

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRÍCOLA**



**ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE DOS  
ESTEROS UBICADOS EN LA COMUNA DE PEMUCO (REGIÓN DE  
ÑUBLE): ESTERO PEMUCO Y ESTERO DOLLINCO.**

**YHOELY CATHARINA FARIÑA MARTÍNEZ**

HABILITACIÓN PROFESIONAL  
PRESENTADA A LA FACULTAD DE  
INGENIERÍA AGRÍCOLA DE LA  
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN,  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
INGENIERO AMBIENTAL.

**CHILLÁN-CHILE**

**2022**

**ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE DOS  
ESTEROS UBICADOS EN LA COMUNA DE PEMUCO (REGIÓN DE  
ÑUBLE): ESTERO PEMUCO Y ESTERO DOLLINCO.**

Aprobado por:

Pedro Aqueveque Muñoz  
Profesor de Biología. Dr.  
Profesor Asociado

---

Profesor Guía

José Luis Arumí Ribera  
Ingeniero Civil, Ph. D.  
Profesor Titular

---

Profesor Asesor

Natalia Valderrama Valdés  
Ingeniero Civil en Industrias Forestales, Mg.  
Profesor Asociado

---

Profesor Asesor

Christian Folch Cano  
Prof. de Química y Ciencias Naturales, Dr.  
Profesor Asociado

---

Director de Departamento

María Eugenia González Rodríguez  
Ingeniero Agrónomo, Ph. D.  
Profesor Asociado

---

Decana

## **DEDICATORIA**

Dedicada a las tres mujeres de mi vida, mis dos madres y mi hermana, ustedes me han regalado las mayores enseñanzas a lo largo de mi existencia, son y serán por siempre los pilares más importantes que me formaron como persona. Las amo mucho.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a una persona que ha sido durante más de diez años un incondicional en mi vida, me has escuchado en mi felicidad y sobre todo en mis tristezas, bien sabes las muchas veces que encontré injusta esta vida y siempre estuviste para levantarme. Esta memoria no hubiese sido posible sin tu compañía en la búsqueda de muestras mensuales en medio del bosque, eternamente agradecida mi Claudio Millar. Agradecer a mi compañera y amiga Karla Burgos, nunca olvidare las noches de estudio en nuestros primeros años de carrera y sobre todo los carretes juntas, siempre cuidándonos una a la otra. Agradecer a mi partner de estudio Karla Ramírez, bien sabe lo que sufrimos durante las clases online, pero siempre hicimos un gran equipo para enfrentar la modalidad en ese entonces. También quiero agradecer por su orientación en mi última etapa universitaria a mis profesores guías, Pedro Aqueveque junto con José Luis Arumí, además de Irma Sepúlveda y Héctor Valenzuela por su compañía y ayuda en el laboratorio de microbiología.

Finalmente agradecer al Centro CRHIAM (Proyecto ANID/FONDAP/15130015) por otorgarme la beca de pregrado que me permitió financiar los viajes de esta investigación.

**ÍNDICE DE MATERIAS**

	Página
RESUMEN.....	1
SUMMARY .....	2
1. INTRODUCCIÓN .....	3
2. HIPÓTESIS.....	15
3. OBJETIVOS.....	15
3.1.Objetivo general .....	15
3.2.Objetivos específicos.....	15
4. METODOLOGÍA .....	16
4.1.Recolección e identificación de muestras.....	16
4.2.Análisis microbiológico .....	17
4.2.1.Siembra en medio Lauril Sulfato Triptosa (LST).....	17
4.2.2.Siembra en medio Bilis Verde Brillante (BVB) .....	18
4.2.3. Siembra medio EC (EC).....	18
4.2.4. Siembra medio Agar Levine .....	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	20
6. CONCLUSIONES .....	24
7. LITERATURA CITADA .....	25
8. ANEXOS.....	29

## ÍNDICE DE TABLAS

En el texto	Página
Tabla 1. Genero de enfermedades infecciosas más comunes ocasionadas por bacterias, virus y protozoos.....	5
Tabla 2. Clasificación de las cepas dañinas pertenecientes al grupo de las bacterias <i>E. coli</i> .....	9
Tabla 3. Medios de cultivo utilizados para la detección y recuento de microorganismos denominados como coliformes en agua.....	10
Tabla 4. Parámetros establecidos en la Norma Chilena 1333, respecto a los requisitos de la calidad microbiológica del agua para diferentes usos.....	12
Tabla 5. Precipitaciones acumuladas en la estación Las Cruces para el análisis de la calidad microbiológica del agua del Estero Pemuco y Dollinco, región de Ñuble, Chile. .....	14
Tabla 6. Puntos de control establecidos en el estero Pemuco y Dollinco, Región de Ñuble, Chile. ....	16
Tabla 7. Siembra en caldo Lauril Sulfato Triptosa para el recuento de coliformes totales .....	18
En el Anexo	
Tabla A1. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y <i>E. coli</i> (EC y Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 11/04/2022.....	29

Tabla A2. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y <i>E. coli</i> (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 08/05/2022.....	30
Tabla A3. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y <i>E. coli</i> (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 31/05/2022.....	31
Tabla A4. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y <i>E. coli</i> (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 05/06/2022.....	32
Tabla A5. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y <i>E. coli</i> (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 09/08/2022.....	33
Tabla A6. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y <i>E. coli</i> (Agar Levine) en los tres puntos de control del estero Pemuco (A), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 28/11/2021, con ausencia de precipitaciones.....	34

**ÍNDICE DE FIGURAS**

En el texto	Página
Figura 1. Subdivisión del grupo de especies denominado como coliformes para el análisis microbiológico del agua. ....	7
Figura 2. Monitoreo de los puntos de control del estero Pemuco y Dollinco, Región de Ñuble, Chile. ....	17

**ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE DOS  
ESTEROS UBICADOS EN LA COMUNA DE PEMUCO (REGIÓN DE  
ÑUBLE): ESTERO PEMUCO Y ESTERO DOLLINCO.**

STUDY OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE WATERS OF TWO  
FLOWS LOCATED IN THE COMMUNE OF PEMUCO (REGION OF ÑUBLE):  
FLOW PEMUCO AND FLOW DOLLINCO.

