLO DE LOS ANALISIS	RIO	RIO	RIO
AUTORIZADO POR	MB	MB	MB
Jesús Rascón Barrios	Funciones Responsable del Laboratorio	FIRMA	

2. RESULTADOS DE ANALISIS FISICOQUIMICOS.

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	PARÁMETROS FISICOS Y DE AGREGACIÓN		
				LAB21-AA-107	LAB21-AA-107 R2	LAB21-AA-107 R3
pH	Método 4500-H ⁺ APHA, AWWA, WEF	pH	<0,001	#	#	#
T° (in situ)	Método 2550B APHA, AWWA, WEF	°C	<0,1	#	#	#
TURBIDEZ	Método 21300-B APHA, AWWA, WEF	UNT	<0,13	#	#	#
OXIGENO DISUELTO	Método 4500-O G APHA, AWWA, WEF	mg/L	<0,01	#	#	#
CONDUCTIVIDAD ELECTRICA	Método 2510 B APHA, AWWA, WEF	µS/cm²	<0,25	#	#	#
SOLIDOS DISUELTOS TOTALES	-	mg/L	-	#	#	#
SOLIDOS TOTALES	Método 2540 B APHA, AWWA, WEF	mg/L	<0,1	#	#	#

PARÁMETROS INORGÁNICOS NO METALICOS

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	PARÁMETROS INORGÁNICOS NO METALICOS		
				LAB21-AA-107	LAB21-AA-107 R2	LAB21-AA-107 R3
ALCALINIDAD	Método 2320B APHA, AWWA, WEF	ppm CaCO ₃	<0,5	#	#	#
CLORUROS	Método 4500-Cl-B APHA, AWWA, WEF	ppm Cl	<0,355	#	#	#
DUREZA	Método 2340C APHA, AWWA, WEF	ppm CaCO ₃	<0,5	#	#	#
NITRATOS	Método 8030 HACH	ppm NO ₃	<0,1	#	#	#
NITRITOS	Método 8507 HACH	ppm NO ₂	<0,001	#	#	#
SULFATOS	Método 3754 EPA	ppm SO ₄	<1,0	#	#	#
FOSFATOS	Método 8190 HACH	ppm PO ₄	<0,04	#	#	#
AMONIO	Método 4500 NHD C APHA, AWWA, WEF	ppm NH ₄	<0,02	#	#	#

3. RESULTADOS DE ANALISIS DE MATERIA ORGANICA

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	PARÁMETROS MATERIA ORGANICA		
				LAB21-AA-107	LAB21-AA-107 R2	LAB21-AA-107 R3
D.B.O. 5	Método 8043 HACH Dilución	mg/L de O ₂	<0,01	#	#	#
D.Q.O. 5	Método 8000 HACH Digestión de Reactivo	mg/L de O ₂	<0,7	#	#	#

4. RESULTADOS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	GRUPO COLIFORMES		
				LAB21-AA-107	LAB21-AA-107 R2	LAB21-AA-107 R3
COLIFORMES TOTALES	Técnica Estándarizada de Fermentación en Tubo Múltiple(NMP) de CT	NMP/100ml L	NMP	>1600	>1600	>1600
COLIFORMES FECALES	Método 900021-C APHA, AWWA, WEF Procedimiento de NMP para CF	NMP/100ml L	NMP	>1600	>1600	>1600
E. COLI	Método 900022-B APHA, AWWA, WEF Diferenciación de Bacterias Coliformes	NMP/100ml L	NMP	>1600	>1600	1600

GRUPO ESTREPTOCOCOS

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	GRUPO ESTREPTOCOCOS		
				LAB21-AA-107	LAB21-AA-107 R2	LAB21-AA-107 R3
DILUICION	Numero Mas Probable	10 ⁶	-	10-3	10-3	10-3
ESTREPTOCOCOS	Método 900023-B APHA, AWWA, WEF Técnica de Tubo Múltiple	NMP/100ml L	NMP	#	#	#
ENTEROCOCOS	Método 900023-B APHA, AWWA, WEF Técnica de Tubo Múltiple	NMP/100ml L	NMP	#	#	#

SALMONELLA

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	SALMONELLA		
				LAB21-AA-107	LAB21-AA-107 R2	LAB21-AA-107 R3
SALMONELLA	Método 900026-B APHA, AWWA, WEF Procedimientos Generales Cualitativos de Aislamiento e Identificación de Salmonella	PRESENCIA/AUSENCIA	P/A	#	#	#

V. CHOLERAEE

PARÁMETROS	MÉTODO	U.D.	L. D.	V. CHOLERAEE		
				LAB21-AA-107	LAB21-AA-107 R2	LAB21-AA-107 R3
V. CHOLERAEE	Método 900026-B APHA, AWWA, WEF Vánoo cholerae	PRESENCIA/AUSENCIA	P/A	#	#	#

L. D. = Límite máximo de detección del método. U.D. = Unidad de Medida. # = Parámetro no sometido. MB=Área de Análisis Microbiológico. FU= Área de Análisis Fisicoquímico. EA= Área de Espectrofotometría de Emisión Atómica.

Los resultados presentados son válidos únicamente para las muestras enviadas.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización escrita del LABSAG.

Los resultados no pueden ser usados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Calle Higua Urco N°342-350-356 - Calle Universitaria N°304 - Chachapuyas - Amazonas - Perú
 labisag@unm.edu.pe / labisag@indes-cen.edu.pe

Anexo 2: Composición de los medios de cultivo bioquímicos utilizados

Agar Lisina Hierro (*Lysine Iron Agar, LIA*)

Componente	Gramos por litro
Peptona de carne	5
Extracto de levadura	3
D(+) glucosa	1
L-lisina monohidroclorehidrato	10
Tiosulfato de sodio	0.04
Citrato de amonio férrico (III)	0.5
Púrpura de bromocresol	0.02
Agar agar	12.5

Agar Hierro Tres Azúcares (*Triple Sugar Iron Agar, TSI*)

Componente	Gramos por litro
Peptona de caseína	10
Peptona de carne	10
Extracto de carne	3
Extracto de levadura	3
Cloruro de sodio	5
Lactosa	10
Sucrosa	10
D(+) glucosa	1
Citrato de amonio férrico (III)	0.5
Tiosulfato de sodio	0.5
Rojo fenol	0.024
Agar agar	12

Agar Citrato de Simmons (*Simmon's Citrate Agar*)

Componente	Gramos por litro
Amonio dihidrógeno fosfato	1
Fosfato dipotásico	1

Cloruro de sodio	5
Citrato de sodio	2
Sulfato de magnesio	0.2
Azul de bromotimol	0.08
Agar agar	13

Agar urea (*Urea Agar*)

Componente	Gramos por litro
Peptona de carne	1
Glucosa	1
Cloruro de sodio	5
Potasio dihidrógeno fosfato	2
Rojo fenol	0.012
Agar agar	12
Urea (termolábil)	20

Agar Motilidad Indol (SIM Agar)

Componente	Gramos por litro
Peptona de caseína	20
Peptona de carne	6.6
Citrato de amonio férrico	0.2
Tiosulfato de sodio	0.2
Agar agar	3

Anexo 3: Volúmenes trabajados para la elaboración del estándar de McFarland

Estándar McFarland	1% BaCl ₂ (mL)	1% H ₂ SO ₄ (mL)
0.5	0.05	9.95
1	0.1	9.9
2	0.2	9.8
3	0.3	9.7
4	0.4	9.6

Anexo 4: Evaluación de la normalidad de los datos de CT, CF Y EC en NMP/100 mL. Obtención de valores descriptivos del conjunto de datos

Prueba de normalidad de Shapiro Wilk para las variables:

- valor NMP/100 ml del parámetro microbiológico Coliformes Totales
- valor NMP/100 ml del parámetro microbiológico Coliformes Fecales
- valor NMP/100 ml del parámetro microbiológico *Escherichia coli*

HIPÓTESIS:

Ho: Los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico (CT/ CF /E.C) se distribuyen normalmente.

H1: Los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico (CT/ CF /E.C) no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

\$univariateNormality					
	Test	Variable	Statistic	p value	Normality
1	Shapiro-wilk	PTO	0.9022	0.1028	YES
2	Shapiro-wilk	CT	0.7284	0.0005	NO
3	Shapiro-wilk	CF	0.7284	0.0005	NO
4	Shapiro-wilk	EC	0.7507	0.0009	NO

Conclusión: Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Se obtuvieron valores descriptivos del conjunto de datos de los valores NMP/100 ml de los parámetros microbiológicos (CT/ CF /E.C)

\$Descriptives										
	n	Mean	Std.Dev	Median	Min	Max	25th	75th	Skew	Kurtosis
PTO	15	3.0	1.46385	3	1	5	2	4	0.0000000	-1.5191111
CT	15	1176.0	578.23376	1600	140	1600	920	1600	-0.8866559	-0.9313768
CF	15	1176.0	578.23376	1600	140	1600	920	1600	-0.8866559	-0.9313768
EC	15	1124.6	621.63308	1600	46	1600	730	1600	-0.7364610	-1.2350527

Anexo 5: Evaluación de la igualdad de medianas de grupos por puntos de muestreo de los datos de CT, CF Y EC, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

- Parámetro Coliformes totales:

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CT de cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CT de cada punto de muestreo.

