

899

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**CUANTIFICACION DE COLIFORMES Y  
DETERMINACION DE SALMONELLA EN PESCADOS  
DEL LAGO DE AMATITLAN**



**JAVIER FRANCISCO ARMAS ZEBADUA**

Para optar el título de:

**QUIMICO BIOLOGO**

Guatemala, junio de 1998

06  
T(1836)  
C.4

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y**

**FARMACIA**

**DECANO :** Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar.

**SECRETARIO :** Lic. Oscar Federico Nave Herrera.

**VOCAL I :** Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto.

**VOCAL II :** Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán.

**VOCAL III :** Lic. Rodrigo Herrera San José.

**VOCAL IV :** Br. Herbeth Raúl Arévalo Alvarado.

**VOCAL V :** Br. Manola Anleu Fortuny.

## AGRADECIMIENTOS

Seguro estoy  
que un ángel, Bertha García de Zebadúa  
de la mano de Dios, Jesús y la virgen María  
han llenado mi vida de sabiduría.

A mis padres, hermanos y parientes  
que con su apoyo  
he salido del difícil camino  
para poder labrar mi destino.

A mis compañeros de promoción  
para que pronto puedan sentir la emoción  
de vestir la toga  
recibir el título  
y con su profesión  
puedan de Guatemala hacer una gran nación.

A las casas comerciales  
con el patrocinio de sus reactivos  
he podido alcanzar mis objetivos.

A mis catedráticos  
a mi asesora  
a mis revisores  
para que sigan formando  
profesionales emprendedores.

A todas las personas  
que luchan contra tanto insensato  
que contaminan las aguas, la flora y la fauna  
para este mundo salvar  
y los niños tengan un lugar donde jugar.

Al Comité del Lago de Amatilán  
a la familia Guardia  
al Hospital Regional de Zacapa  
a Sergio Santos e Ivan Cerdón  
gracias por su apoyo y porque me dan esta satisfacción.

## INDICE

	PP
1 .RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Situación geográfica del lago de Amatitlán	4
3.2 El lago de Amatitlán como fuente de agua	4
3.3 Fuentes de contaminación del lago	5
3.3.1 Aguas negras	5
3.4 Proceso de eutroficación de un lago	7
3.4.1 Factores que determinan la velocidad de eutroficación y migración de la capa fótica	8
3.5 Pérdida de la biodiversidad	10
3.6 El grupo Coliforme	12
3.6.1 Coliformes totales	13
3.6.2 Coliformes fecales	13
3.7 Método de fermentación de tubos múltiples	14
3.7.1 Precauciones de la técnica	15
3.8 Fases para la determinación de coliformes	16
3.9 Método de Petrifilm VRB (Bilis-Rojo-Violeta)	17
3.10 Colisure TM	18
3.11 SALMONELLA	19
3.12 Patogenicidad del género <i>Salmonella</i>	20

3.13 Aspectos importantes del aislamiento	
de <i>Salmonella</i>	22
3.14 Contaminación de alimentos por <i>Salmonella</i>	24
4. JUSTIFICACIONES	25
5. OBJETIVOS	26
6. HIPOTESIS	27
7. MATERIALES Y METODOS	28
8. RESULTADOS	35
9. DISCUSION DE RESULTADOS	38
10. CONCLUSIONES	41
11. RECOMENDACIONES	42
12. REFERENCIAS	43
13. ANEXOS	49

## 1. RESUMEN

Los peces del lago de Amatitlán están conformados por tres especies principalmente: *Cichlasoma managuense* (guapote), *Cichlasoma nigrofasciatum* (mojarra negra) y *Tilapia mossambica* (tilapia); las cuales están expuestas a altos niveles de contaminación fecal. Microorganismos del grupo de los coliformes totales y coliformes fecales que se encuentran en las aguas de este lago son adquiridos por los peces, contaminándolos y aumentando el riesgo de que estos peces al ser consumidos por el humano aumenten la incidencia de enfermedades gastrointestinales, siendo la *Salmonella* una de las bacterias principales que causan este tipo de enfermedad.

En el presente estudio se realizó un muestreo de cien pescados de distintos puntos del lago a los cuales se les determinó la presencia de coliformes totales por medio de conteos aeróbicos en placas comerciales Petrifilm 3M, para los coliformes fecales se utilizó la técnica de Número Más Probable (NMP) o Fermentación de tubos múltiples con el fin de establecer en que lugares los pescados están expuestos a una mayor contaminación fecal.

También se determinó la presencia de *Salmonella* utilizando como preenriquecimiento caldo lactosado, como enriquecimiento caldo tetracionato y caldo selenito cistina y para aislar esta bacteria se utilizaron el agar Xilosa Lisina Deoxicolato de sodio -XLD- y el agar Hektoen, su identificación se determinó por medio del sistema para Enterobacterias API 10S.

Se obtuvo un porcentaje del uno por ciento para *Salmonella enteritidis* del grupo B; para coliformes totales se obtuvieron conteos aeróbicos que iban desde 2,000 UFC/g. a

320,000 UFC/g. y para coliformes fecales se obtuvo un Número Más Probable (5 tubos) de  $2 \times 10^4$  a  $920 \times 10^4$ .

Al realizarse el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Fisher se determinó que la contaminación era uniforme en el lago en los distintos lugares donde se realizó el muestreo de los pescados, resultado que se vio afectado por la variabilidad que presenta la unidad muestral.

## 2. INTRODUCCION

El lago de Amatitlán actualmente sufre de una contaminación acelerada a todo nivel, con todo tipo de basura, materiales orgánicos e inorgánicos, aguas negras, etc.; esto provoca daños severos en la ecología del lago aumentando el proceso de eutroficación (1).

Las fuentes de contaminación provienen de los habitantes de la cuenca del lago y de las industrias cuyos desagües van a dar a las aguas del río Villalobos y cuyos afluentes que desembocan en el lago (1,2).

La contaminación microbiológica es un riesgo para la salud de la población del área, ya que están sujetos a contraer enfermedades, especialmente del tipo gastro-intestinal. Además, puede ocasionar daño a la fauna disminuyendo las poblaciones de peces y por consiguiente la pesca (1,3).

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la calidad microbiológica de los pescados del lago de Amatitlán por medio de la cuantificación de coliformes fecales y determinar la presencia de *Salmonella*; además se busca identificar el área del lago con más contaminación microbiológica.



### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Situación geográfica del lago de Amatitlán

El lago de Amatitlán localizado en el departamento de Guatemala, a una altura de 1,190 mt. sobre el nivel del mar, limita con los siguientes municipios: al noroccidente con Villa Nueva, al norte con Petapa, al nororiente con Villa Canales y al sur con Amatitlán (1) (Anexo 1).

El área de la cuenca del lago, abarca aproximadamente 396 Km<sup>2</sup> con una elevación máxima de 2,400 mt. sobre el nivel del mar y con una elevación mínima de 1,180 mt. sobre el nivel del mar (1).

#### 3.2 El lago de Amatitlán como fuente de agua

El lago de Amatitlán ha sido una fuente muy importante de agua para el consumo humano y uso doméstico en muchas poblaciones, tal es el caso de las aldeas Cerritos, Tacatón y otras (2).

Actualmente, EMPAGUA (Empresa Municipal de Agua Guatemalteca) extrae de la cuenca del lago, por lo menos el 35 por ciento de agua que abastece a la capital, mientras que Villa Nueva, Villa Canales y San Miguel Petapa se abastecen en un 100 por ciento (3).

En la agricultura, el agua es utilizada para el riego de los distintos cultivos de la región; inclusive el lago es utilizado como embalse para procesos de enfriamiento termoeléctricos por la Empresa Eléctrica Guatemalteca o por el Instituto Nacional de Electrificación (INDE) (2).

El lago es una fuente económica para los habitantes del municipio de Amatitlán, por medio de la pesca artesanal. También por décadas el lago ha sido utilizado como un recurso para la realización de deportes acuáticos como el triatlón y el remo. La cuenca por su geografía, se ha prestado para la realización de otros deportes como el alpinismo en los volcanes de Agua y Pacaya (3).