**Palabras claves:** Coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*,  
precipitaciones.

**RESUMEN**

Se cuantificó y comparó la presencia de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en las aguas de dos esteros ubicados en la comuna de Pemuco, utilizando el método de la inoculación seriada en tubos y el recuento en placa. Por otro lado, se contrastó el efecto de las precipitaciones sobre la calidad microbiológica de las mismas. Al analizar los resultados se obtuvo que el estero Dollinco que pasa por la zona rural del pueblo contiene una menor carga microbiológica respecto al estero Pemuco que cruza por la zona urbana, con relación a los datos antes y después del primer periodo de lluvia se evidencia un aumento de la contaminación de los grupos de coliformes, posteriormente con su acumulación disminuye la carga de *E. coli*. Se determinó que el agua no es apta para uso agrícola y representa un riesgo para la salud de la población.

**STUDY OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE WATERS OF  
TWO FLOWS LOCATED IN THE COMMUNE OF PEMUCO (REGIÓN OF  
ÑUBLE): ESTUARY PEMUCO AND ESTUARY DOLLINCO.**

**Keywords:** Total coliforms, fecal coliforms, *Escherichia. coli*, rainfall.

**SUMMARY**

The presence of total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli* in the waters of two estuaries located in the commune of Pemuco was quantified and compared, using the method of serial inoculation in tubes and plate count. On the other hand, the effect of rainfall on their microbiological quality was contrasted. When analyzing the results, it was obtained that the Dollinco estuary that passes through the rural area of the town contains a lower microbiological load compared to the Pemuco estuary that crosses the urban area, in relation to the data before and after the first period of rain. increased contamination of groups of coliforms, later with their accumulation decreasing the load of *E. coli*. It will be prolonged that the water is not suitable for agricultural use and represents a risk to the health of the population.

## 1. INTRODUCCIÓN

El agua no solo constituye el elemento natural más importante del planeta tierra, sino el origen mismo de la vida (Guerrero, 2012). En la antigüedad, el acceso a agua dulce determinaba el asentamiento de una población, con su desarrollo se generaban desechos que deterioraban los ecosistemas y las fuentes de agua, desencadenando epidemias devastadoras a lo largo del tiempo. Recién a principios del siglo XIX se desarrollaron procesos para tratar este recurso tan vital, pero antes de practicar estos tratamientos se debía identificar los tipos de contaminantes (Marín *et al.*, 2018).

Actualmente, debido a la crisis climática el agua es un recurso limitado, su consumo ha ido en aumento a ritmos insostenibles en relación con su real disponibilidad, solo un 0,62% de agua superficial es idóneo para consumo humano, agrícola, minero e industrial, en donde su escasez afecta simultáneamente el ámbito productivo y económico de estos sectores (DGA, 2015). Por otro lado, la contaminación hídrica también afecta la disponibilidad del recurso, esto se define como la alteración física, química o biológica en la calidad del agua, de modo que no reúna las condiciones necesarias para el uso que se le destine, el origen de su alteración puede ser natural o antrópica, clasificándose las fuentes que lo provocan como, fuentes puntuales aquellas que descargan agentes contaminantes en lugares específicos, y como fuentes difusas las que no se pueden localizar llegando a los cuerpos de agua producto de la escorrentía (Guadarrama-Tejas *et al.*, 2016).

Dentro de los principales agentes que provocan la contaminación del agua son los microorganismos patógenos proveniente de desechos orgánicos e incluso heces humanas o de animales, entre ellos se encuentra el grupo de las bacterias, virus y protozoos causantes de variadas enfermedades infecciosas (García, 2009).

La mayoría de las bacterias patógenas son organismos procariontes unicelulares que tienen la capacidad de vivir dentro y fuera de nuestro organismo, esto depende de la disponibilidad de agua que contiene los macronutrientes (carbono (C), hidrogeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N)) y micronutrientes (cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), magnesio (Mn), níquel (Ni), molibdeno (Mo), cinc (Zn), entre otros) necesarios para su requerimiento nutricional, el cual, posteriormente les permitirá su reproducción por bipartición (Apella *et al.*, 2005). Los virus no se consideran seres vivos ya que solo están constituidos por proteínas y ácido nucleicos, a diferencia de las bacterias solo se puede reproducir dentro de las células de otro organismo (Robert, 2014). Finalmente, los protozoos son células eucariotas unicelulares, que habitan en medios húmedos o acuáticos y tienen la capacidad para desplazarse (Apella *et al.*, 2005).

Según la Organización Mundial de la Salud (2018), la gran mayoría de los problemas de salud relacionados de forma evidente con el agua se debe a la contaminación por microorganismos, se estima que en el mundo hay al menos 2.000 millones de personas que beben fuentes de agua contaminadas con

heces, provocando aproximadamente 485.000 muertes por diarrea cada año (OMS, 2022).

En la Tabla 1. se evidencia las principales enfermedades infecciosas ocasionada por estos grupos, en donde el análisis microbiológico es trascendental para la prevención de las enfermedades descritas (Romero, 1999).

Tabla 1. Género de enfermedades infecciosas más comunes ocasionadas por bacterias, virus y protozoos.

Grupo	Género	Efecto sobre la salud humana
Bacterias patógenas	<i>Campylobacter</i>	Diarrea, vómitos, escalofríos y fiebre.
	<i>E. coli</i>	Insuficiencia renal aguda.
	<i>Salmonella</i>	Gastroenteritis, bacteriemia, y fiebre tifoidea.
	<i>Shigella</i>	Enfermedades intestinales graves, como disentería bacilar.
Virus patógenos	Virus de la hepatitis A y B	Daño a las células hepáticas y el hígado.
	<i>Enterovirus</i>	Insuficiencia multiorgánica neonatal.
Protozoos patógenos	<i>Acanthamoeba</i>	Encefalitis multifocal, hemorrágica y necrosante.
	<i>Cryptosporidium</i>	Diarrea, náuseas, vómitos y fiebre.

Fuente: elaboración propia con información de OMS (2018).