Nivel de significación: 0.05

```
kruskal-wallis rank sum test
data: data1$CT by data1$PTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 10.81, df = 4, p-value = 0.02878
```

P-valor	0.02878
----------------	----------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

- Parámetro Coliformes fecales:

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CF de cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CF de cada punto de muestreo.

Nivel de significación: 0.05

```
kruskal-wallis rank sum test
data: data1$CF by data1$PTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 10.81, df = 4, p-value = 0.02878
```

P-valor	0.02878
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).

- Parámetro *Escherichia coli*:

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CF de cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CF de cada punto de muestreo.

Nivel de significación: 0.05

```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: data1$EC by data1$PTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 10.804, df = 4, p-value = 0.02886

```

P-valor	0.02886
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).

Anexo 6: Comparaciones por pares de los datos de CT, CF Y EC de acuerdo con el punto de muestreo, mediante la prueba de Conover.

- Parámetro Coliformes totales

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CT de cada punto de muestreo (1, 2, 3, 4 y 5)

H1: Existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CT de cada punto de muestreo (1, 2, 3, 4 y 5)

Nivel de significación: 0.05

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: data1$CT by data1$PTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
2 - 1 == 0    4.099 0.0915947 .
3 - 1 == 0    4.099 0.0915947 .
4 - 1 == 0    7.081 0.0037584 **
5 - 1 == 0    7.081 0.0037584 **
3 - 2 == 0    0.000 1.0000000
4 - 2 == 0    2.981 0.2879790
5 - 2 == 0    2.981 0.2879790
4 - 3 == 0    2.981 0.2879790
5 - 3 == 0    2.981 0.2879790
5 - 4 == 0    0.000 1.0000000
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Agrupamientos obtenidos:

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: data1$CT by data1$PTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05

  median  Q25  Q75  n  Sig. group
1     160   150   170  3          a
2    1260  1090  1430  3         ab
3    1260  1090  1430  3         ab
4    1600  1600  1600  3          b
5    1600  1600  1600  3          b

```

- Parámetro Coliformes fecales:

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CF de cada punto de muestreo (1, 2, 3, 4 y 5)

H1: Existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico CF de cada punto de muestreo (1, 2, 3, 4 y 5)

Nivel de significación: 0.05

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: data1$CF by data1$PTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
2 - 1 == 0    4.099 0.0915947 .
3 - 1 == 0    4.099 0.0915947 .
4 - 1 == 0    7.081 0.0037584 **
5 - 1 == 0    7.081 0.0037584 **
3 - 2 == 0     0.000 1.0000000
4 - 2 == 0     2.981 0.2879790
5 - 2 == 0     2.981 0.2879790
4 - 3 == 0     2.981 0.2879790
5 - 3 == 0     2.981 0.2879790
5 - 4 == 0     0.000 1.0000000
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Agrupamientos obtenidos:

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: data1$CF by data1$PTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05

  median  Q25  Q75  n  Sig.  group
1     160   150   170  3          a
2    1260  1090  1430  3         ab
3    1260  1090  1430  3         ab
4    1600  1600  1600  3          b
5    1600  1600  1600  3          b

```

- Parámetro *Escherichia coli*:

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico EC de cada punto de muestreo (1, 2, 3, 4 y 5)

H1: Existen diferencias significativas entre los valores NMP/100 ml del parámetro microbiológico EC de cada punto de muestreo (1, 2, 3, 4 y 5)

Nivel de significación: 0.05

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: data1$EC by data1$PTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
2 - 1 == 0    3.839 0.1210722
3 - 1 == 0    4.335 0.0709570 .
4 - 1 == 0    7.059 0.0038419 **
5 - 1 == 0    7.059 0.0038419 **
3 - 2 == 0    0.495 0.9962184
4 - 2 == 0    3.220 0.2288671
5 - 2 == 0    3.220 0.2288671
4 - 3 == 0    2.725 0.3638046
5 - 3 == 0    2.725 0.3638046
5 - 4 == 0    0.000 1.0000000
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Agrupamientos obtenidos:

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: data1$EC by data1$PTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05

  median   Q25   Q75  n Sig. group
1     93   69.5 116.5 3      a
2    1070  805.0 1335.0 3     ab
3    1260 1090.0 1430.0 3     ab
4    1600 1600.0 1600.0 3      b
5    1600 1600.0 1600.0 3      b

```

Anexo 7: Análisis estadístico de los halos de inhibición antibiótica y diagrama de cajas de cada antibiótico, agrupado por punto de muestreo.

- Antibiótico 1: tetraciclina

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov para la variable “diámetro de halo de inhibición de tetraciclina”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de tetraciclina se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de tetraciclina no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA1$`HALO.(cm)`
D = 0.27506, p-value = 1.738e-15
```

P-valor	1.738*e⁻¹⁵
----------------	------------------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna
-------------------	---

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de tetraciclina en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de tetraciclina en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA1$`HALO.(cm)` by dataA1$PUNTO
Kruskal-wallis chi-squared = 13.074, df = 4, p-value = 0.01092
```

P-valor	0.01092
----------------	----------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de tetraciclina de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de tetraciclina de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

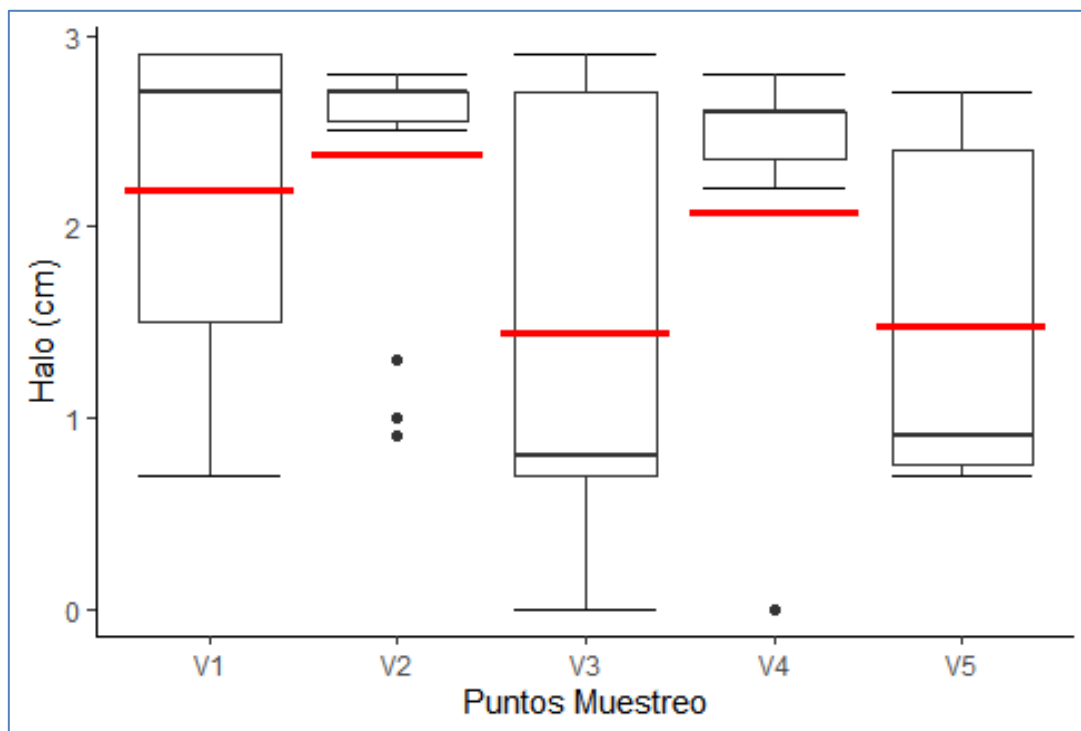
Nivel de significación: 0.05

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA1$`HALO.(cm)` by dataA1$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0  0.217 0.999871
V3 - V1 == 0 -3.071 0.202778
V4 - V1 == 0 -2.143 0.556176
V5 - V1 == 0 -4.248 0.029436 *
V3 - V2 == 0 -3.288 0.149271
V4 - V2 == 0 -2.360 0.459463
V5 - V2 == 0 -4.465 0.019285 *
V4 - V3 == 0  0.928 0.964975
V5 - V3 == 0 -1.177 0.919682
V5 - V4 == 0 -2.105 0.573517
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Agrupamientos obtenidos:

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA1$`HALO.(cm)` by dataA1$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05
  median  Q25  Q75  n  Sig. group
V1     2.7  1.50  2.9  15          a
V2     2.7  2.55  2.7  15          a
V3     0.8  0.70  2.7  15         ab
V4     2.6  2.35  2.6  15         ab
V5     0.9  0.75  2.4  15          b
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiotico tetraciclina (TE), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiotico 2: penicilina

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov para la variable “diámetro de halo de inhibición de penicilina”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de penicilina se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de penicilina no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA2$`HALO.(cm)`
D = 0.22886, p-value = 1.679e-10
```

P-valor	1.679*e⁻¹⁰
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de penicilina en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de penicilina en cada punto de muestreo.