### 3.3 Fuentes de contaminación

En el lago de Amatitlán se han vertido en sus aguas, por varios años distintos tipos de contaminantes, tanto orgánicos como inorgánicos (1).

#### 3.3.1 Aguas negras

Las aguas negras son principalmente de tres tipos:  
industrial, doméstico y residual.

##### 3.3.1.1 Aguas Industriales

El 67 por ciento de las industrias del país se localizan en la cuenca del lago de Amatitlán, de las cuales solamente el 10 por ciento posee sistemas de tratamiento de aguas de procesos residuales (3).

Las 700 industrias que existen aproximadamente en esta área vierten desechos industriales cuya composición en su mayoría son tóxicos, como: plomo, cromo, zinc, aceites, colorantes (4).

### 3.3.1.2 Aguas negras domésticas

Este tipo de aguas, están constituidas principalmente por detergentes y contaminación fecal (5).

### 3.3.1.3 Aguas residuales

Proviene principalmente de la industria cafetalera, que vierte estas aguas en los ríos Pampumay y Chanquin, sin ningún tipo de tratamiento. También, de la industria de la caña de azúcar que se filtran en el suelo y llegan a las aguas subterráneas que surten de agua al lago de Amatitlán (2).

Debido a malas prácticas de minería, canteras, ampliación de carretera, acelerada erosión promovida por la deforestación, se depositan gran cantidad de sedimentos que van a dar a los ríos, principalmente al Villalobos que desemboca en el lago (2,6).

Las aguas residuales pueden llevar en su composición sedimentos lixiviados, lodos, arcillas, basuras, residuos de hidrocarburos, sílice, arenas. Estos sedimentos, reducen aproximadamente 75 cm. anuales la profundidad del lago, la cual hace 50 años era de 60 mts. y reducida a 18 mts. en su parte más profunda para el año de 1996 (2,3).

La fuente principal de agua del lago en la época seca consiste en descargas de aguas industriales y aguas negras, en la época lluviosa se suman las de la precipitación pluvial (1).

### 3.4 Proceso de Eutroficación de un lago

Normalmente hay un proceso natural de eutroficación debido a la lixiviación y depósito de nutrientes en una vertiente de agua, siendo un proceso de sucesión ecológica (7).

Generalmente la eutroficación natural provee de nutrientes a un lago carente de ellos, llamado "oligotrófico", lo cual es útil para mantener las necesidades del ecosistema, como es el caso de ciertas algas que sirven como alimento para peces herbívoros (7).

La eutroficación se convierte en un fenómeno peligroso para un lago cuando es un proceso acelerado que altera el equilibrio del ecosistema por las constantes descargas de fósforos y nitrógeno depositadas en las aguas (2).

Aproximadamente, 1,110,000 personas habitan la cuenca del lago de Amatitlán, los cuales son los principales contribuyentes al proceso de eutroficación del lago, por las constantes deposiciones de aguas negras (3).

Una persona, a diario produce por su metabolismo una descarga aproximada de 3 g. de Fósforo y 20 g. de Nitrógeno, lo cual, de acuerdo al número de habitantes de la cuenca del lago, equivale a  $49.90 \text{ g/m}^2/\text{año}$  de fósforo y  $233.7 \text{ g/m}^2/\text{año}$  de nitrógeno (2).

Los fertilizantes y biocidas utilizados en las actividades agrícolas se suman a este proceso, ya que contienen sales fosfatadas, que al llegar al suelo son absorbidos y llegan aguas subterráneas que pueden contaminar el agua del lago (5).

Los detergentes, contribuyen a aportar hasta un 60 por ciento del fósforo total contenido en las aguas residuales (5).

El nitrógeno es metabolizado por las bacterias a formas inorgánicas y junto con el fósforo son depositados en el fondo del lago y funcionan como agentes fertilizantes de especies vegetales acuáticas, especialmente de las algas (2).

La proliferación de algas disminuye la penetración de energía radiante a los estratos inferiores del lago. Esta reducción de luz disminuye la capacidad fotosintética de algunas plantas acuáticas y el oxígeno disponible en el agua, por consiguiente se acumula fósforo y se traslada la capacidad fótica del lago a estratos superiores (2).

#### 3.4.1 Factores que determinan la velocidad de eutroficación y migración de

la capa fótica

Dos son los factores que determinan la velocidad de eutroficación y migración de la capa fótica:

3.4.1.1 **Profundidad del lago:** depende de la profundidad que los nutrientes, como el fósforo, asciendan a la superficie. A una mayor profundidad se soporta una mayor carga de nutrientes pero se necesita un mayor tiempo de recuperación (2).

3.4.1.2 **Capacidad de mezclado de aguas:** consiste en un volteo de las aguas de la superficie por las del fondo, como consecuencia de una baja en la temperatura de la superficie por efectos eólicos (del viento). Esto provoca que se de una renovación en la distribución de los componentes del fondo, se rompa la estratificación del oxígeno disponible evitando la liberación de nutrientes desde los sedimentos (2).

En el lago de Amatitlán dada la poca profundidad que posee, 12 a 15 mt. en promedio, se ve acelerada la eutroficación, por que hay una mayor acumulación de nutrientes y mayor ascenso de estos a la superficie aumentando la proliferación de algas en los estratos superiores. Además, el proceso natural de volteo de aguas no es suficiente para contrarrestar este fenómeno debido a los altos niveles de contaminación existentes (2).

PROPIEDAD DE [illegible]  
[illegible] [illegible]  
[illegible] [illegible]

Esto se ve empeorado con el problema que el desagüe natural del lago de Amatitlán, el río Michatoya, se encuentra azolvado (cuando se corta físicamente una corriente de agua) lo que provoca que la gran contaminación proveniente del río Villalobos, localizado al nor-este del lago, se siga acumulando en las aguas sin ninguna posibilidad de salida (8).

### 3.5 Pérdida de la biodiversidad

Los efectos fisiológicos que tiene la contaminación sobre los peces afectan los procesos siguientes:

- Migración por la búsqueda de alimentos.
- Alteración del comportamiento, por ejemplo: la etapa de reproducción.
- Alteración del ciclo vital.
- Alteración de los procesos fisiológicos, por ejemplo: la respiración.
- Disponibilidad de oxígeno
- Provocar enfermedades

Las cadenas nutricionales y alimenticias se ven dañados por que cambia la capacidad de un organismo para buscar su presa, bloqueando su asimilación de alimentos y contaminando las especies de presa, o al mismo humano. Al eliminarse un elemento de la cadena alimenticia pueden proliferar especies que sean perjudiciales para el ecosistema (5).

Los desechos inorgánicos como el sodio, cloro, potasio, calcio, magnesio pueden alterar el pH del agua dulce alterando el ambiente de los peces y causarles la muerte (5).

Metales pesados, el petróleo y sus derivados, son altamente tóxicos para la vida acuática, pueden ser ingeridos por los peces y depositarse en tejidos grasos y en la carne de estos animales (5).

Un indicador de la pérdida de biodiversidad es la presencia de algas que producen sustancias tóxicas, de las cuales 2 especies predominan en el lago de Amatitlán la *Eigeria densa* y la *Elodea canadensis* (3).

Otros ejemplos de algas productoras de toxinas son: *Mycrocistis toxica*, *Mycrocistis flosaquae*, *Anabaena flosaquae* y *Aphanizomenon flosaquae* (2).

Se han realizado cultivos aerobios y anaerobios de la carga bacteriológica en piel, agallas e intestinos y se han encontrado los siguientes de microorganismos: *Aeromonas sp.* (27%), *Pseudomonas spp.* (12%), *Flavobacterium* (8%), *Pseudomonas shigelloides* (7%), *Bacillus spp.* (7%), *Enterobacteriaceae* (6%); otros microorganismos aislados son: *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp.*, *Citrobacter freundii*, *E.coli* y *Proteus vulgaris* (9).