Dentro de los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible, la mayoría se relacionan con la ODS número 6, puesto que garantiza la disponibilidad de agua, su gestión sostenible y el saneamiento para todos. Aún existen millones de personas que carecen de acceso a servicios básicos, al menos se estima que 892 millones de ellas no cuentan con acceso a un baño con sistemas de recolección de residuos, teniendo que realizar prácticas insalubres como defecar al aire libre, por otra parte, más del 80% de las aguas residuales domésticas se vierten en diferentes cuerpos de agua sin ningún tratamiento previo (Naciones Unidas, 2015).

Los estándares de la calidad del agua potable son parámetros establecidos por la legislación interna de cada país, teniendo la finalidad de instaurar un monitoreo y control de los niveles de contaminación en el agua de consumo. La mayoría de los países de América basa sus estándares en la guía internacional para la calidad del agua potable que es publicada por la Organización Mundial de la Salud y renovada a medida que se adquieran nuevos conocimientos, en parte este documento describe los organismos y sustancias indicadoras de contaminación (IANAS, 2019).

Dentro de los principales organismos utilizados como indicadores de contaminación fecal, se encuentra un grupo de especies de bacterias denominado como coliformes, este grupo se subdivide como se presenta en la Figura 1 (OMS, 2018).

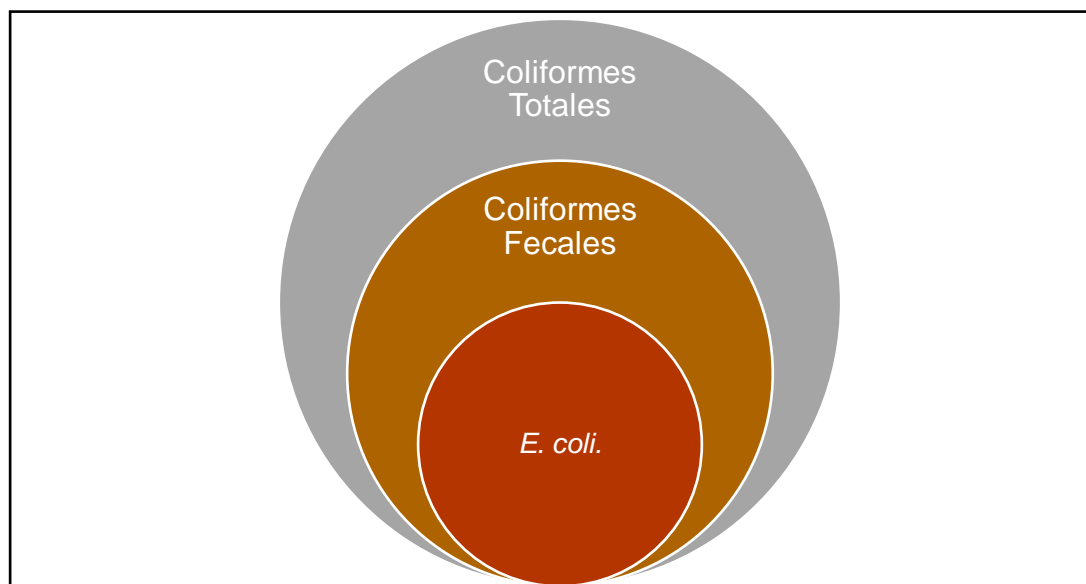


Figura 1. Subdivisión del grupo de especies denominado como coliformes para el análisis microbiológico del agua. Elaboración propia con información de Robert (2014).

### **Coliformes totales**

El grupo “incluye una amplia variedad de bacilos aerobios y anaerobios facultativos, gramnegativos y no esporulados capaces de crecer en presencia de concentraciones relativamente altas de sales biliares que fermentan la lactosa y producen ácido o aldehído” (OMS, 2018). Su valor como indicador no es muy eficiente, ya que este grupo incluye microorganismos que pueden sobrevivir y reproducirse en el agua, es utilizado comúnmente para evaluar los sistemas de desinfección (Robert, 2014).

### **Coliformes fecales**

También son denominados como coliformes termotolerantes, su origen es únicamente fecal y son capaces de fermentar lactosa con producción de ácido

y gas, en este grupo predomina la bacteria *Escherichia* y en menor grado las especies de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* (Robert, 2014). Se considera un indicador de contaminación aceptable pero menos confiable que el subgrupo de *E. coli* (OMS, 2018).

### ***E. coli***

Tienen la capacidad de producir indol a partir de triptófano, presentando actividades en las enzimas  $\beta$ -galactosidasa y  $\beta$ -glucoronidasa. Este subgrupo se considera como los indicadores idóneos para la verificación de la calidad del agua de consumo, puesto que su presencia confirma una contaminación fecal reciente. Las cepas patógenas se muestran en la Tabla 2, el cual poseen características diferentes de virulencia y a mayores concentraciones pueden desencadenar brotes de enfermedades (Robert, 2014).

Un estudio realizado en la cuenca alta de la Sabana de Bogotá, Colombia; detecto la presencia de bacterias patógenas en las aguas de riego, los análisis determinaron contaminación fecal en el 41,7% de las muestras, en donde porcentaje de *E. coli* hallado y el recuento de coliformes totales indican que el agua analizada no es apta para el uso agrícola y tras su consumo es riesgosa para la salud de las personas (Corrales, 2014).

Las distintas variedades de bacterias no solo se distinguen por las apariencias observadas bajo el microscopio, sino también por las condiciones en que prosperan y se reproducen y las sustancias químicas que emanan o consumen (Deming, 1979). Los análisis para su detección no implican la búsqueda directa

de gérmenes patógenos, puesto que los ensayos se basan en el supuesto de que todas las aguas se encuentran contaminadas, en donde la exactitud de las pruebas varía respecto al tipo de análisis, el medio de cultivo, las condiciones de incubación, la naturaleza de la muestra y el tiempo transcurrido desde que es recolectada (Romero, 1999).

Tabla 2. Clasificación de las cepas dañinas pertenecientes al grupo de las bacterias *E. coli*.

Cepas de <i>E. coli</i>	Modo de transmisión	Enfermedad
Enterotoxigénica	Ingestión de alimentos o agua contaminada	Diarrea sin fiebre
Enteropatógeno	Ingestión de alimentos, agua contaminada y contacto humano	Disentería
Enterohemorrágico	Ingestión de alimentos, agua contaminada y contacto humano	Disentería, daños a los riñones, síndrome urémico hemolítico fatal. Esta cepa es la causante de epidemias en todo el mundo, en donde <i>E. coli</i> O157:H7 es la cepa más conocida
Enteroinvasivo	Ingestión de alimentos o agua contaminada	disentería y fiebre

Fuente: Rock y Rivera (2014).