Nivel de significación: 0.05

```
Kruskal-Wallis rank sum test
data: dataA2$`HALO.(cm)` by dataA2$PUNTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 20.358, df = 4, p-value = 0.0004244
```

P-valor	0.0004244
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de penicilina de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de penicilina de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

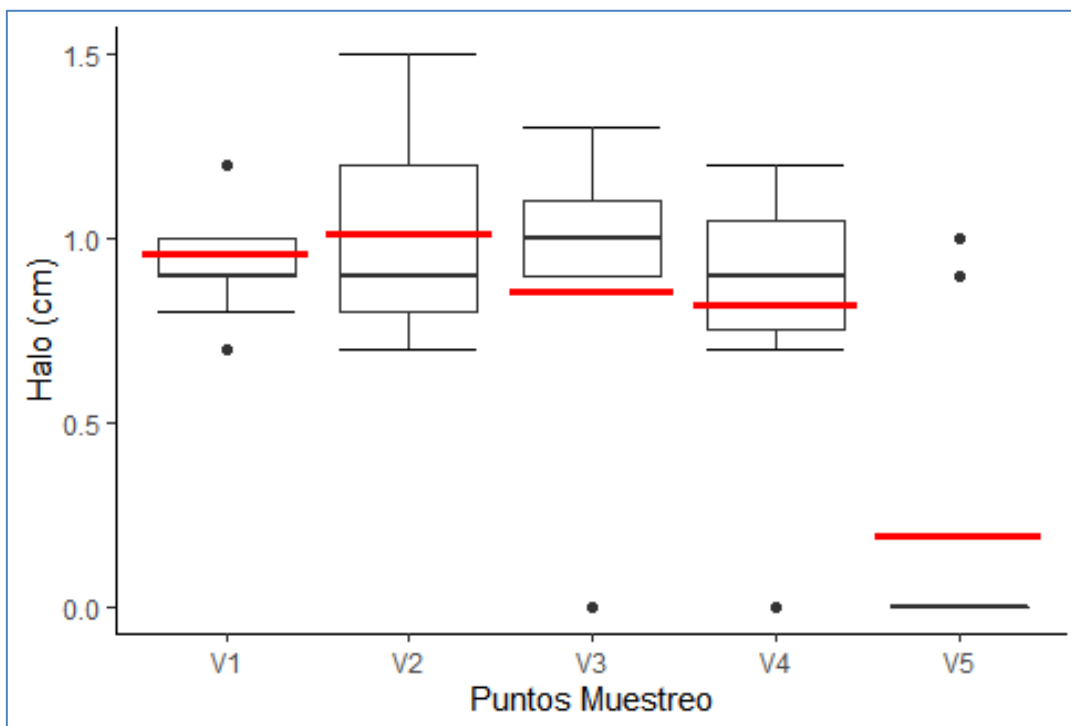
Nivel de significación: 0.05

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA2$`HALO.(cm)` by dataA2$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0   0.473 0.99723615
V3 - V1 == 0   0.418 0.99829145
V4 - V1 == 0  -1.015 0.95177255
V5 - V1 == 0  -5.637 0.00148956 **
V3 - V2 == 0  -0.055 0.99999947
V4 - V2 == 0  -1.488 0.82997816
V5 - V2 == 0  -6.110 0.00047280 ***
V4 - V3 == 0  -1.433 0.84837241
V5 - V3 == 0  -6.055 0.00054162 ***
V5 - V4 == 0  -4.622 0.01406098 *
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Agrupamientos obtenidos:

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA2$`HALO.(cm)` by dataA2$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05
  median  Q25  Q75  n Sig. group
V1    0.9  0.90  1.00  15      a
V2    0.9  0.80  1.20  15      a
V3    1.0  0.90  1.10  15      a
V4    0.9  0.75  1.05  15      a
V5    0.0  0.00  0.00  15      b
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiotico penicilina (P), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiotico 3: ampicilina

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov para la variable “diámetro de halo de inhibición de ampicilina”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de ampicilina se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de ampicilina no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA3$`HALO.(cm)`
D = 0.38055, p-value < 2.2e-16
```

P-valor	2.2*e⁻¹⁶
----------------	----------------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna
-------------------	---

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de ampicilina en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de ampicilina en cada punto de muestreo.

Nivel de significación: 0.05

```
Kruskal-Wallis rank sum test
data: dataA3$`HALO.(cm)` by dataA3$PUNTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 30.947, df = 4, p-value = 3.139e-06
```

P-valor	0.0004244
----------------	------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de ampicilina de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de ampicilina de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

Nivel de significación: 0.05

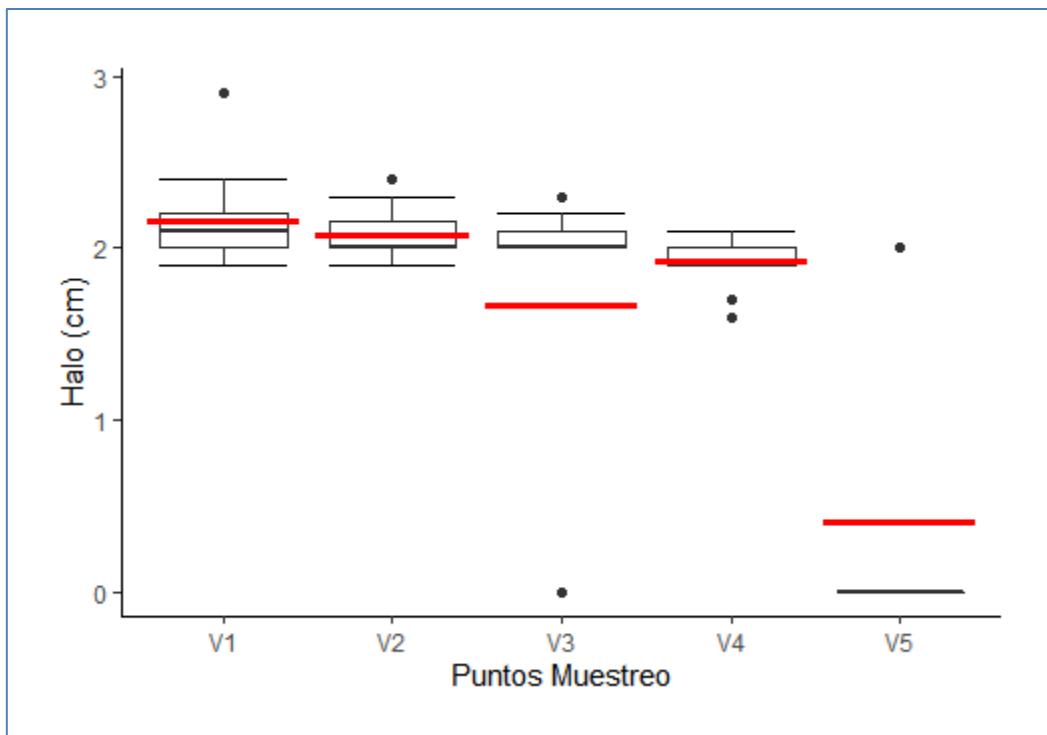
```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA3$`HALO.(cm)` by dataA3$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0 -1.611 0.78508103
V3 - V1 == 0 -2.865 0.26474279
V4 - V1 == 0 -4.803 0.00965219 **
V5 - V1 == 0 -9.209 9.4829e-08 ***
V3 - V2 == 0 -1.253 0.90106849
V4 - V2 == 0 -3.192 0.17150701
V5 - V2 == 0 -7.598 9.4034e-06 ***
V4 - V3 == 0 -1.938 0.64827153
V5 - V3 == 0 -6.344 0.00026245 ***
V5 - V4 == 0 -4.406 0.02167248 *
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Agrupamientos obtenidos:

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA3$`HALO.(cm)` by dataA3$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05

  median Q25  Q75  n Sig. group
V1    2.1  2.0  2.20 15         a
V2    2.0  2.0  2.15 15        ab
V3    2.0  2.0  2.10 15        ab
V4    1.9  1.9  2.00 15         b
V5    0.0  0.0  0.00 15         c
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiotico ampicilina, de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 4: trimetoprima sulfametotaxol

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnof para la variable “diámetro de halo de inhibición de trimetoprima sulfametotaxol”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de trimetoprima sulfametotaxol se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de trimetoprima sulfametotaxol no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA4$`HALO.(cm)`
D = 0.39282, p-value < 2.2e-16
```

P-valor	2.2*e⁻¹⁶
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de trimetoprima sulfametotaxol en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de trimetoprima sulfametotaxol en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-Wallis rank sum test
data: dataA4$`HALO.(cm)` by dataA4$PUNTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 20.99, df = 4, p-value = 0.0003181
```

P-valor	0.0003181
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de trimetoprima sulfametotaxol de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de trimetoprima sulfametotaxol de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5.