### 3.6 El grupo Coliforme

Shardinger en 1892, reportaba el uso de la *Escherichia coli* como un índice de contaminación fecal, por que es más fácil de recuperar que otras especies como las del género *Salmonella* (10).

En 1914, la U.S. Public Health Service Standar, cambio la *Escherichia coli* a grupo coliforme, basado en que los miembros de este grupo poseían un significado sanitario igual (10).

El grupo está limitado a especies capaces de proliferación a altas temperaturas. El término coliforme fecal y coliforme total no tienen validez taxonómica, solamente queda claro su significado cuando se especifican los términos de la prueba y el microorganismo bajo examen (10).

Por lo tanto, se utiliza un método indirecto para evaluar los posibles riesgos asociados a la contaminación de alimentos y agua contaminados por organismos enteropatógenos, tomando en cuenta la estimación de los microorganismos indicadores u organismos entéricos normales (11).

#### 3.6.1 Coliformes totales

Incluye organismos Gram negativos, aeróbicos y aerobios facultativos, no esporoformadores, fermentan la lactosa formando ácido y gas en un período de 24-48 hrs. a una temperatura de 35°C (10).

Los medios de cultivo incluyen medios sólidos o líquidos con distintas variedades o concentraciones de lactosa, teniendo que tomar en cuenta la temperatura es crucial para este grupo (10).

Este grupo puede contener microorganismos no incluidos o provisionalmente incluidos en la familia *Enterobacteriaceae*, como por ej. el grupo de las *Aeromonas* (10).

Esto ocurre cuando se toma en cuenta a microorganismos que hidrolizan el substrato nitrofenil-beta-D-galactosidasa en vez de fermentar la lactosa como lo hacen las bacterias del género *Citrobacter* spp., *Enterobacter agglomerans*, *Hafnia alvei* y *Serratia marcescens* (10).

### 3.6.2 Coliformes fecales

Este grupo lo conforman bacilos Gram negativo, no esporulados que fermentan la lactosa a 44.5°C a 45.5°C e incluye por lo menos a los miembros de 3 géneros: *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (10,12).

Si bien la *Escherichia coli* que es la especie predominante de este grupo y es exclusivamente de origen fecal, las especies de *Enterobacter* se les ha encontrado en ambientes como el suelo, alcantarillas, agua, vegetales y plantas aunque raramente es reportado como un patógeno entérico. *Klebsiella* también se encuentra asociado a otros ambientes que no están asociados a la contaminación fecal (12).

Estos microorganismos habitan normalmente en el intestino del hombre y animales de sangre caliente. Se ha demostrado su presencia en polvo, manos y muchos tipos de comidas (10,12,13).

Los alimentos susceptibles de contaminación fecal incluyen hortalizas, carnes (de aves, res, pescados, mariscos, derivados cárnicos, etc.), productos lácteos (queso, crema, leche); lo cual puede deberse a malas prácticas de higiene durante el proceso o manejo del alimento o a la utilización de agua contaminada con heces (14,15).

Uno de los vehículos de Coliformes fecales más estudiados ha sido el agua, y el clásico microorganismo indicador la *Escherichia coli* fue introducido en la década de los años 80 para el monitoreo de aguas (16).

### 3.7 Método de fermentación de tubos múltiples

El método de fermentación de tubos múltiples es utilizado para determinar estadísticamente el número más probable (NMP) de bacterias presentes en una muestra de agua o alimentos (11).

Así como se puede utilizar para varios tipos de alimentos, también se puede utilizar en diferentes tipos de muestras de agua como: lodos de aguas residuales, sedimentos, aguas coloreada o turbia y barro (17).

Este método es útil para detectar pequeñas cantidades de microorganismos (11).

### 3.7.1 Precauciones de la técnica

En este método hay que tener una serie de precauciones. Una de las más importantes es la distribución y replica de las alicuotas por lo cual hay que tener un cuidado extremo en la preparación de las diluciones (10).

Otro factor importante que hay que tener en cuenta es la dificultad de obtener realmente una distribución adecuada de los microorganismos dentro de las muestras seleccionadas (10).

La presencia de inhibidores como el Cloruro de Sodio pueden interferir con la cantidad de microorganismos. También hay que tomar en cuenta la presencia de nutrientes como la sucrosa, que pueden interferir con la selectividad del medio dando falsa presencia de Coliformes (10).

El tiempo de incubación es determinante para obtener estimaciones de Número Más Probable (NMP) más confiables. Se ha observado que alargar el tiempo de incubación a 48 horas en la fase presuntiva y confirmatoria da resultados más exactos, si el tiempo de incubación se extiende a 72 horas un 40 por ciento de los casos aumentan la positividad de la muestra pero también se puede correr el riesgo de perder la viabilidad de las bacterias (17).

### 3.8 Fases para la determinación de Coliformes.

Consta de 3 fases:

- **Fase presuntiva:** Se separa a las bacterias que fermentan la lactosa de las que no la fermentan, esto se logra por medio de la inoculación de la muestra en Caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST) en un período de 24 a  $48 \pm 2$  hrs. a una temperatura de  $35^\circ \pm 0.5^\circ\text{C}$  (18).

- **Fase confirmatoria:** Permite confirmar la presencia de coliformes totales. Consiste en la utilización del medio de cultivo llamado Caldo Bilis Verde Brillante (BVB) en el cual se inoculan las muestras positivas de la fase presuntiva; obteniendo el Número Más Probable (NMP) de coliformes totales por gr. o ml. de muestra (18).

- **Fase complementaria:** Consiste en la confirmación de coliformes fecales por medio de la incubación del medio de cultivo Caldo EC a una temperatura de  $44.5^\circ \pm 0.2^\circ\text{C}$  a partir de las muestras positivas de la fase presuntiva, obteniendo el NMP de coliformes fecales por gr. o ml. de muestra (18).

Una fase confirmatoria con producción de gas y turbidez en el Caldo BVB y una fase complementaria con resultados negativos en Caldo EC indican que los coliformes aislados no son de origen fecal (19).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA  
BIBLIOTECA

### 3.9 Método Petrifilm VRB (Bilis-Rojo-Violeta)

Este método es comparable al medio sólido de cultivo Agar Bilis Rojo Violeta (AVRB) en el cual las colonias rojo-púrpura con un precipitado de ácidos biliares a su alrededor son sugestivas de bacterias del grupo Coliforme (10).

Contiene los ingredientes del Agar VRB, pero en forma deshidratada y en lugar de agar contiene un agente gelificante soluble en agua en un área de 20 cm de diámetro con una cubierta de plástico. Si se quiere determinar la presencia de *Escherichia coli* se le puede agregar el componente fluorogénico MUG (4-metilumbelliferil-beta-D-galactosidasa), para determinar la actividad de la enzima B-glucoronidasa la cual está asociado exclusivamente con la *E. coli* produciendo colonias con un halo azul al rededor de las colonias de esta bacteria en contraste de las rojo violeta de bacterias del grupo Coliforme (19,20).

El petrifilm VRB se ha comparado con los métodos tradicionales del Agar VRB y la técnica de NMP (número más probable), tanto el petrifilm VRB y el Agar VRB tienen hasta un 92 por ciento de positividad contra un 72 por ciento de positividad en en el NMP lo cual se puede deber a la interferencia de microorganismos que no son inhibidos por el Caldo Lauril Sulfato Triptosa o el Caldo Bilis Verde Brillante (21).

### 3.10 Colisure™

Es un medio selectivo y diferencial para la detección simultánea de coliformes totales y *Escherichia coli* en muestras de agua. Esta basado en la presencia de enzimas específicas, para el grupo coliforme está basado en la detección de la B-galactosidasa identificada por la hidrólisis de un substrato cromogénico (22).