Dentro de las técnicas de análisis utilizadas se encuentra el recuento en placa y la inoculación de tubos múltiples, ambos son método cuantitativo que estiman el número más probable de concentración de bacterias presentes en el agua, este último mediante la inoculación de una serie de tubos en concentraciones decimales decrecientes de una muestra, diferenciando los grupos de coliformes por medio del cultivo a utilizar que se presenta en la Tabla 3. Se determina su presencia con la producción de sedimentos y gases debido a la fermentación de lactosa. Respecto a la técnica de recuento en placa se comprueba la presencia específica de las cepas de *E. coli* por presentar un color característico verde brillante metálico (Instituto Nacional de Normalización, 1984).

Tabla 3. Medios de cultivo utilizados para la detección y recuento de microorganismos denominados como coliformes en agua.

Medio de cultivo	Tipo de ensayo	Diagnostico
Lauril Sulfato Triptosa	Presuntivo	Coliformes totales
Bilis Verde Brillante	Confirmativo	Coliformes Fecales
EC	Confirmativo	Coliformes Fecales y <i>E. coli</i> .
Agar Levine	Confirmativo	<i>E. coli</i> .

Fuente: Elaboración propia con información del Instituto Nacional de Normalización (1984) y Romero (1999).

El número más probable de coliformes en una muestra de agua se considera como la densidad más posible de producir un resultado en particular de microorganismos, la lectura de este análisis en Chile se realiza en base a la Norma Chilena 1620/1 (Romero, 1999).

La cantidad, intensidad y duración de las precipitaciones influyen en el transporte de los contaminantes mediante el desprendimiento de partículas de sedimento. Las lluvias pueden aumentar la contaminación microbiana en fuentes de agua superficiales y subterráneas, siendo frecuentes los brotes de enfermedades después de estos periodos (Sanhueza, 2012).

Se analizaron los efectos de las precipitaciones en la calidad de las aguas de la bahía de Cienfuegos, Cuba; el análisis espacial comparo datos de periodos lluviosos respecto a otros más secos, reflejando que la influencia fluvial empeoro la calidad de las aguas del sector (Seisdedo *et al.*, 2005).

La Norma Chilena 409, especifica los parámetros que debe cumplir el agua potable en Chile, determinando que todas las muestras que se analicen mensualmente en un servicio de agua potable deben estar exentas de *E. coli*. Para la verificación de este requisito, en las muestras que haya detectado la presencia de coliformes totales en que su máximo permisible es de 5 microorganismos/100 mL, se debe confirmar adicionalmente la ausencia de las cepas de *E. coli* (Instituto Nacional de Normalización, 2005). En cambio, los requisitos de la calidad del agua para otros usos se encuentran regulado por la Norma Chilena 1333, estableciendo los parámetros físicos, químicos y

microbiológicos para las diferentes actividades, este último se exhiben en la Tabla 4 (Instituto Nacional de Normalización, 1978).

Tabla 4. Parámetros establecidos en la Norma Chilena 1333, respecto a los requisitos de la calidad microbiológica del agua para diferentes usos.

Usos	Parámetros microbiológicos
Agua para consumo humano	Debe cumplir con la norma NCh409
Agua para bebida de animales	Debe cumplir con la norma NCh409
Riego	El contenido de coliformes fecales en el agua de riego utilizada en cultivos que se desarrollen a ras de suelo y que se consumen en estado crudo, debe ser menor o igual a 1000 coliformes fecales/100mL
Estética	Debe estar exenta de cualquier materia que produzca reacciones fisiológicas o que produzcan vida acuática indeseable.
Recreación con contacto directo	Las actividades como natación, buceo, esquí acuático, etc. Debe cumplir como máximo la presencia de 1000 coliformes fecales/ 100mL.
Recreación sin contacto directo	No especifica parámetros bacteriológicos
Vida acuática	No especifica parámetros bacteriológicos

Fuente: Elaboración propia con información del Instituto Nacional de Normalización (1978).

En Chile, se examinó la calidad microbiológica del agua de un predio agrícola-ganadero en la provincia de Valdivia y su posible impacto en la salud humana, las muestras de agua superficiales y pozos del sector demostraron que el número más probable de coliformes totales y *E. coli* sobrepasaron la norma chilena de calidad del agua para consumo humano (Valenzuela *et al.*, 2012). Por otro lado, otro estudio realizado en tres lagos urbanos de la ciudad de Concepción también indicó la alta presencia de coliformes totales y fecales (Almanza-Marroquín *et al.*, 2016). Ambos resultados demuestran la necesidad de regular el impacto ambiental en la contaminación microbiológica de nuestras fuentes de agua, partiendo por monitorear el agua destinada a sus diferentes usos para cumplir con los estándares mínimos de protección de la salud.

Las áreas de estudio del presente informe son dos esteros superficiales que en su curso atraviesan la comuna de Pemuco, pueblo ubicado en la región de Ñuble distante a 44,27 kilómetros al sur de Chillán (Ilustre Municipalidad de Pemuco, 2022). El primero de ellos se denomina Estero Pemuco que nace en la precordillera de la región pasando por la zona urbana del pueblo, mientras que el segundo estero denominado Dollinco cursa por la zona rural, ambas fuentes de agua son utilizadas principalmente para el consumo por parte de animales de ganado o criadero y el riego de cultivos. Con esta investigación se pretende cuantificar la calidad microbiológica de coliformes totales, fecales y *E. coli*, demostrando que presenta variabilidad posteriormente a producirse

condiciones de lluvia, las precipitaciones acumuladas a la fecha en que se recolectaron las muestras se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Precipitaciones acumuladas en la estación Las Cruces para el análisis de la calidad microbiológica del agua del Estero Pemuco y Dollinco, región de Ñuble, Chile.

Fechas de muestreo	Precipitación acumulada (mm)
11-04-2022	70.900
08-05-2022	406.600
31-05-2022	546.200
05-06-2022	658.200
10-08-2022	1.320.800

Fuente: Elaboración propia con datos de la estación meteorológica Las Cruces (Identificador: 08124004-3) perteneciente a la Dirección General de Aguas (2022).