Nivel de significación: 0.05

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA4$`HALO.(cm)` by dataA4$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
```

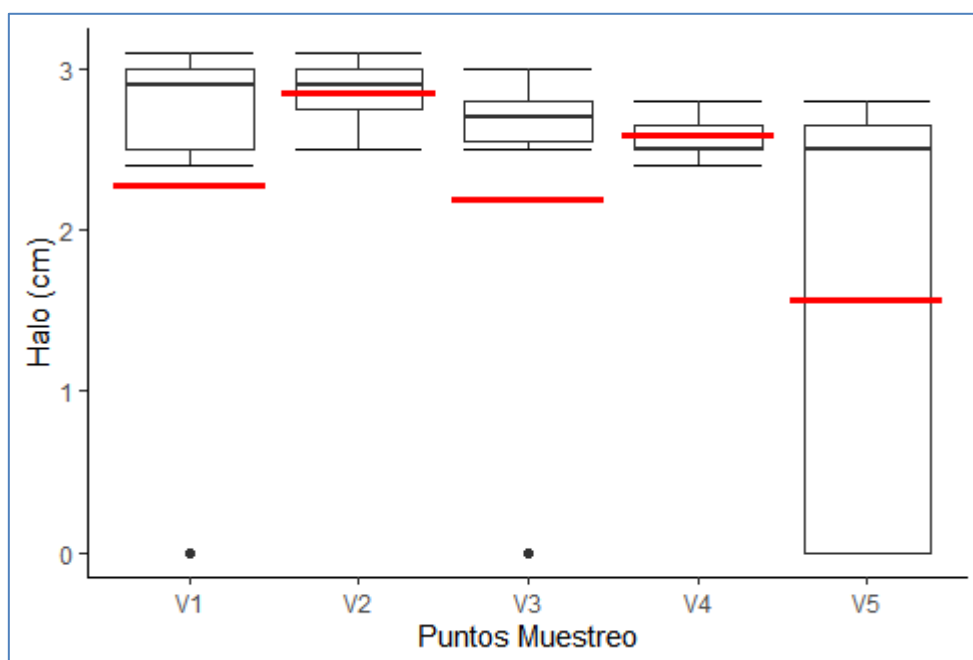
	q value	Pr(> q)	
V2 - V1 == 0	2.034	0.6052442	
V3 - V1 == 0	-1.622	0.7810108	
V4 - V1 == 0	-3.052	0.2080350	
V5 - V1 == 0	-4.749	0.0108081	*
V3 - V2 == 0	-3.656	0.0841491	.
V4 - V2 == 0	-5.086	0.0052452	**
V5 - V2 == 0	-6.783	8.444e-05	***
V4 - V3 == 0	-1.430	0.8495545	
V5 - V3 == 0	-3.127	0.1876916	
V5 - V4 == 0	-1.698	0.7511381	

Agrupamientos obtenidos:

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA4$`HALO.(cm)` by dataA4$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05
```

	median	Q25	Q75	n	Sig.	group
V1	2.9	2.50	3.00	15		ab
V2	2.9	2.75	3.00	15		a
V3	2.7	2.55	2.80	15		abc
V4	2.5	2.50	2.65	15		bc
V5	2.5	0.00	2.65	15		c

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiotico trimetoprima sulfametotaxol (SXT), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 5: levofloxacin

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov para la variable “diámetro de halo de inhibición de levofloxacin”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de levofloxacin se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de levofloxacin no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA5$`HALO.(cm)`
D = 0.13394, p-value = 0.001964
```

P-valor	0.001964
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de levofloxacin en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de levofloxacin en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA5$`HALO.(cm)` by dataA2$PUNTO
Kruskal-wallis chi-squared = 16.989, df = 4, p-value = 0.001942
```

P-valor	0.001942
Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de levofloxacino cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de levofloxacino de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

Nivel de significación: 0.05

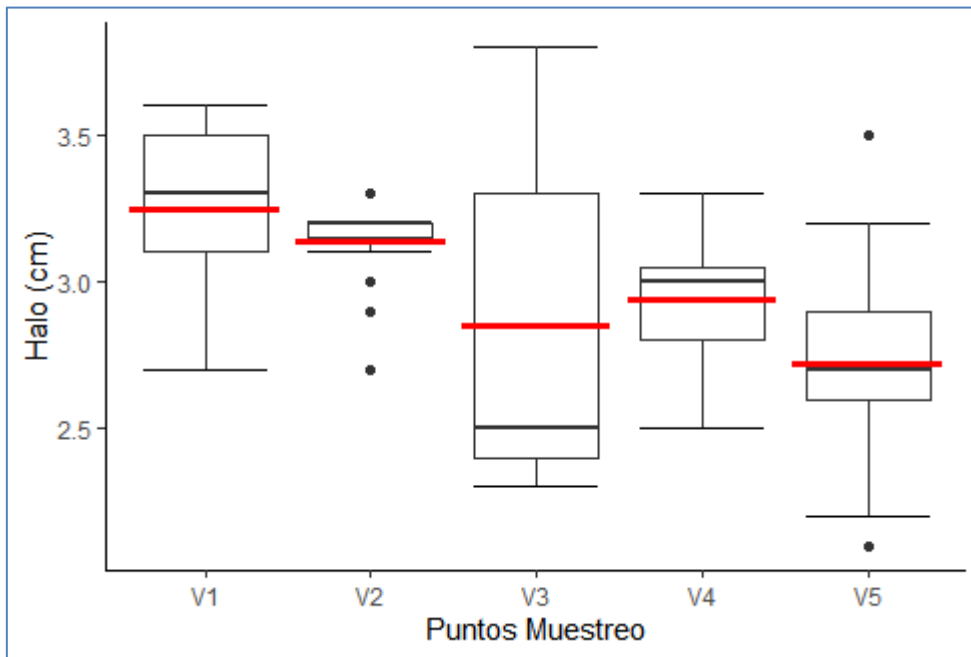
```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA5$`HALO.(cm)` by dataA5$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0  -1.260 0.8993993
V3 - V1 == 0  -4.280 0.0276507 *
V4 - V1 == 0  -3.713 0.0765798 .
V5 - V1 == 0  -5.586 0.0016777 **
V3 - V2 == 0  -3.021 0.2167691
V4 - V2 == 0  -2.453 0.4197377
V5 - V2 == 0  -4.327 0.0253008 *
V4 - V3 == 0   0.567 0.9944269
V5 - V3 == 0  -1.306 0.8869208
V5 - V4 == 0  -1.873 0.6770412
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Agrupamientos

obtenidos:

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA5$`HALO.(cm)` by dataA5$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05
      median  Q25  Q75  n  Sig. group
V1      3.3  3.10  3.50  15      a
V2      3.2  3.15  3.20  15     ab
V3      2.5  2.40  3.30  15     bc
V4      3.0  2.80  3.05  15    abc
V5      2.7  2.60  2.90  15     c
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico levofloxacino (LEV), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 6: enrofloxacino

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnof para la variable “diámetro de halo de inhibición de enrofloxacino”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de enrofloxacino se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de enrofloxacino no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA6$`HALO.(cm)`
D = 0.17238, p-value = 8.804e-06
```

P-valor	8.804*e-06
----------------	-------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna
-------------------	---