Este método posee hasta un 96 por ciento de sensibilidad y especificidad para la detección de coliformes y *E. coli* con respecto a la técnica tradicional de fermentación de tubos múltiples. Detecta 1.6 veces más los resultados positivos que el Caldo LST confirmado con Caldo BVB y 1.7 veces más que el Caldo EC (22).

La presencia de coliformes totales se hace evidente al tornar a color amarillo el medio y si presenta una fluorescencia azul con luz UV con una longitud de onda de 366 nm es positivo para *Escherichia coli* (23).

El Colisure puede detectar hasta 1 UFC/100 ml de coliformes y además no necesita pasos confirmatorios como en la técnica de filtrado de membrana o en la técnica de fermentación de tubos múltiples (24).

### 3.11 *Salmonella*

El género *Salmonella* pertenece a la tribu *Salmonelleae* en la familia *Enterobacteriaceae*. La clasificación del género *Salmonella* está basada principalmente en 2 especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (12).

*Salmonella enterica* incluye las siguientes subespecies:

*Salmonella enterica subesp. enterica*

*Salmonella enterica subesp. arizonae*

*Salmonella enterica subesp. diarizonae*

*Salmonella enterica subesp. houtenae*

*Salmonella enterica subesp. indica*

(12,25).

La nueva nomenclatura para la denominación del género *Salmonella* está basado en la utilización del "serovar" en letras minúsculas seguido del nombre con la primera letra mayúscula así *Salmonella typhimurium* pasaría a ser *Salmonella serovar Typhimurium* o simplemente *Salmonella Typhimurium*, sin necesidad que se trata de una subespecie entérica. Los serovares de las demás subespecies pueden designarse por su fórmula antigénica (12).

Para estudio de las distintas subespecies hay métodos para detectar el fenotipo de la bacteria como el tipo de fagos que se ha utilizado para el tipo de *S. enteritidis*, son útiles metodologías como la búsqueda de huellas de ADN (Acido Desoxiribo Nucléico) y análisis de perfiles de plásmido para detectar casos que involucran a especies como: *Salmonella newport*, *Salmonella muenster*, *Salmonella typhimurium*, y *Salmonella muenchen* (26).



### 3.12 Patogenicidad del género *Salmonella*

Estas bacterias ingresan al organismo por contaminación feco-oral, invaden la mucosa intestinal y se multiplican dentro de vacuolas que forman dentro de las células epiteliales (25,27).

La invasión del epitelio intestinal se logra por la información codificada en el gen *invA* el cual es un operon que funciona como un gatillo de la invasividad de *Salmonella* (27).

La virulencia y el crecimiento en las células huésped pueden estar determinados por plásmidos de virulencia como el gen *spvC* que se encuentra en una región de 7.8 Kb junto a otros 4 genes el *spvR*, *spvA*, *spvB* y *spvD*. Aunque la mayoría de especies de *Salmonella* posee el gen *invA*, no todas las salmonelas poseen el gen *spvC* (27).

Otros genes que pueden estar envueltos con la virulencia de estas bacterias son el "eae", el "slt" y el locus "spa-*inv*" (28).

Los plásmidos de alto peso molecular son necesarios para que se de la virulencia de varios serotipos de *Salmonella* capaces de producir enfermedades como: *S.typhimurium*, *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. pollorum* y *S. gallinarum* (26).

Otro factor que aumenta la patogenicidad de *Salmonella* es la producción de enterotoxinas y citoxinas. Las enterotoxinas actúan aumentando la permeabilidad vascular y están relacionadas con la membrana externa bacteriana y son dos: la termolábil que actúa rápidamente y la termoestable, cuya acción es más lenta (29).

Por medio de la infección de conejos sanos con *Salmonella* se encontró que hay por lo menos una citoxina producida por esta bacteria, la cual puede ser responsable del daño que se produce a las células epiteliales del intestino (30).

Se ha encontrado que a un rango de 54 por ciento a 98 por ciento de las salmonelas se les considera como enteropatógenicas y que la mayoría producen citoxina y enterotoxina (12).

La infección por *Salmonella* conocida como salmonelosis se presenta en una variedad de formas que incluyen a la gastroenteritis, infección focal de órganos o una infección febril sistémica (27).

Los síntomas de la enfermedad como diarrea, náusea, vómitos, escalofríos, calambres, dolor abdominal, fiebre aparecen después de 12 a 24 horas y pueden persistir de 24 a 48 horas. Las heces pueden tener moco y sangre (25).

La dosis infectiva para desencadenar sintomatología puede ir de  $10^3$  a  $10^6$  UFC/g, dependiendo de la especie de *Salmonella*, serovar, población que lo ingiere y alimento involucrado (31).

En otras especies de *Salmonella* se ha reportado dosis infectivas de  $10^9$  a  $10^{11}$  UFC/g, aunque estudios epidemiológicos han reportado que *Salmonella typhimurium* fagotipo 10 puede presentar una dosis infectiva de una sola bacteria (12).

En un estudio de competencia microbiológica en el intestino se demostró que la microflora intestinal actúa en contra de patógenos como la *Salmonella typhimurium* por la competencia de nutrientes lo cual puede reducir de  $10^8$  a  $10^3$  UFC/ml (32). Esto puede explicar porque el 5 por ciento de las personas son portadoras asintomáticas que pueden eliminar de  $10^1$  a  $10^8$  salmonelas/g. de heces por un periodo de hasta 6 meses, convirtiéndose en un factor de diseminación del agente (12).

### 3.13 Aspectos importantes del aislamiento de *Salmonella*

Las salmonelas pueden crecer en un rango de pH de 4.5 a 9.0, siendo el pH óptimo entre 6.5 y 7.5. El pH de 4 tiene una acción bactericida sobre *Salmonella* y el pH mínimo de crecimiento es de 4.05. Su crecimiento es inhibido con la presencia de un 3 a 4 por ciento de sal (12).

El crecimiento de esta bacteria se da en un rango de temperatura de 7°C a 47°C, siendo la temperatura óptima de crecimiento a 37°C. La tasa de crecimiento se disminuye a 10°C, pero se han encontrado serovares que soportan bajas temperaturas como *Salmonella bredeney*, *S. typhimurium*, *S. agona*, *S. senftenberg* y *S. hadar* (34).

*Salmonella* es resistente a la acción de sales como el tetracionato de sodio, deoxicolato de sodio y al colorante verde brillante, pero si pueden afectar el crecimiento de otras bacterias. Esta propiedad se ha utilizado para su aislamiento, aunque medios de cultivo como el Caldo de enriquecimiento Rappaport-Vassiliadis recupera hasta un 97 por ciento de muestras positivas para *Salmonella* contra un 87 por ciento que recupera el Caldo Tetracionato de Sodio (35).

El Agar entérico Hektoen (HE) y el Agar Rambach (RA) se han utilizado para aislar *Salmonella*, ambos contienen sales biliares que disminuyen el crecimiento de coliformes. El Agar RA posee la ventaja de inhibir el crecimiento de bacterias del género *Proteus sp.*, por el contrario el Agar HE se han reportado crecimientos de *Proteus sp.* y *Citrobacter sp.* que dificultan el aislamiento e identificación de *Salmonella* ya que pueden dar crecimientos coloniales parecidos a los de *Salmonella* (36,37).

Al Agar Xilosa-Lisina-Deoxicolato de sodio (XLD) se le puede agregar el detergente Tergitol 4 (T4) que disminuye el crecimiento de *Proteus sp.* y el Agar Novoviocina-Verde Brillante-Glicerol-Lactosa (NBGL), en el cual, si crece *Proteus sp.* y *Citrobacter sp.* pero no se confunden con las colonias de *Salmonella*, ya que en este medio no producen H<sub>2</sub>S (37).

En un estudio realizado se demostró que hay una mayor obtención de *Salmonella* en Agar HE que en Agar RA; Agar XLD es similar en sensibilidad con el Agar XLDT4 pero ambos son más sensibles que el Agar NBGL y el Agar Bismuto Selenito (37,38).