## **2. HIPÓTESIS**

La calidad microbiológica de las aguas superficiales del estero Pemuco y Dollinco, se ve afectada por la presencia de la zona urbana del pueblo de Pemuco, esta calidad microbiológica mejora posteriormente a los periodos de lluvia.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivo general**

Conocer la calidad microbiológica de las aguas de los esteros Pemuco y Dollinco (Comuna de Pemuco) durante el primer semestre del año 2022.

### **3.2. Objetivos específicos**

- Cuantificar la presencia/ausencia de coliformes totales y fecales en las aguas de ambos esteros durante el primer semestre del año 2022, a través del monitoreo de seis puntos de control.
- Cuantificar la presencia/ausencia de *E. coli* en las aguas de ambos esteros durante el primer semestre del año 2022, mediante el monitoreo de seis puntos de control.
- Medir y comparar la calidad microbiológica del agua de ambos esteros, antes y después de periodos de lluvia.
- Verificar los requisitos de calidad de agua de acuerdo con su uso.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. Recolección e identificación de muestras

Las muestras se recolectaron desde seis puntos distantes, a la misma altura y en contracorriente del estero Pemuco y Dollinco, como se aprecia en la Figura 2. Se recogieron en bolsas estériles y fueron rotuladas en base al lugar de muestreo que se identifican en la Tabla 6. Las muestras se transportaron en una hielera con bolsas refrigerantes al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ingeniería Agrícola de la Universidad de Concepción.

Tabla 6. Puntos de control establecidos en el estero Pemuco y Dollinco, Región de Ñuble, Chile.

N° Punto	Nombre del estero	Punto de control	Coordenadas	
			UTM	UTM
			Norte	Este
1	Pemuco	A1	5902761.00	759104.00
2	Pemuco	A2	5903370.00	757925.00
3	Pemuco	A3	5904621.00	757136.00
4	Dollinco	B1	5904006.36	760606.74
5	Dollinco	B2	5904487.91	759394.29
6	Dollinco	B3	5905838.04	758115.06

Fuente: Elaboración propia

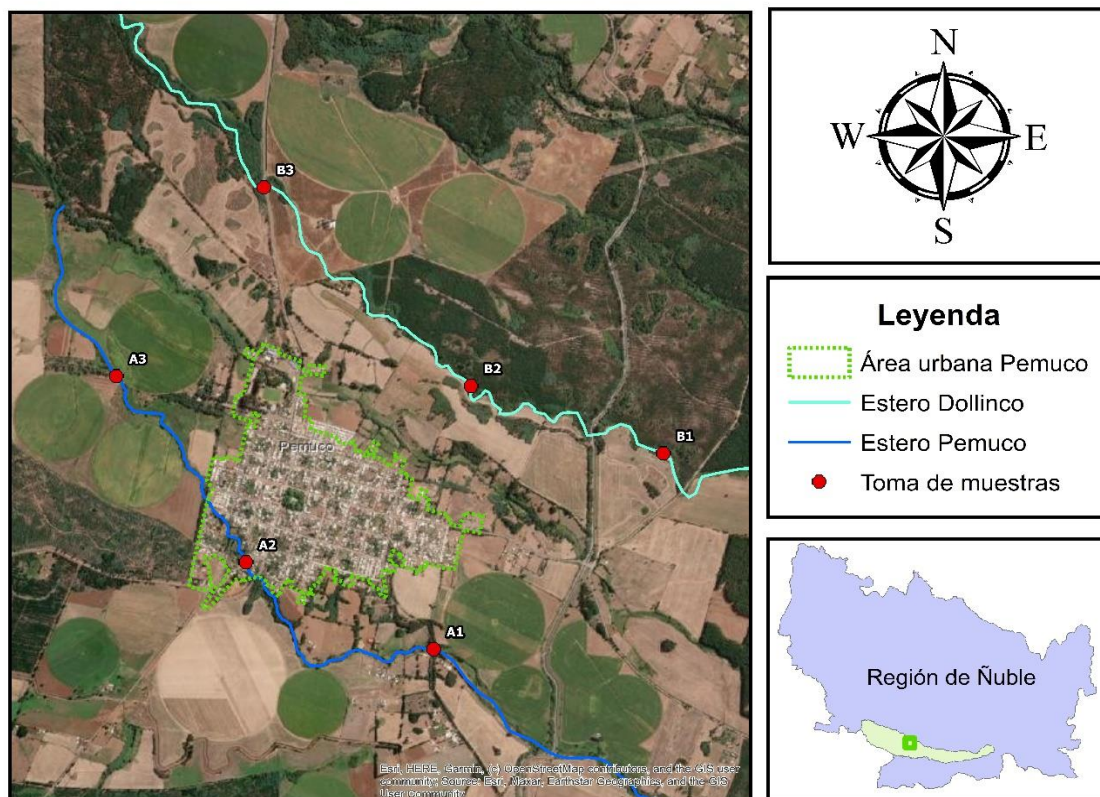


Figura 2. Monitoreo de los puntos de control del estero Pemuco y Dollinco, Región de Ñuble, Chile.

## 4.2. Análisis microbiológico

Se sembraron series de tres tubos con 10, 1 y 0,1 mL para las seis muestras de agua. Los medios de análisis se prepararon previamente a la manipulación de las muestras en el laboratorio trabajando bajo campana de flujo laminar para evitar la contaminación cruzada de las muestras.

### 4.2.1. Siembra en medio Lauril Sulfato Triptosa (LST)

El medio se preparó con 23,14 g de LST en 650 mL de agua purificada para la concentración simple, por otro lado, se preparó 24,9 g de LST en 350 mL de

agua purificada para la concentración doble, de estas soluciones se depositaron 10 mL en tubos de ensayos con campanas Durham y se esterilizo en la autoclave durante 15 minutos a 121°C y 1 atmosfera. Se procedió a añadir las muestras al caldo LST como se presenta en la Tabla 7. Una vez sembrado se llevó a una incubadora durante 48 horas a 37°C.