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de levofloxacino en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de levofloxacino en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA6$`HALO.(cm)` by dataA6$PUNTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 13.101, df = 4, p-value = 0.01079
```

P-valor	0.001942
----------------	-----------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

HIPOTESIS:

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de levofloxacino cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de levofloxacino de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

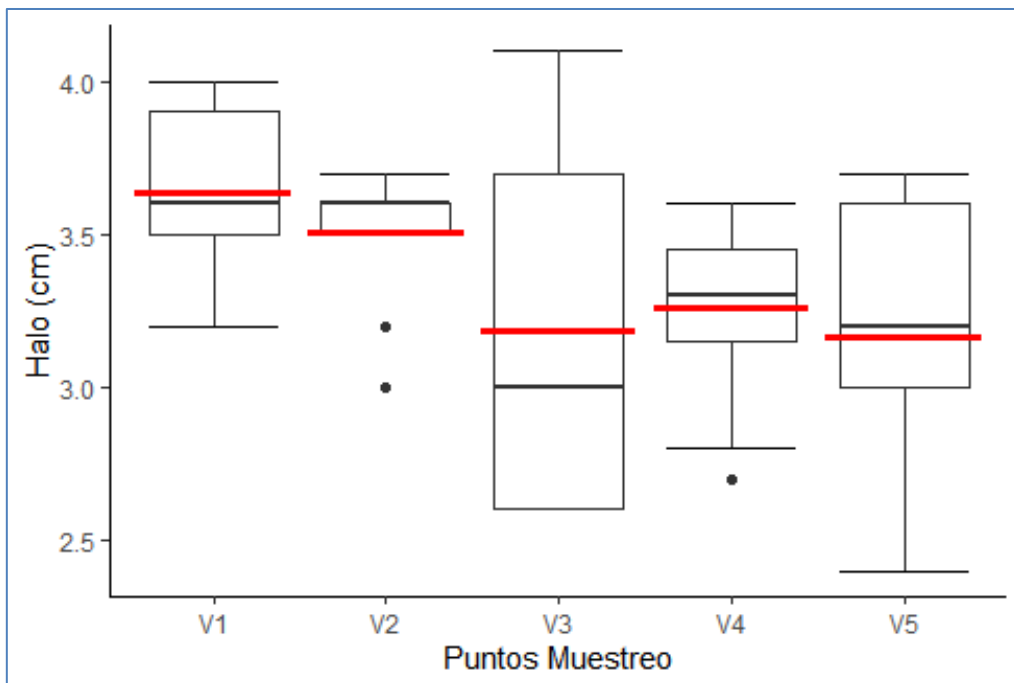
Nivel de significación: 0.05

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA6$`HALO.(cm)` by dataA6$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0 -1.458 0.840170
V3 - V1 == 0 -3.683 0.080468 .
V4 - V1 == 0 -4.201 0.032124 *
V5 - V1 == 0 -4.438 0.020348 *
V3 - V2 == 0 -2.225 0.519101
V4 - V2 == 0 -2.743 0.306384
V5 - V2 == 0 -2.980 0.228664
V4 - V3 == 0 -0.518 0.996073
V5 - V3 == 0 -0.755 0.983556
V5 - V4 == 0 -0.237 0.999820
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Agrupamientos obtenidos

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA6$`HALO.(cm)` by dataA6$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05
      median Q25  Q75  n Sig. group
V1      3.6 3.50 3.90 15      a
V2      3.6 3.50 3.60 15     ab
V3      3.0 2.60 3.70 15     ab
V4      3.3 3.15 3.45 15      b
V5      3.2 3.00 3.60 15      b
```


Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico gentamicina de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 7: gentamicina

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnof para la variable “diámetro de halo de inhibición de gentamicina”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de gentamicina se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de gentamicina no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA7$`HALO.(cm)`
D = 0.19934, p-value = 7.584e-08
```

P-valor	7.584*e-08
----------------	-------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna
-------------------	---

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de gentamicina en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de gentamicina en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA7$`HALO.(cm)` by dataA7$PUNTO
Kruskal-wallis chi-squared = 36.515, df = 4, p-value = 2.267e-07
```

P-valor	2.267e⁻⁷
----------------	----------------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

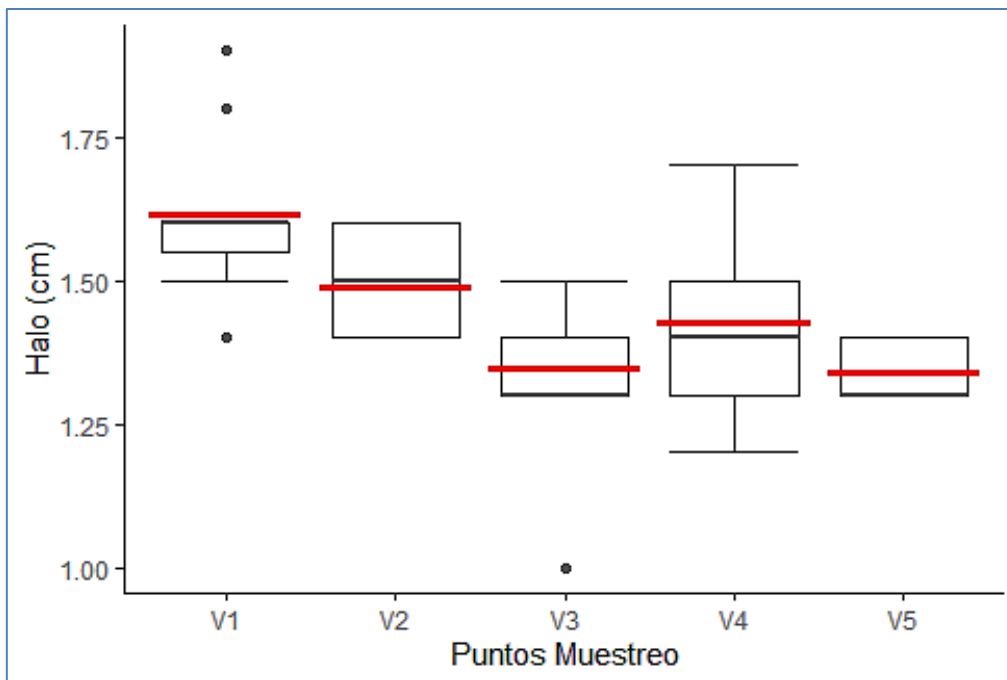
H₀: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de levofloxacino cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H₁: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de levofloxacino de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

Nivel de significación: 0.05

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA7$`HALO.(cm)` by dataA7$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value   Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0  -3.549 0.10005563
V3 - V1 == 0  -9.082 1.3747e-07 ***
V4 - V1 == 0  -6.357 0.00025392 ***
V5 - V1 == 0 -10.090 6.9872e-09 ***
V3 - V2 == 0  -5.532 0.00190302 **
V4 - V2 == 0  -2.808 0.28377266
V5 - V2 == 0  -6.541 0.00015885 ***
V4 - V3 == 0   2.725 0.31316790
V5 - V3 == 0  -1.008 0.95288467
V5 - V4 == 0  -3.733 0.07410833 .
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico gentamicina (GN) de acuerdo al punto de muestreo



- Antibiótico 8: cefepime

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov para la variable “diámetro de halo de inhibición de cefepime”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de cefepime se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de cefepime no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA8$`HALO.(cm)`
D = 0.21793, p-value = 1.801e-09
```

P-valor	1.0801 e-09
----------------	--------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna
-------------------	---

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de cefepime en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de cefepime en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-Wallis rank sum test
data: dataA8$`HALO.(cm)` by dataA8$PUNTO
Kruskal-Wallis chi-squared = 46.939, df = 4, p-value = 1.57e-09
```

P-valor	1.57*e⁻⁰⁹
----------------	-----------------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de cefepime cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de cefepime de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