### 3.14 Contaminación de alimentos por *Salmonella*.

La *Salmonella* puede habitar el intestino del hombre y de animales de sangre caliente y contamina los alimentos por vía fecal, provocando enfermedad al ingerirse estos alimentos constituyendo un problema para salud pública (39).

Lammerding, encontró *Salmonella* en distintos tipos de carne con un 17 por ciento de los casos en carne de cerdo, 2.6 por ciento en carne de vaca, 4.1 por ciento en carne de ternera, 69 por ciento en carne de aves. De carne de gallina se aisló *S. typhimurium*, de cerdo se aisló *S. brandenburg* y de carne de pavo se aisló *S. schwarzengrund* (40).

En la contaminación de huevos de gallina se ha encontrado involucrada *Salmonella enteritidis* por malas prácticas de lavado de huevos o por estar dañada la cáscara del huevo (41).

Generalmente, las salmonelosis están implicadas con alimentos de tipo carnico, leche y huevos, pero se atribuye el 2.2 por ciento de las salmonelosis al consumo de vegetales y verduras. Gayler aisló *S. miami* y *S. bareilly* involucradas en dos salmonelosis por consumo de melones regados con aguas negras (42,43), *S. panama* también se ha relacionado en casos de salmonelosis por vegetales (44).

Coliformes fecales junto ha *Salmonella* se han aislado en carne de mariscos y pescados de agua dulce, por la contaminación del ambiente donde viven (9,45,46).

#### 4. JUSTIFICACIONES

El lago de Amatitlán localizado en el departamento de Guatemala es una importante fuente de agua para varias poblaciones del lugar y además es un recurso económico para muchas familias que viven de la pesca del lago. Actualmente sufre de un deterioro acelerado por el alto grado de contaminación a todo nivel, es por ello que se han realizado evaluaciones de varios parámetros Fisicoquímicos y Microbiológicos del agua para establecer su calidad y así diseñar el plan de acción para el rescate del lago.

Es poca la información que se tiene sobre el grado de contaminación microbiológica que proviene de las aguas negras que se vierten en el lago y que afecta a los peces que habitan estas aguas, los cuales se convierten en un factor de riesgo para la salud humana al ser portadores de microorganismos potencialmente patógenos que son causantes de enfermedades, principalmente, del tipo diarreico, para lo cual se utiliza el análisis de coliformes fecales, para establecer el grado de contaminación fecal y la posible presencia de patógenos.

Es necesario llevar a cabo análisis microbiológicos para obtener datos sobre la cantidad de contaminación fecal y presencia de *Salmonella* en los pescados que son obtenidos de los diferentes puntos de muestreo, para evaluar su calidad microbiológica, además de establecer el grado de contaminación de estos puntos.

## 5. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general:

Estimar el grado de contaminación bacteriológica que afecta a los pescados del lago de Amatitlán.

### 4.2 Objetivos específicos:

4.2.1 Cuantificar el número de coliformes totales y coliformes fecales en los pescados.

4.2.2 Determinar el porcentaje de incidencia de *Salmonella* en los pescados que se analicen en este estudio.

4.2.3 Establecer el grupo serológico al cual pertenecen las bacterias del género *Salmonella* que se aislen de los pescados.

4.2.4 Establecer el punto crítico, en el cual los peces son objeto de una mayor contaminación bacteriológica en el lago de Amatitlán.

## 6. HIPOTESIS

"Existe un alto grado de contaminación fecal en los pescados del lago de Amatilán, lo cual aumenta la probabilidad de aislar bacterias del género *Salmonella*".



## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Universo de trabajo

#### 7.1.1 Población

Es constituida por los peces que habitan las aguas del lago de Amatitlán.

#### 7.1.2 Muestras

Se analizarán un total de cien pescados provenientes de diez puntos de muestreo del lago. Los puntos de muestreo son los siguientes: 1) Silla del niño, 2 y 8) Desembocadura del río Villalobos, 3) Estrechamiento del lago lado-Villalobos, 4) Estrechamiento del lago lado-"El Relleno", 5 y 10) Lado Este o "El Relleno", 6) Desembocadura del río Michatoya, 7) Playa Pública y 9) Playa del IRTRA (Anexo 1).

### 7.2 Recursos

#### 7.2.1 Humanos

- Autor: Br. Javier Francisco Armas Zebadúa
- Asesora: Licda. Karin Herrera

#### 7.2.2 Institucionales

- El Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.2.3 Físicos

**Equipo**

- Balanza semi-analítica (MP-300 Chicago Balan. Corp.)
- Baño de maría (Silata Control Unit CU-80)
- Incubadora
- Estufa
- Agitador tipo vortex (Advantec)
- Stomacher (Lab. Blender 400)
- Refrigeradora
- Mechero tipo Bunsen
- Incinerador para asas bacteriológicas
- Autoclave

**Cristalería**

- Tubo de ensayo de 15 x 150 mm
- Tubo de rosca de 10 x 120 mm
- Tubo de rosca de 15 x 110 mm
- Campanillas de Durham
- Erlenmeyers de 1000 ml
- Erlenmeyers de 500 ml
- Erlenmeyers de 250 ml
- Pipetas serológicas de 10 ml
- Pipetas serológicas de 5 ml

- Pipetas serológicas de 1 ml
- Pipetas pasteur
- Probeta de 1000 ml
- Probeta de 50 ml

### **Reactivos**

- Caldo Lauril Sulfato Triptosa
- Caldo Bilis Verde Brillante
- Caldo Lactosado
- Caldo EC
- Caldo Selenito-Cistina
- Caldo Tetracionato
- Agar XLD
- Agar Hektoen
- Agar MacConkey
- Agar TSI
- Agar LIA
- Solución de Verde Brillante al 0.1%
- Solución de Yodo al 2%
- Solución de Cloruro Férrico al 3%
- Reactivo de Kovacs
- Aceite mineral estéril

- Solución A para Nitratos (Acido Sulfanilico/  
Acido Acético)
- Solución B para Nitratos (Nafilamina/Ac. Acético)
- API 10S
- Petrifilm 3M
- Antisuero polivalente para *Salmonella*

#### Otros

- Alcohol etílico al 70%
- Espátula
- Asas de nicromo de 3 mm de diámetro
- Cajas de Petri
- Tabla de picar plástica
- Cuchillos
- Pinzas
- Algodón
- Ambientizador
- Agua desmineralizada
- Guantes descartables
- Jabón en polvo
- Cepillos para cristalería
- Cloro

### 7.3 Metodología

#### 7.3.1 Determinación de *Salmonella*

Desviscerar los pescados y cortar el resto en pedazos. Pesar 25 g. de muestra y añadir a un erlenmeyer con 225 ml. de caldo lactosado; posteriormente incubar a 35°C por 24 hrs. Tomar una alícuota de 1 ml. del cultivo anterior y sembrar respectivamente en caldo selenito-cistina y en caldo tetracionato; al caldo tetracionato añadir 0.1 ml. de solución de verde brillante al 0.1% y 0.2 ml. de solución de yodo al 2%. Incubar a 35°C de 18 a 24 hrs.

Tomar una asada de caldo tetracionato y sembrar por duplicado, en agar XLD y agar Hektoen; del caldo selenito-cistina tomar una asada y sembrar igual que el caldo tetracionato. como control positivo para el caldo tetracionato, caldo selenito-cistina, agar XLD y agar Hektoen utilizar *Salmonella enteritidis*.

Las colonias sospechosas provenientes de agar XLD o agar Hektoen sembrar en API 10S, agar TSI y agar LIA. Si la identificación es sugestiva de *Salmonella* confirmar por medio de antisuero polivalente para *Salmonella*.

#### 7.3.2 Cuantificación de Coliformes

Pesar 25 g. de pescado desviscerado y añadir a una bolsa para Stomacher con 225 ml. de agua Peptonada al 0.1%; homogeneizar en un Stomacher por unos segundos. Realizar diluciones posteriores en Agua Peptonada al 0.1% desde  $1 \times 10^3$  hasta  $1 \times 10^6$ .