Tabla 7. Siembra en caldo Lauril Sulfato Triptosa para el recuento de coliformes totales

Número de tubos	Volumen de la muestra	Volumen de Medio	Concentración del medio
5	10 mL	10 mL	Doble
5	1 mL	10 mL	Simple
5	0,1 mL	10 mL	Simple

Fuente: Elaboración propia.

#### **4.2.2. Siembra en medio Bilis Verde Brillante (BVB)**

Se preparó el medio con 40 g de BVB en 1000 mL de agua purificada, de esta solución se depositó 10 mL en tubos de ensayos con campanas Durham y se esterilizó en la autoclave durante 15 minutos a 121°C y 1 atmosfera. Se procedió a añadir las muestras obtenidas en el caldo LST con un asa bacteriológica, dejando encubar en la estufa durante 48 horas a 37°C.

#### **4.2.3. Siembra medio EC (EC)**

Se preparó el medio con 37 g de EC en 1000 mL de agua purificada, de esta solución se depositó 10 mL en tubos de ensayos con campanas Durham y se

esterilizó en la autoclave durante 15 minutos a 121°C y 1 atmosfera. Se procedió a añadir las muestras que se obtuvieron en el caldo LST con un asa bacteriológica, dejando incubar en el baño termostático durante 24 horas a 44,5°C.

#### **4.2.4. Siembra medio Agar Levine**

Se disolvió la sustancia de Agar Levine en agua purificada tibia y se esterilizó en la autoclave durante 15 minutos a 121°C y 1 atmosfera. Se añadió la sustancia en Placas Petri evitando formar flóculos y dejando solidificar por unos minutos. Posteriormente se añadió con un asa bacteriológica y en forma de líneas curvas las muestras positivas que se obtuvieron en el caldo EC. Finalmente se dejó incubar en la estufa durante 24 horas a 37°C.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cuantificación de los grupos de microorganismos estudiados en los diferentes periodos de tiempo se aprecia en sección de anexos, Tablas A1, A2, A3, A4 y A5. Al comparar la calidad microbiológica entre el estero Pemuco (EP) y el estero Dollinco (ED), se identifica que los valores de coliformes totales (Ct) y coliformes fecales (Cf) son evidentemente mayores en las estaciones A1, A2 y A3 (>1600/100 mL), respecto a la carga bacteriológica de *E. coli* en la mayoría de los análisis también supera el EP al ED, en donde el máximo valor se produce con las primeras precipitaciones en la estación que pertenece a la salida del pueblo (A3) con un valor >1600/100 mL (Tabla A2). En el trayecto estudiado del EP hay diversos hogares que realizan prácticas agrícolas como poseer cultivos al exterior, invernaderos y animales de criadero. Desde un punto de vista epidemiológico los abonos no estabilizados (estiércol de oveja) y la mantención de animales hacinados cercanos a los cuerpos de agua produce un amplio rango de microorganismos patógenos, mientras que los fertilizantes químicos para mejorar el rendimiento de los cultivos aportan nutrientes que alteran la dinámica poblacional, situación que también depende de otros factores como el pH y la temperatura (Apella *et al.*, 2005). Respecto al estero Dollinco, al ser un estero que pasa por la zona rural se encuentra mucho menos expuesto a actividades antrópicas, la mayor superficie que abarca el recorrido estudiado está destinado principalmente a cultivos estacionales (maíz, avena, trigo, avellana y canola), praderas para alimentación del ganado y monocultivo forestal, en que las estaciones B1, B2

y B3 contienen una calidad microbiológica considerablemente más baja. Estos datos indican que la contaminación del EP está relacionada directamente con la zona urbana del pueblo, en que la concentración de coliformes totales y *E. coli* no cumple con la NCh 1333 para el consumo de agua de animales y riego, creciendo la posibilidad de contraer enfermedades como la pandemia del cólera vivida 1992 en Chile, relacionada con el riego de hortalizas utilizando aguas servidas, experiencia que cambió radicalmente el género de las enfermedades gastrointestinales y la necesidad de tratar adecuadamente las aguas de acuerdo a su uso (Pontifica Universidad Católica de Chile, 2020).

Al hacer un análisis de la calidad microbiológica con respecto a la acumulación de precipitaciones en el tiempo, podemos ver que los primeros datos obtenidos (Tabla A1) contienen menor carga de Ct, Cf y *E. coli*, comparado con los análisis del segundo periodo (Tabla A2) que contiene los valores más elevados de contaminación microbiológica de ambos esteros, debido que a la fecha acontecieron las primeras lluvias intensas con una acumulación de 406.600 mm, este patrón se asemeja en el mismo lineamiento al análisis realizado del EP en noviembre del 2021 (Tabla A6), el cual se obtuvo una carga microbiológica menor respecto al primer muestreo de la presente investigación que acumulo una precipitación de 70.900 mm (Tabla A1).

En los dos periodos posteriores (Tabla A3 y A4) se observa una mantención de los elevados valores de Ct (>1600/100 mL) y un aumento hasta su interpretación máxima de Cf (>1600/100 mL), por otro lado, la carga de *E. coli*

disminuye considerablemente obteniendo su mínimo valor en la estación A2 correspondiente a 2/100 mL y en estación B1 de 4,5/100 mL (Tabla A4). Al analizar el último periodo climático (Tabla A5) en que hubo una acumulación de lluvia de 1.320.800 mm el ED obtuvo la menor carga de *E. coli* comparado a todos los otros análisis, el cual presenta ausencia de este patógeno en la estación B3, en cambio el EP mantuvo sus valores. Estos datos demuestran que con las primeras precipitaciones aumenta la contaminación microbiológica de ambos esteros producto de la escorrentía superficial que arrastra todo tipo de contaminantes bacteriológicos que se encuentran aledaños al estero, dependiendo de factores como la estructura del suelo, los flujos de agua y la sobrevivencia de la bacteria por la concentración de nutrientes, lo cual provoca algunas variaciones de Cf y *E.coli* en las estaciones A1-B1 y A2-B2(Tabla A2, A3 y A4).

El EP se mantiene mucho más alterado ya que con las altas precipitaciones de la temporada de invierno hace que el sistema de alcantarillado del pueblo colapse, sobresaliendo y escurriendo los desechos sin tratamiento previo hasta la fuente de agua. Después de las altas acumulaciones de lluvia estos valores disminuyen significativa y únicamente en la presencia de *E. coli*, debiéndose a que los contaminantes fecales colindantes al estero ya fueron desplazados.