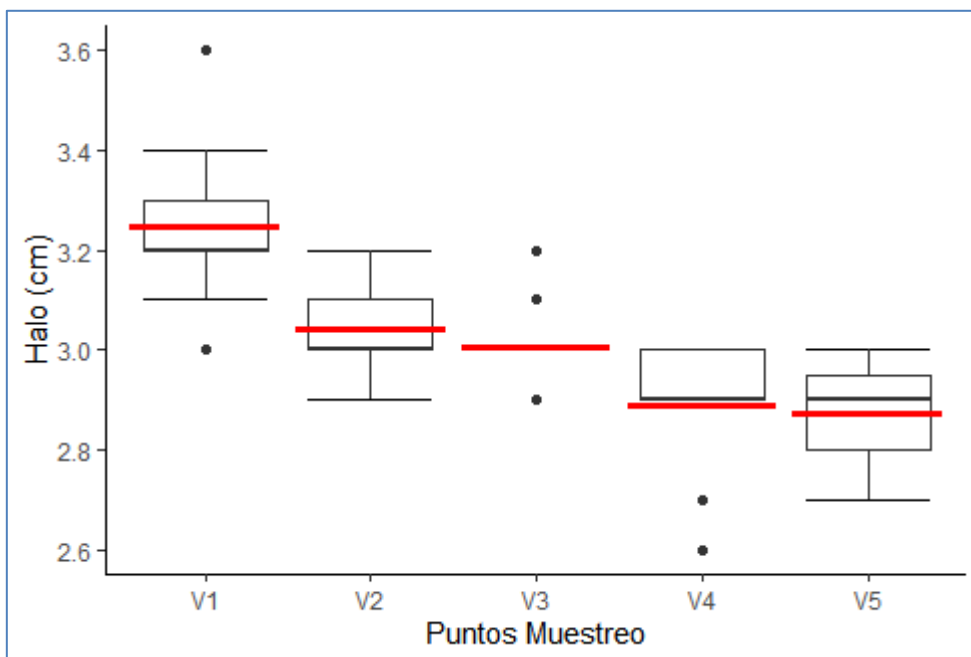
Nivel de significación: 0.05

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA8$`HALO.(cm)` by dataA8$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0 -6.036 0.00056706 ***
V3 - V1 == 0 -7.614 8.9845e-06 ***
V4 - V1 == 0 -12.612 < 2.22e-16 ***
V5 - V1 == 0 -13.670 < 2.22e-16 ***
V3 - V2 == 0 -1.578 0.79779719
V4 - V2 == 0 -6.575 0.00014522 ***
V5 - V2 == 0 -7.634 8.5109e-06 ***
V4 - V3 == 0 -4.998 0.00636171 **
V5 - V3 == 0 -6.056 0.00054028 ***
V5 - V4 == 0 -1.058 0.94416039
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Agrupamientos obtenidos:

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA8$`HALO.(cm)` by dataA8$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05
  median Q25  Q75  n Sig. group
V1     3.2  3.2  3.30 15          a
V2     3.0  3.0  3.10 15          b
V3     3.0  3.0  3.00 15          b
V4     2.9  2.9  3.00 15          c
V5     2.9  2.8  2.95 15          c
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico cefepime (FEP), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 9: aztreonam

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov para la variable “diámetro de halo de inhibición de aztreonam”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de aztreonam se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de aztreonam no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA9$`HALO.(cm)`
D = 0.12882, p-value = 0.003573
```

P-valor	0.003573
----------------	-----------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna
-------------------	---

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de aztreonam en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de aztreonam en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA9$`HALO.(cm)` by dataA9$PUNTO
Kruskal-wallis chi-squared = 45.349, df = 4, p-value = 3.363e-09
```

P-valor	3.363*e⁻⁰⁹
----------------	------------------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de aztreonam cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de aztreonam de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

Nivel de significación: 0.05

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: dataA9$`HALO.(cm)` by dataA9$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value   Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0  -3.803 0.06575402 .
V3 - V1 == 0  -5.616 0.00156544 **
V4 - V1 == 0 -12.499 < 2.22e-16 ***
V5 - V1 == 0 -11.466 5.4211e-11 ***
V3 - V2 == 0  -1.812 0.70328066
V4 - V2 == 0  -8.696 4.2149e-07 ***
V5 - V2 == 0  -7.663 7.8515e-06 ***
V4 - V3 == 0  -6.883 6.4885e-05 ***
V5 - V3 == 0  -5.850 0.00089327 ***
V5 - V4 == 0   1.033 0.94868753
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
    
```

Agrupamientos obtenidos.

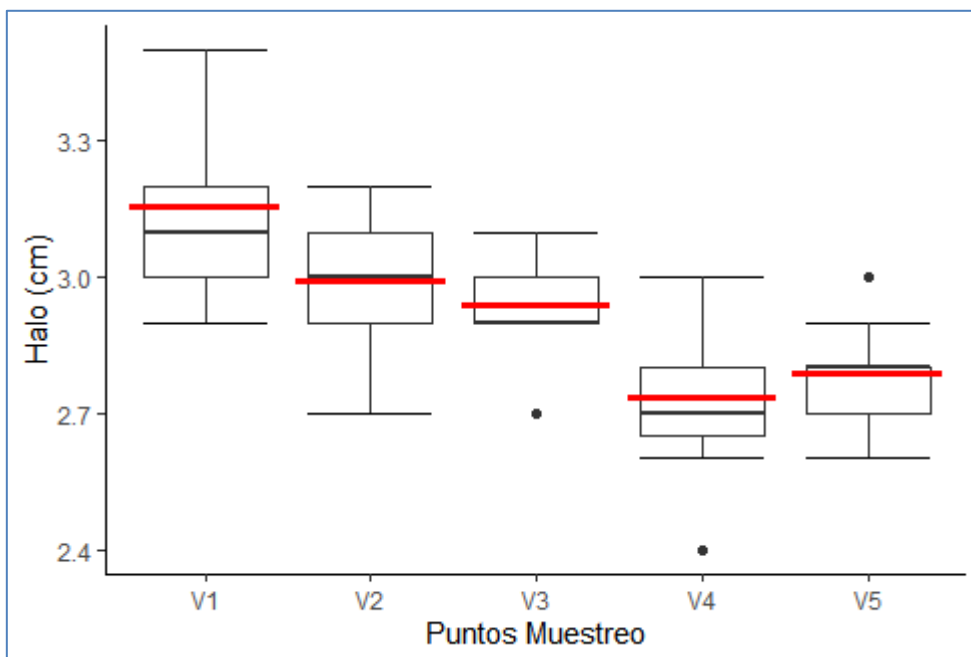
```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: dataA9$`HALO.(cm)` by dataA9$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05

  median  Q25  Q75  n  Sig. group
V1     3.1  3.00  3.2  15          a
V2     3.0  2.90  3.1  15         ab
V3     2.9  2.90  3.0  15          b
V4     2.7  2.65  2.8  15          c
V5     2.8  2.70  2.8  15          c
    
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico aztreonam (ATM), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 10: cefotaxima

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov para la variable “diámetro de halo de inhibición de cefotaxima”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de cefotaxima se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de cefotaxima no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA10$`HALO.(cm)`
D = 0.12776, p-value = 0.004029
```

P-valor **0.004029**

Conclusión A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de cefotaxima en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de aztreonam en cada punto de muestreo.

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA10$`HALO.(cm)` by dataA10$PUNTO
Kruskal-wallis chi-squared = 46.308, df = 4, p-value = 2.124e-09
```

P-valor **2.124*e⁻⁰⁹**

Conclusión A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de cefotaxima cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de cefotaxima de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