De las diluciones  $1 \times 10^3$  a  $1 \times 10^5$  inocular 1 ml. de cada una en 5 tubos conteniendo 9 ml. cada uno de caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST) y campanilla de Durham e incubar a  $35^\circ\text{C}$  de 24-48 hrs. en baño de maria.

De los tubos con LST que resulten positivos, inocular una asada en caldo Bilis Verde Brillante (BVB) y una asada en caldo EC. Los tubos con BVB incubar a  $35^\circ\text{C}$  en baño maria y los tubos con EC incubar a  $44.5^\circ\text{C}$  en baño maria, ambos por un periodo de 24-48hrs.

De las diluciones  $1 \times 10^4$  a  $1 \times 10^6$  sembrar 1 ml. en Placas Petrifilm 3M para coliformes totales. Incubar las placas a  $35^\circ\text{C}$  de 15 a 24 hrs. Contar las UFC/g.

Utilizar *Escherichia coli* ATCC 25922 como control positivo del caldo LST, BVB y EC, así como de las placas Petrifilm 3M.

#### 7.4 Diseño experimental

##### 7.4.1 Número de muestra

El número de muestra se efectúo según los siguientes cálculos:  $n = NC^2 \sigma^2 / l^2$  donde :  
NC es Nivel de Confianza (95%);  $\sigma^2$  es la varianza ( $p \cdot q$ );  $l^2$  es el límite de error.

$$\text{Por tanto: } n = (1.96)^2 (0.25)^2 / (0.05)^2 = 96$$

La investigación que posee una parte de tipo descriptivo se llevará a cabo con un número de cien muestras en diez puntos de muestreo elegidos.

#### 7.4.2 Análisis estadístico

El análisis estadístico está constituido por dos partes:

a) Los resultados de la presencia de *Salmonella* y de la cantidad de coliformes totales y fecales serán evaluados mediante estadística descriptiva.

b) Para determinar si existe diferencia significativa entre los lugares de muestreo, con respecto al grado de contaminación, se utilizará el Análisis de Varianza de una vía con las siguientes hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 \dots \mu_5$$

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2 \dots \mu_5$$

Si existe diferencia significativa entre los grupos (se rechaza  $H_0$ ), se procederá a efectuar comparaciones múltiples de Fisher o Mínima Diferencia Significativa (LSD).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
BIBLIOTECA

### 8. RESULTADOS

Se trabajó un total de cien pescados que se muestrearon en los siguientes lugares: 1) Silla del niño, 2 y 8) Desembocadura del río Villalobos, 3) Estrechamiento del lago lado Villalobos, 4) Estrechamiento del lago lado "El Relleno", 5 y 10) Lado Este o "El Relleno", 6) Desembocadura del río Michatoya, 7) Playa pública y 9) Playa del IRTRA.

Tabla No. 1

#### AISLAMIENTO DE SALMONELLA EN LOS PESCADOS DEL LAGO DE AMATITLAN

	<u>Bacteria aislada:</u> CF	PM	ET	PV	EC	TOTAL	S	NC
<u>Porcentaje :</u>	57	15	11	4	3	90	1	9

CF : *Citrobacter freundii* ; PM : *Proteus vulgaris*, ET : *Edwardsiella tarda*, PV : *Proteus vulgaris*, EC : *Escherichia coli*, S : *Salmonella enteritidis*, NC : no hubo crecimiento de bacterias productoras de H<sub>2</sub>S o sugestivas de *Salmonella*.

Se obtuvo uno por ciento de *Salmonella enteritidis* del grupo B aislada de un pescado muestreado en el lugar conocido como Silla del Niño . Se aislaron otras bacterias productoras de H<sub>2</sub>S distintas de *Salmonella* a partir de Agar XLD y Hektoen , que juntas representan el 90 por ciento del total de las muestras, de las cuales la enterobacteria



*Citrobacter freundii* estuvo presente en la mayoría de los pescados, seguida de *Proteus mirabilis*, *Edwardsiella tarda*, *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli* (productora de  $H_2S$ ) como se observa en la Tabla No. 1 .

La cuantificación en UFC/ g. de coliformes totales se realizó por conteo aeróbico donde se obtuvieron crecimientos bacterianos en las diluciones realizadas que comprendían desde 1 :1,000 a 1 : 1,000,000.

La menor cantidad de UFC/g. se obtuvo en una muestra del lugar conocido como El Relleno o Lado este del lago con 2,000 UFC/g. de coliformes totales y el lugar donde se obtuvo el mayor recuento fue la desembocadura del río Villalobos con 320,000 UFC/g. de coliformes totales con un promedio de 300,000 UFC/g.

La distribución de los resultados de cada pescado de UFC/g. se puede observar en el Anexo No.2.

La cuantificación de coliformes fecales se realizó por medio de Número Más Probable con 5 tubos por cada dilución, a continuación en la Tabla No. 2 se muestra el porcentaje de muestras que dieron un determinado NMP/g .

Tabla No. 2

## Coliformes Fecales NMP/g. de pescado (5 tubos)

<u>NMP</u> <sup>+</sup> %	<u>NMP</u> %	<u>NMP</u> %	<u>NMP</u> %	<u>NMP</u> %
2 18	9 3	17 8	34 1	134 1
4 5	11 5	22 4	49 5	170 1
5 4	12 2	23 6	79 2	249 3
7 9	13 10	27 1	94 2	540 1
8 2	14 1	33 3	110 2	920 1
<u>TL</u> <sup>+</sup> : 38	<u>21</u>	<u>22</u>	<u>12</u>	<u>7</u>

NMP<sup>+</sup>: NMP/g. está en el orden de  $1 \times 10^4$ . TL<sup>+</sup>: porcentaje total de muestras comprendidas en el NMP/g. correspondiente.

Coliformes fecales NMP/g. (5 tubos) de  $2 \times 10^4$  se encontró en pescados que pertenecen principalmente a las especies siguientes: *Cichlasoma managuense*, *Cichlasoma nigrafasciatum* y *Tilapia mossambica*, en las áreas de la Silla del Niño, Estrecho del lago, Relleno y Desembocadura del río Michatoya; se encontró coliformes cales con un NMP (5 tubos) de  $920 \times 10^4$  en la Desembocadura del río Michatoya.

En el Anexo No. 3 se puede observar la distribución del NMP/g. de cada pescado según el lugar donde fue realizado el muestreo.

## 9. DISCUSION DE RESULTADOS

La primera parte de la investigación que comprendió el aislamiento de *Salmonella* nos muestra que se aislaron otras bacterias productoras de  $H_2S$  que también crecen en Agar XLD y Agar Hektoen como : *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Edwardsiella tarda*, *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli*. Aunque, estas bacterias presentan crecimientos coloniales distintos de *Salmonella* en los agares utilizados, se aislaron también por que hay ciertas cepas de *Salmonella* que pueden dar crecimientos atípicos que se podrían confundir con las bacterias antes mencionadas.

*Citrobacter*, *Proteus* y *Escherichia coli* son lactosa positivo en Agar XLD y en Agar Hektoen permanecen del color del medio (verde claro). La producción de  $H_2S$  (ácido sulfídrico) es distinta entre cada género de bacterias productoras de  $H_2S$ , *Citrobacter* produce mayor cantidad de esta sustancia en relación a su citoplasma, misma relación que es menor en *Salmonella* ya que en este género hay mayor relación citoplasma que  $H_2S$ , *Edwardsiella tarda* es la que tiene un crecimiento en Agar XLD muy similar a *Salmonella*, ya que ambas colonias son lactosa negativo (transparentes en el medio) pero con la diferencia que la producción de  $H_2S$  por *E. tarda* es puntiforme y en menor cantidad que *Salmonella*.