Se podría establecer algunas alternativas de mitigación mediante las asociaciones de canalistas o juntas de vigilancia, ya que son los usuarios

principales de este tipo de efluentes, partiendo por advertir de las posibles consecuencias de realizar inadecuadas prácticas agrícolas para prevenir y controlar el vertido de contaminantes bacteriológicos a los cuerpos de agua.

## 6. CONCLUSIONES

Con respecto a lo expuesto en esta investigación, la cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en el estero Pemuco y Dollinco varía dependiendo de la estación de muestreo y la acumulación de precipitaciones. Al comparar la calidad de las aguas en los diferentes periodos de tiempo analizados, se identifica que el estero Pemuco contine una mayor contaminación microbiológica, el cual confirma la influencia de las personas que habitan dentro de la comuna en la calidad del agua. Al analizar los datos antes y después de los periodos de lluvia, con las primeras precipitaciones y debido al efecto de arrastre se evidencia un aumento considerable en la calidad bacteriológica de las aguas, en los periodos posteriores se observa una estabilización de los valores de coliformes totales y fecales, disminuyendo únicamente la presencia de *E. coli*. El último periodo analizado en que se acumularon las máximas precipitaciones demuestra que las lluvias mejoran la calidad del agua únicamente respecto a las cepas de *E. coli*.

Se verifica los requisitos de calidad de agua de acuerdo con la NCh 1333, en que los esteros Pemuco y Dollinco no cumple con los límites máximos permisibles de presencia de coliformes (1000/100 mL) y *E. coli* (Ausencia total) en los periodos estudiados, relacionados al consumo del agua por parte de animales y el riego de cultivos.

## 7. LITERATURA CITADA

1. Almanza-Marroquín, V.A., R. Figueroa, O. Parra, X. Fernández, C. Baeza, J. Yáñez y R. Urrutia. 2016. Bases limnológicas para la gestión de los lagos urbanos de Concepción, Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 44(2): 313-326.
2. Apella, M.C., P.Z. Araujo. 2005. Microbiología de agua. Conceptos básicos. pp: 33-50. En: M. Blesa y J. Blanco (Eds.). *Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua*. Universidad Nacional de San Martín. San Martín, Argentina.
3. Corrales, L.C., L.C. Sánchez y F.A. Escucha. 2014. Determinación de la presencia de bacterias patógenas para el humano en aguas de riego en la cuenca alta de la sabana de Bogotá; D.C. Colombia. *Nova* 12(21): 179-186.
4. Deming, H.G. 1979. *El agua: un recurso insustituible*. Ediciones Nuevomar. México D.F., México.
5. DGA (Chile). 2015. *Atlas del agua: Chile 2016*. MOP. DGA. Santiago, Chile.
6. Dirección General de Aguas. 2022. Informe de valores instantáneos [en línea: programa computacional]. Ministerio de Obras Públicas, Chile <[https://snia.mop.gob.cl/dgasat/pages/dgasat\\_param/dgasat\\_param.jsp?param=1](https://snia.mop.gob.cl/dgasat/pages/dgasat_param/dgasat_param.jsp?param=1)>. [Consulta: 25 julio 2022].

7. García, M. 2009. La contaminación del agua. pp: 11-14. En: Biología y geología. CEN Oposiciones. Madrid, España.
8. Guadarrama-Tejas, R., J. Kido-Miranda, G. Roldan-Antunez y M. Salas-Salgado. 2016. Contaminación del agua. Rev. Cienc. Ambient. Rec. Nat. 2(5): 1-10.
9. Guerrero, M. 2012. El agua. Fondo de Cultura Económica. México D.F., México.
10. IANAS (México). 2019. Calidad del agua en las Américas: Riesgos y oportunidades [en línea]. Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental, México. <[https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2019/10/Calidad-de-agua-en-las-Am%C3%A9ricas\\_2019.pdf](https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2019/10/Calidad-de-agua-en-las-Am%C3%A9ricas_2019.pdf)>. [Consulta: 27 julio 2022].
11. Ilustre Municipalidad de Pemuco. 2022. Historia [en línea]. Ilustre Municipalidad de Pemuco, Chile. <<https://www.munipemuco.cl/historia/>>. [Consulta: 23 julio 2022].
12. Instituto Nacional de Normalización. 1978. Requisitos de calidad del agua para diferentes usos. NCh 1333: of. 78 modificada en 1987. Santiago, Chile.
13. Instituto Nacional de Normalización. 1984. Agua potable – Determinación de bacterias coliformes totales – Parte 1: Método de los tubos múltiples (NMP). NCh 1620/1: of. 84. Santiago, Chile.

14. Instituto Nacional de Normalización. 2005. Agua potable - Parte1 - Requisitos. NCh 409/1: of. 2005. Santiago, Chile.
15. Marín, R., G. Gutiérrez. 2018. El agua en la ciudad y los asentamientos humanos. Universidad Central. Bogotá, Colombia.
16. Naciones Unidas. 2015. Objetivo 6: garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento para todos [en línea]. Naciones Unidas. <<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/water-and-sanitation/>>. [Consulta: 19 julio 2022].
17. OMS (Suiza). 2018. Guías para la calidad del agua de consumo humano. (4a. ed.). OMS. Ginebra, Suiza.
18. OMS (Suiza). 2022. Agua para consumo humano. Datos y cifras [en línea]. OMS, Suiza. <<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>>. [Consulta: 18 julio 2022].
19. Pontificia Universidad Católica de Chile. 2020. El cólera en Chile, 28 años después [en línea]. Pontificia Universidad Católica de Chile. <<https://observatorio.medicina.uc.cl/el-colera-en-chile-28-anos-despues/>>. [Consulta: 01 agosto 2022].
20. Robert, M. 2014. Microorganismos indicadores de la calidad del agua en Cuba. Rev. CENIC Cienc. Biol. 45(1): 25-36.
21. Rock, C., B. Rivera. 2014. La calidad del agua, *E.coli* y su salud [en línea].  
The University of Arizona, USA.

<<https://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1624s.pdf>>. [Consulta: 20 julio 2022].