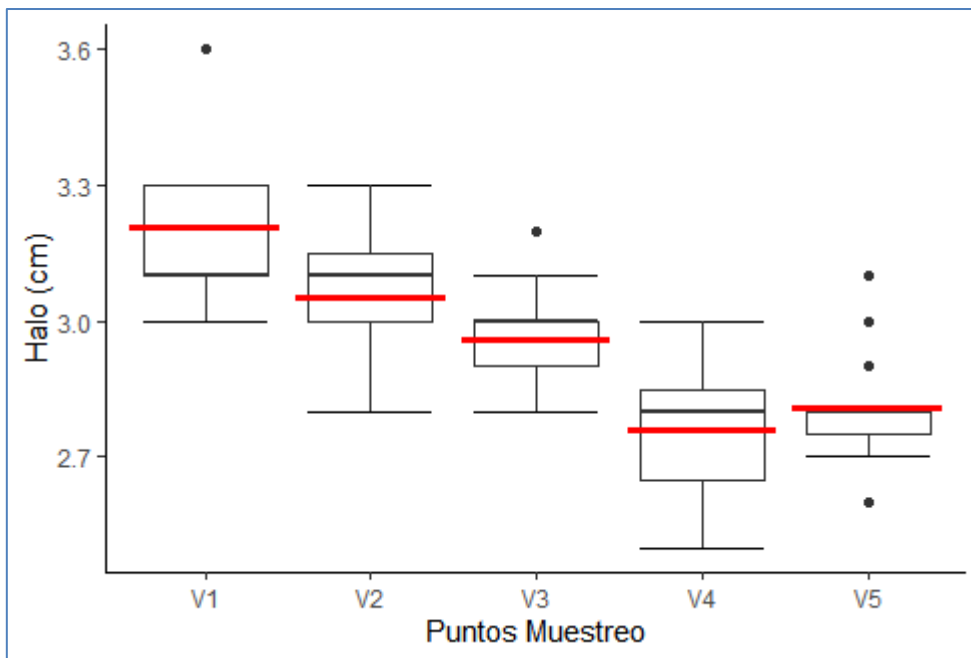
Nivel de significación: 0.05

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA10$`HALO.(cm)` by dataA10$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0  -3.454 0.11629490
V3 - V1 == 0  -6.469 0.00019118 ***
V4 - V1 == 0 -12.708 < 2.22e-16 ***
V5 - V1 == 0 -11.764 < 2.22e-16 ***
V3 - V2 == 0  -3.015 0.21844235
V4 - V2 == 0  -9.254 8.3006e-08 ***
V5 - V2 == 0  -8.310 1.2744e-06 ***
V4 - V3 == 0  -6.240 0.00034189 ***
V5 - V3 == 0  -5.295 0.00328648 **
V5 - V4 == 0   0.945 0.96262276
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Agrupamientos obtenidos:

```
Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test
data: dataA10$`HALO.(cm)` by dataA10$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05
  median  Q25  Q75  n Sig. group
V1     3.1  3.10  3.30 15         a
V2     3.1  3.00  3.15 15        ab
V3     3.0  2.90  3.00 15         b
V4     2.8  2.65  2.85 15         c
V5     2.8  2.75  2.80 15         c
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico cefotaxima (CTX), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 11: ceftazidima

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnof. Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnof para la variable “diámetro de halo de inhibición de ceftazidima”

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de ceftazidima se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de ceftazidima no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA11$`HALO.(cm)`
D = 0.20682, p-value = 1.761e-08
```

P-valor **1.761e08**

Conclusión A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de ceftazidima en cada punto de muestreo.

H1: Existen diferencias significativas entre los diámetros de halo de ceftazidima cada punto de muestreo.

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA11$`HALO.(cm)` by dataA11$PUNTO
Kruskal-wallis chi-squared = 43.546, df = 4, p-value = 7.971e-09
```

P-valor **7.971*e⁻⁰⁹**

Conclusión A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de ceftazidima cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de ceftazidima de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

Nivel de significación: 0.05

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: dataA11$`HALO.(cm)` by dataA11$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value  Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0  -3.910 0.05458247 .
V3 - V1 == 0  -6.698 0.00010549 ***
V4 - V1 == 0 -11.198 1.9661e-10 ***
V5 - V1 == 0 -11.916 < 2.22e-16 ***
V3 - V2 == 0  -2.788 0.29065099
V4 - V2 == 0  -7.287 2.1984e-05 ***
V5 - V2 == 0  -8.005 3.0210e-06 ***
V4 - V3 == 0  -4.499 0.01801140 *
V5 - V3 == 0  -5.217 0.00391859 **
V5 - V4 == 0  -0.718 0.98636710
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
    
```

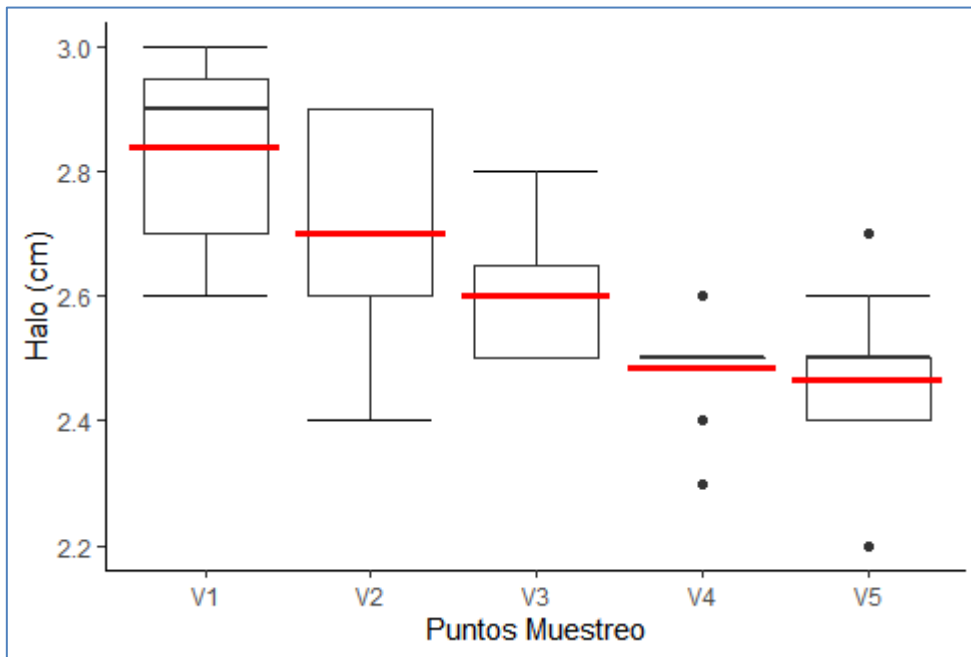
```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: dataA11$`HALO.(cm)` by dataA11$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05

  median Q25  Q75  n Sig. group
V1    2.9 2.7 2.95 15          a
V2    2.7 2.6 2.90 15         ab
V3    2.6 2.5 2.65 15          b
V4    2.5 2.5 2.50 15          c
V5    2.5 2.4 2.50 15          c
    
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico ceftazidima (CAZ), de acuerdo al punto de muestreo.



- Antibiótico 12: amoxicilina ácido clavulánico

Prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnof para la variable “diámetro de halo de inhibición de cefotaxima”.

Ho: Los diámetros de halo de inhibición de amoxicilina ácido clavulánico se distribuyen normalmente.

H1: Los diámetros de halo de inhibición de amoxicilina ácido clavulánico no se distribuyen normalmente.

Nivel de significación: 0.05

```
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test
data: dataA12$`HALO.(cm)`
D = 0.13807, p-value = 0.001186
```

P-valor	0.001186
----------------	-----------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho). Se acepta la hipótesis alterna
-------------------	---

Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de cefotaxima cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5.

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de cefotaxima de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

```
Kruskal-wallis rank sum test
data: dataA12$`HALO.(cm)` by dataA12$PUNTO
Kruskal-wallis chi-squared = 43.14, df = 4, p-value = 9.68e-09
```

P-valor	9.68*e(-09)
----------------	--------------------

Conclusión	A un nivel de confianza de 5%, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (Ho) y aceptar la hipótesis alterna (H1).
-------------------	--

Comparaciones en pares mediante la prueba de Conover

Ho: No existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de ceftazidima cada uno de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5. $Me_1=Me_2=Me_3=Me_4=Me_5$

H1: Existen diferencias significativas entre las medianas de los diámetros de halo de ceftazidima de los puntos 1, 2, 3, 4 y 5

Nivel de significación: 0.05

```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: dataA12$`HALO.(cm)` by dataA12$PUNTO
P value adjustment method: single-step
H0
      q value   Pr(>|q|)
V2 - V1 == 0  -1.007  0.9530380
V3 - V1 == 0  -2.338  0.4691436
V4 - V1 == 0  -8.067  2.5375e-06 ***
V5 - V1 == 0 -11.430  6.7237e-11 ***
V3 - V2 == 0  -1.331  0.8797888
V4 - V2 == 0  -7.060  4.0597e-05 ***
V5 - V2 == 0 -10.423  2.5533e-09 ***
V4 - V3 == 0  -5.729  0.0011971 **
V5 - V3 == 0  -9.092  1.3342e-07 ***
V5 - V4 == 0  -3.363  0.1334616
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
    
```

Agrupamiento obtenidos:

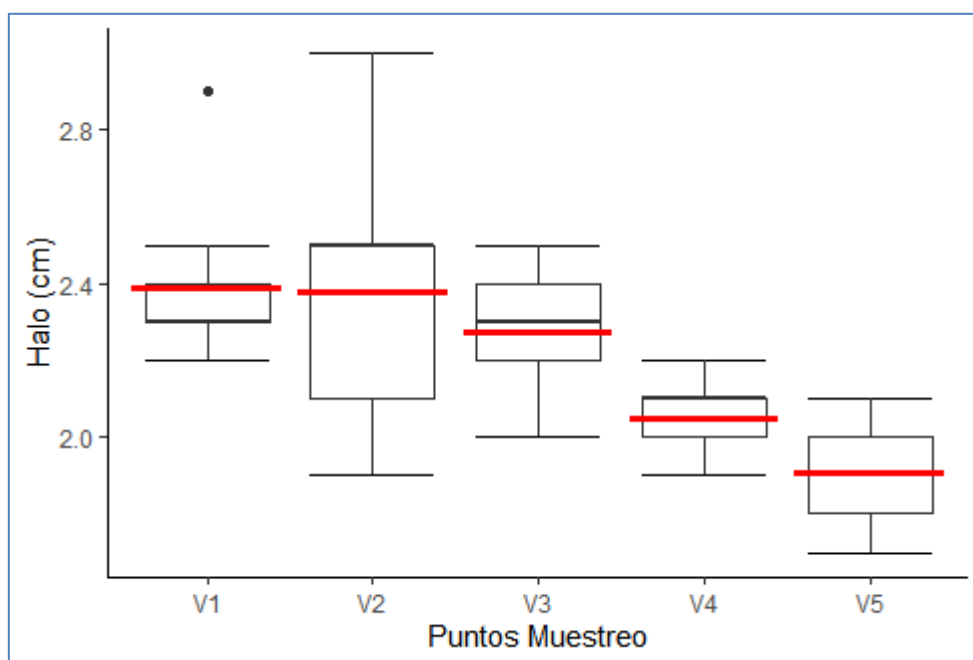
```

Pairwise comparisons using Conover's all-pairs test

data: dataA12$`HALO.(cm)` by dataA12$PUNTO
P value adjustment method: single-step
Different letters indicate significant differences Pr(>|q|) < 0.05

  median Q25 Q75  n Sig. group
V1    2.3  2.3  2.4 15         a
V2    2.5  2.1  2.5 15         a
V3    2.3  2.2  2.4 15         a
V4    2.1  2.0  2.1 15         b
V5    1.9  1.8  2.0 15         b
    