Es importante hacer notar que se obtuvo tres por ciento de cepas de *Escherichia coli* productoras de  $H_2S$  aisladas de Agar XLD ; lactosa positivo y similares a las colonias de *Citrobacter freundii* y colonias atípicas de *Salmonella*, identificándose por medio de la prueba comercial "API 10 S".

El grado de contaminación microbiológica es bastante considerable en los pescados del lago de Amatilán, por lo que se pensó que habría una gran posibilidad de aislar *Salmonella*, lo cual no fue así, ya que sólo se obtuvo uno por ciento de *Salmonella enteritidis* del grupo B; la elevada cantidad de coliformes totales y coliformes fecales pudieron inhibir el crecimiento de esta bacteria al competir por los nutrientes en los caldos y agares de cultivo; la hipótesis de esta investigación por lo tanto fue rechazada, pero eso no quiere decir que haya sólo uno por ciento de *Salmonella* en estos pescados, sino que se hace más difícil aislar esta bacteria en ambientes altamente contaminados por estos microorganismos.

Los conteos aeróbicos en placa de coliformes totales fueron bastante elevados en los pescados muestreados, pero estos valores no necesariamente indican contaminación microbiológica de tipo fecal, ya que las bacterias que conforman este grupo pueden habitar normalmente en suelos, mantos acuáticos u otro tipo de ambiente.

Los coliformes fecales cuantificados por la técnica de Número Más Probable o Fermentación de tubos múltiples, muestran el alto grado de contaminación fecal, al que son expuestos los peces que habitan este lago, proveniente de aguas residuales de origen domiciliar e industrial que son vertidas principalmente en el río Villalobos que desemboca en el lago.

La estructura urbana se caracteriza por la presencia de un fenómeno de macrocefalia creciente en torno a la ciudad de Guatemala, fenómeno que está incidiendo en el deterioro de la calidad de vida dentro del espacio urbano mínimo, extendiendo ya una grave crisis en cuanto a la dotación de servicios y aprovisionamiento del recurso de agua que brinda el lago

de Amatitlán a los municipios que le circundan..

La contaminación bacteriológica aparentemente está distribuida homogéneamente en los distintos puntos del lago, contradictorio a lo que reporta la Autoridad para el Rescate del Lago de Amatitlán (ARRLA) la cual reporta el lugar de la desembocadura del río Villalobos como la que tiene la mayor contaminación microbiológica y el lugar con menor contaminación es el "Relleno" o lado este del lago, con la diferencia que ARRLA realiza muestreos del agua y no de los peces. Los peces por ser organismos vivos y móviles no se puede tener la seguridad de que el pez de un determinado punto de muestreo sea contaminado en el lugar donde fue pescado y existe la posibilidad de que haya adquirido la contaminación en un lugar cercano o lejano donde se efectuó la pesca, lo cual también se ve afectado por el movimiento de el agua ocasionado por las corrientes existentes en el lago de Amatitlán.

## 10. CONCLUSIONES.

- 10.1.- Los pescados del lago de Amatitlán, pertenecen básicamente a tres especies: *Chilasona managuense* (guapote), *Chilasona nigrofasiatum* (mojarra negra) y *Tilapia mossambica* (tilapia), contienen un alto grado de contaminación fecal.
- 10.2.- El porcentaje de *Salmonella* en los pescados del lago Amatitlán fue del uno por ciento.
- 10.3. El aislamiento de *Salmonella enteritidis* del grupo B y de otras bacterias potencialmente patógenas productoras H<sub>2</sub>S como : *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Edwardsiella tarda* y *Escherichia coli* de los pescados es debido al alto grado de contaminación fecal a la que son expuestos los peces.
- 10.4.- No se pudo determinar por medio de los resultados obtenidos en base a los coliformes totales y a los coliformes fecales un punto crítico en el cual los peces fueran sometidos a una mayor contaminación bacteriológica, el cual permitiera establecer diferencias en los distintos lugares de muestreo.

## 11.RECOMENDACIONES.

11.1- Buscar una nueva metodología para aislar *Salmonella* de ambientes altamente contaminados microbiológicamente para que inhiba en una forma más efectiva las elevadas concentraciones de otras bacterias, principalmente del tipo fecal.

11.2- Si se utiliza pescados para tratar demostrar grado de contaminación de un lago sería recomendable utilizar los peces nativos pero colocándolos en lugares cercados o enjaulados en los puntos donde se pretende monitorear la contaminación, para que los peces adquieran de una manera más uniforme la contaminación a la que son expuestos en un determinado punto. El fin de enjaularlos, sería para tener la certeza de que los peces se contaminaron en un determinado sitio. Además se podría controlar otros factores como alimentación, profundidad del agua, temperatura, etc., para disminuir cualquier variabilidad.

## 12. REFERENCIAS

1. Autoridad para el Resguardo y Rescate para el Lago de Amatitlán (ARRLA). Pronostico para el desarrollo de programas de saneamiento integral del lago de Amatitlán definido por ARRLA como una prioridad en el sector de saneamiento ambiental. Guatemala: 1995.
2. Duarte Monroy G. Amatitlán y yo. Guatemala: Serviprensa Centroamericana, 1988. 79p.
3. Presidencia de la República. ¿Se salvará el lago de Amatitlán?. Guatemala: Prensa Libre, 1996; 14500:30.
4. Bautista GF. Contaminación del lago de Amatitlán. Prensa Libre 1996;14576:3.
5. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. La contaminación internacional para la pesca. Roma: 1971. 99p.
6. Bautista GF. Carga de desechos aportada en el lago de Amatitlán. Prensa Libre 1997;14722: 2.
7. Solom EP, Davis PV. Biología. México: Ed. Interamericana, 1991. 1342p. (p.1278-1282)
8. García Trejo R. Amatitlán pierde la última batalla. El Gráfico: 6/Oct./1996.
9. Nedoluha PC, Westhoff D. Microbiological flora of aquacultured hybrid stiped bass. J. Food Prot. 1993;56: 1054-1060.



10. Vanderzant C, Splittstoesser D. Compendium of methods for the microbiological examinations. 3 ed. Washington: American public health association, 1992.
11. OPS. Guías para la calidad del agua potable. Vol.3 Washington: OPS, 1992. 132p.
12. Almeida C, et al. Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América latina. OPS: 1996. 176p.(p.12-21).
13. James J. Modern food microbiology. 3 ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 641p.
14. Samayoa Campos Ma. Implicaciones en trasmisión de enfermedades diarreicas de los productos hortícolas de hoja verde que se consumen frescos. Guatemala: USAC, (tesis de graduación, Fac. de CCQQ y Farmacia) 1985. 60p.
15. Castillo Valdez R. Determinación en cremas y quesos no maduros de Coliformes y *S. aureus*, basándose en normas COGUANOR vigentes. Guatemala: USAC, (tesis de graduación, Fac. de CCQQ y Farmacia) 1993. 95p.
16. Mossel DA, Struijk CB. *E.coli* other Enterobacteriaceae and additional indicators as markers of microbiologic quality of food, advantaged and limitations. Microbiología. 1995;11:75-90.

17. Roth LA, et al. Extended incubation of LST and BBG tubes and the MNP, estimates of coliforms. *J. Food Prot.* 1994;57:740-742.
18. Arhold G, et al. *Standars methods for examination for water and wastewater.* 18 ed. Virginia: 1992.
19. Matner RR, et al. Efficacy of Petrifilm *E.coli* count plates for *E.coli* and coliforms enumeration. *J. Food Prot.* 1990;53:145-150.
20. Adams MR, et al. Colorimetric enumeration based on *Escherichia coli* B-glucoronidase activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 1990;56:2021-2024.
21. Nelson E. Evaluation of dry media film Petrifilm VRB for coliform enumeration. *J. Food Prot.* 1984;47:520-525.
22. McFeters GA, et al. Comparative performance of Colisure and accepted methods in the detection of cholerae injured total Coliforms and *E.coli*. *Wat. Sci. Tech.* 1995;31:259-261.
23. Berger SA. Ability of Colinert method to recover oxidant-stressed *Escherichia coli*. *Let. Appl. Micro.* 1991;13:246-250.
24. Edberg SC, Allen MJ, Smith DB. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total Coliforms and *Escherichia coli* from drinking water: comparison with the standard multiple tube method. *Appl. Environ. Microbiol.* 1988;54:1595-1601.