22. Romero, J.A. 1999. Calidad del agua. (2a. ed.). Alfaomega Grupo. México D.F., México.
23. Sanhueza, U. 2012. Contaminación en escorrentía pluvial urbana. Aspectos Generales. RIOCI 1: 20-26.
24. Seisdedo, M., A. Muñoz. 2005. Efecto de las precipitaciones en la calidad de las aguas de la bahía de Cienfuegos. Rev. Cuba. Meteorol. 12(2): 64-67.
25. Valenzuela, E., R. Godoy, L. Almonacid y M. Barrientos. 2012. Calidad microbiológica del agua de una área agrícola-ganadera del centro sur de Chile y su posible implicancia en la salud humana. Rev. Chil. Infectol. 29(6): 628-634.

## 8. ANEXOS

Tabla A1. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y *E. coli* (EC y Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 11/04/2022.

Punto de muestreo	Medio de análisis	Número de tubos positivos en cada serie			NMP/100mL
		10mL	1mL	0,1mL	
A1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	4	>1600
	Agar Levine	3	2	2	20
A2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	2	540
	Agar Levine	5	5	2	540
A3	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	4	5	3	64
	Agar Levine	4	2	3	38
B1	LST	5	4	3	280
	BVB	5	4	3	280
	EC	5	4	3	280
	Agar Levine	2	3	2	17
B2	LST	5	5	3	920
	BVB	5	5	3	920
	EC	5	3	0	79
	Agar Levine	4	1	0	17
B3	LST	5	4	0	130
	BVB	5	4	0	130
	EC	5	2	0	49
	Agar Levine	3	3	0	17

LST: lauril sulfato triptosa; BVB: bilis verde brillante; EC: medio EC; NMP: número más probable.

Tabla A2. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y *E. coli* (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 08/05/2022.

Punto de muestreo	Medio de análisis	Número de tubos positivos en cada serie			NMP/100mL
		10mL	1mL	0,1mL	
A1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	3	920
	EC	5	5	5	>1600
	Agar Levine	3	4	1	24
A2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	5	>1600
	Agar Levine	4	4	4	62
A3	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	5	>1600
	Agar Levine	5	5	4	>1600
B1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	1	350
	Agar Levine	5	4	1	170
B2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	1	350
	EC	5	5	1	350
	Agar Levine	5	3	1	110
B3	LST	5	5	4	>1600
	BVB	5	5	4	>1600
	EC	5	4	1	170
	Agar Levine	1	2	1	8,2

LST: lauril sulfato triptosa; BVB: bilis verde brillante; EC: medio EC; NMP: número más probable.

Tabla A3. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y *E. coli* (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 31/05/2022.

Punto de muestreo	Medio de análisis	Número de tubos positivos en cada serie			NMP/100mL
		10mL	1mL	0,1mL	
A1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	4	1	170
	Agar Levine	0	2	1	5,5
A2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	3	920
	Agar Levine	0	1	3	7,3
A3	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	5	>1600
	Agar Levine	3	2	5	31
B1	LST	5	5	4	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	2	0	49
	Agar Levine	2	2	0	9,3
B2	LST	5	5	4	>1600
	BVB	5	5	4	>1600
	EC	5	2	0	49
	Agar Levine	1	2	0	6,1
B3	LST	5	5	4	>1600
	BVB	5	5	4	>1600
	EC	5	1	0	33
	Agar Levine	2	1	0	6,8

LST: lauril sulfato triptosa; BVB: bilis verde brillante; EC: medio EC; NMP: número más probable.

Tabla A4. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y *E. coli* (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 05/06/2022.

Punto de muestreo	Medio de análisis	Número de tubos positivos en cada serie			NMP/100mL
		10mL	1mL	0,1mL	
A1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	2	0	49
	Agar Levine	3	2	0	14
A2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	2	0	49
	Agar Levine	1	0	0	2,0
A3	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	5	5	>1600
	Agar Levine	1	3	4	17
B1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	2	0	0	4,5
	Agar Levine	2	0	0	4,5
B2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	2	0	49
	Agar Levine	3	2	0	14
B3	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	1	0	33
	Agar Levine	4	1	0	17

LST: lauril sulfato triptosa; BVB: bilis verde brillante; EC: medio EC; NMP: número más probable.

Tabla A5. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y *E. coli* (Agar Levine) en los seis puntos de muestreo del estero Pemuco (A) y el estero Dollinco (B), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 09/08/2022.

Punto de muestreo	Medio de análisis	Número de tubos positivos en cada serie			NMP/100mL
		10mL	1mL	0,1mL	
A1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	4	1	0	17
	Agar Levine	3	1	0	11
A2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	4	1	1	21
	Agar Levine	4	1	1	21
A3	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	5	1	2	64
	Agar Levine	3	1	2	17
B1	LST	5	4	5	430
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	3	0	0	7,8
	Agar Levine	3	0	0	7,8
B2	LST	5	5	5	>1600
	BVB	4	5	5	81
	EC	1	0	0	2,0
	Agar Levine	1	0	0	2,0
B3	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	5	>1600
	EC	0	1	0	1,8
	Agar Levine	0	0	0	0

LST: lauril sulfato triptosa; BVB: bilis verde brillante; EC: medio EC; NMP: número más probable.

Tabla A6. Presencia de coliformes totales (LST), coliformes fecales (BVB y EC) y E. coli (Agar Levine) en los tres puntos de control del estero Pemuco (A), Región de Ñuble, Chile; Analizado el 28/11/2021, con ausencia de precipitaciones.

Punto de muestreo	Medio de análisis	Número de tubos positivos en cada serie			NMP/100mL
		10mL	1mL	0,1mL	
A1	LST	5	5	5	>1600
	BVB	5	5	3	920
	EC	5	5	3	920
	Agar Levine	5	2	0	49
A2	LST	5	5	3	920
	BVB	4	5	2	56
	EC	4	5	3	64
	Agar Levine	3	3	2	24
A3	LST	5	5	4	>1600
	BVB	5	5	4	>1600
	EC	4	5	4	72
	Agar Levine	0	2	2	7,4

LST: lauril sulfato triptosa; BVB: bilis verde brillante; EC: medio EC; NMP: número más probable.