```

Diagrama de cajas de halos de inhibición del antibiótico amoxicilina, ácido clavulánico (AMZ), de acuerdo al punto de muestreo.



Anexo 8: Evidencia fotográfica de las actividades realizadas durante el desarrollo experimental del trabajo de tesis



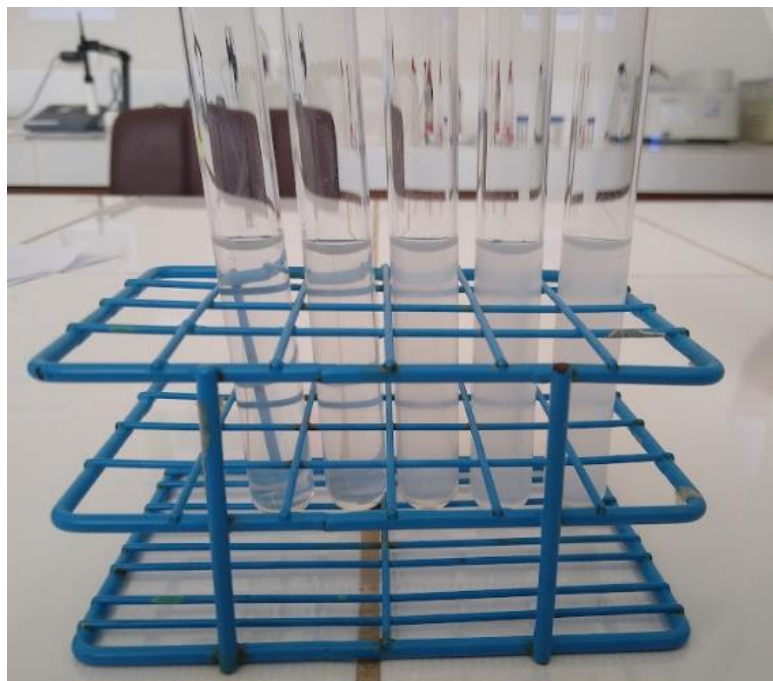
Nota: Muestreo de agua superficial del río Ventilla.



Nota: Preparación de medios de cultivo para la identificación bioquímica de *E. coli*.



Nota: Placas con agar Mueller Hinton para la evaluación de difusión en disco.



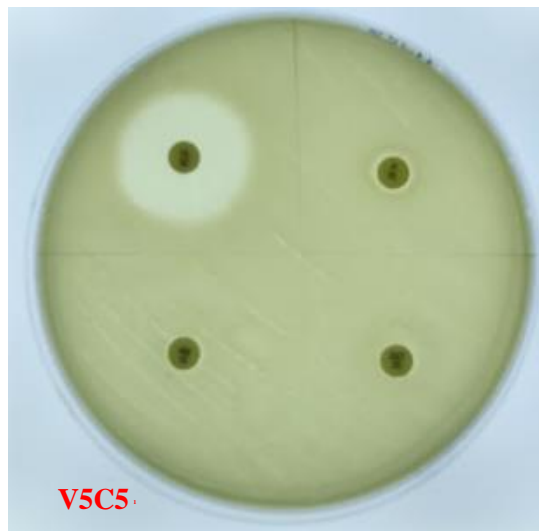
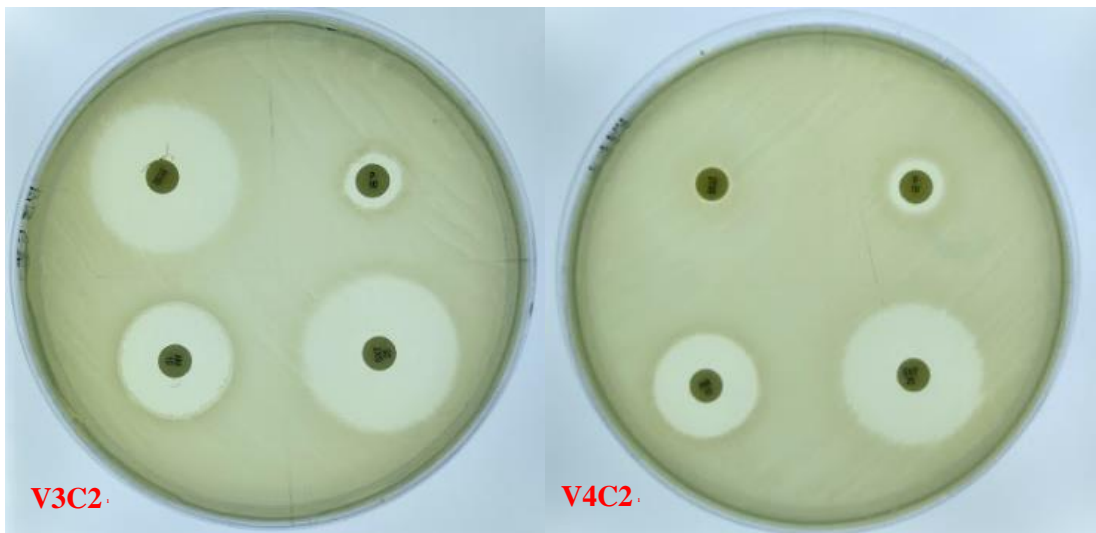
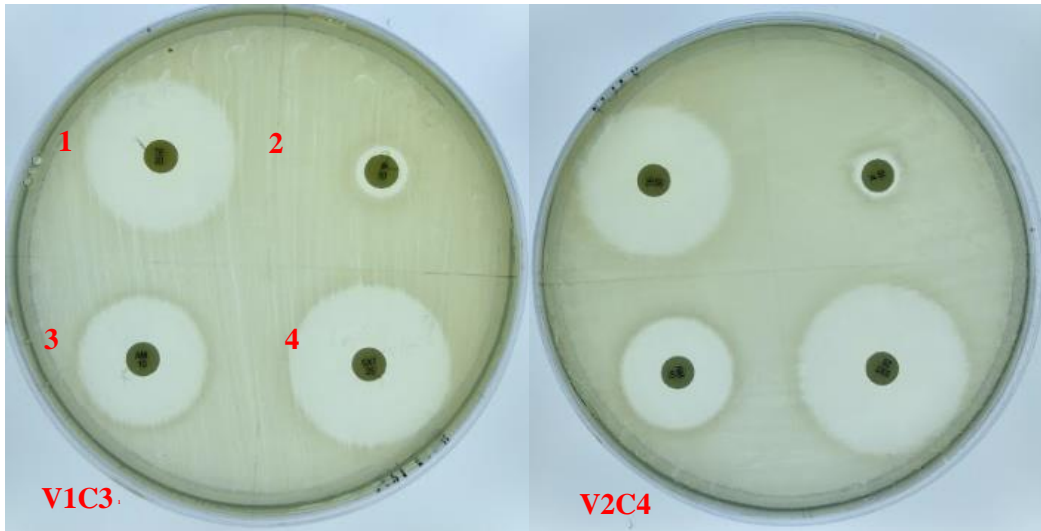
Nota: Estándares de MacFarland para la preparación del inóculo de las placas con agar Mueller Hinton



Nota: Inserción de los discos de antibióticos en placas con Agar Mueller Hinton inoculadas con *E. coli*



Nota: Medición de halos de inhibición antibiótica



Nota: Diámetros de halo de inhibición antibiótica en cinco aislados de *E. coli* frente a los antibióticos tetraciclina (1), penicilina (2), ampicilina (3) y Sulfametoprim trimetoprima (4).