25. Koneman EW, et al. Diagnóstico microbiológico. 3 ed. Buenos Aires: Ed. Med. Panamericana, 1992. 909p. (p.229-230)
26. Bichler LA, et al. Plasmid diversity in *Salmonella enteritidis* of animal poultry, and human origin. J. Food Prot. 1994;57:4-11.
27. Swamy SC, et al. Virulence determinants invA and spvC in *Salmonella* isolated from poultry products, wastewater and human sources. Appl, Enviro. Microbiol. 1996;62:3768-3737.
28. Le Clerc JE, et al. High mutation frequencies among *Escherichia coli* y *Salmonella* pathogens. Science 1996;274:1208-1210.
29. Scotland MS. Toxins. J. Appl. Microbiol. 1988;65:109-129.
30. Koo FCN, et al. Pathogenesis of experimental salmonellosis: inhibition of protein synthesis by citotoxin. Infect. Immun. 1984;43:443-449.
31. OPS, División de Control de enfermedades transmisibles, programa de salud pública veterinaria. Guía técnica para el riesgo microbiológico de alimentos vendidos en la vía pública. Washington: OPS, 1994.
32. Coleman ME, et al. A simulation of microbial competition in the human colonic ecosystem. Appl. Environ. Micro. 1996; 62:3262-3639.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA

33. Simonsen B, et al. Report from the international commission on microbiological specification for foods. Prevention and control of food-borne salmonellosis through application of hazard analysis critical point (HACCP). *Int. J. Food Microbiol.* 1987;4:227-47.
34. Alcock SJ. Survival and growth of salmonellae at chill temperature. *Proc. Chill food Symposium.* 1985.
35. Vassiliadis P, et al. Isolation from fluid milk with the use of Rapaport-Vassiliadis medium. *J. Food Prot.* 1991;54:421-23.
36. Yuno MM, et al. Evaluation of selective culture media for the isolation of *Salmonella* from poultry. *Rev. Argent. Microbiol.* 1995;27:57-69.
37. Herbet D, Altwegg M. Evaluation of five new plating media for isolation of *Salmonella* species. *J. Clinical Microbiol.* 1995;33:802-804.
38. Hu CJ, Gibbs RA. A comparison of culture methods for the detection of *Salmonella* in wastewater sludge. *Wat. Sci. Tech.* 1995;31:303-306.
39. Organización Panamericana de la Salud. Nuestro planeta, nuestra salud; Informe de la comisión de la salud y el medio ambiente de la OMS. Washington: 1993. 301p.(p.72-78)
40. Lammerding AM, et al. Prevalence of *Salmonella* and thermophilic *Campylobacter* in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada. *J. Food Prot.* 1988;51:47-52.

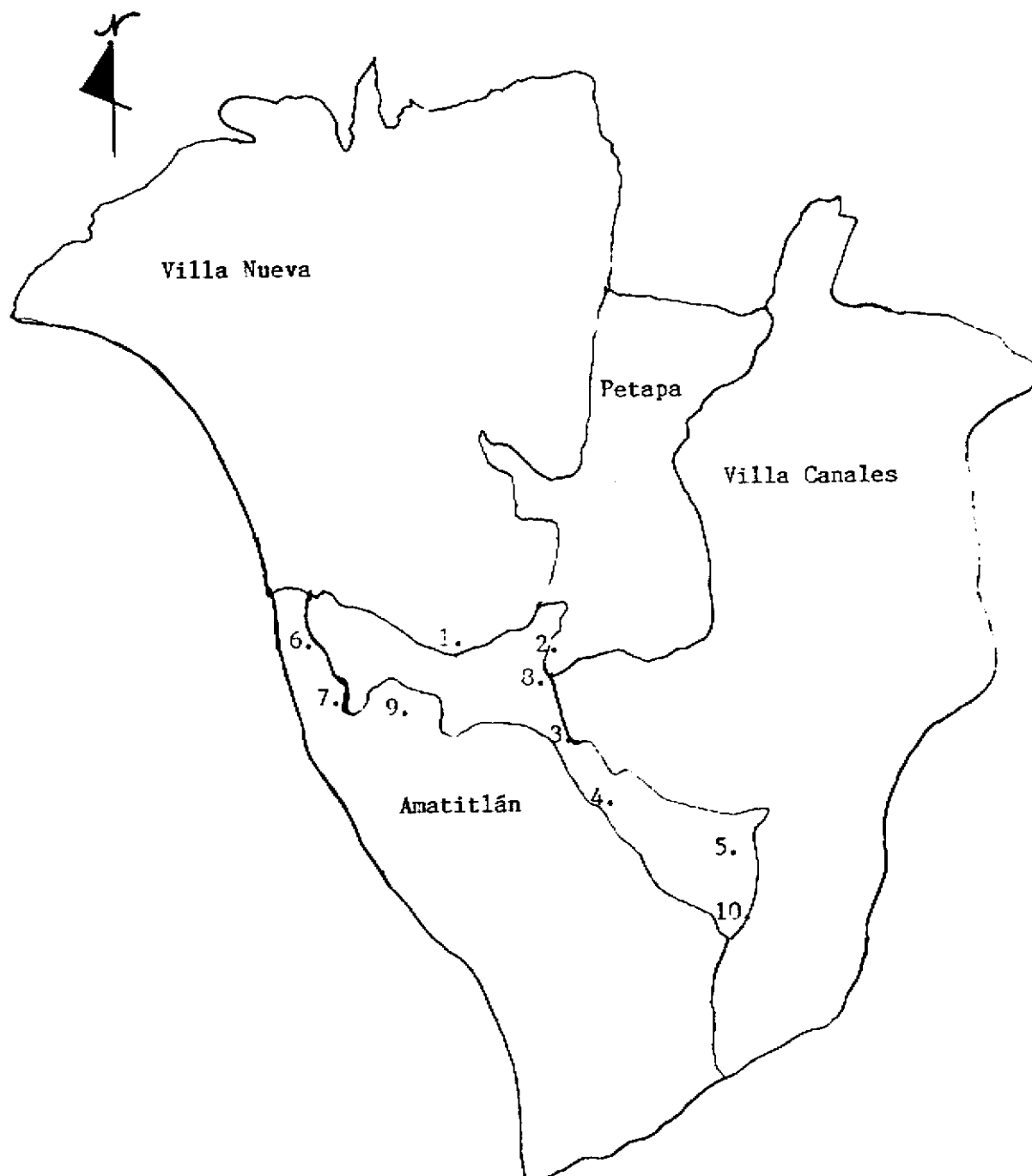
41. Catalana CR, Knabel SJ. Incidence of *Salmonella* in Pennsylvania egg processing plants and destruction by high pH. J. Food Prot. 1994;57:587-591.
42. Wrigley DM, Llorca NG. Decrease of *Salmonella typhimurium* in skin, milk and egg by heat and ultrasonic wave treatment. J. Food Prot. 1992;55:678-680.
43. Golden DA, Rauter DA. Growth of *Salmonella* spp. in cantalope, watermelon and honeydew melons. J. Food Prot. 1993;56:194-96.
44. Cordano Am, Virgilio R. Evolution of drug resistance in *Salmonella panama* isolates in Chile. Antimicrob. Agents Chemother. 1996;40:336-41.
45. Martínez EM, et al. Relationship between indications of fecal pollution in shellfish-growing water and the occurrence of human pathologic microorganism in shellfish. J. Food Prot. 1992;5:609-614.
46. Chay TJ, et al. Microbiological studies of Chesapeake bay soft-shell clams (*Mya arenaria*) J. Food Prot. 1990;53:1052-1057.

**13.ANEXOS**

Anexo No. 1

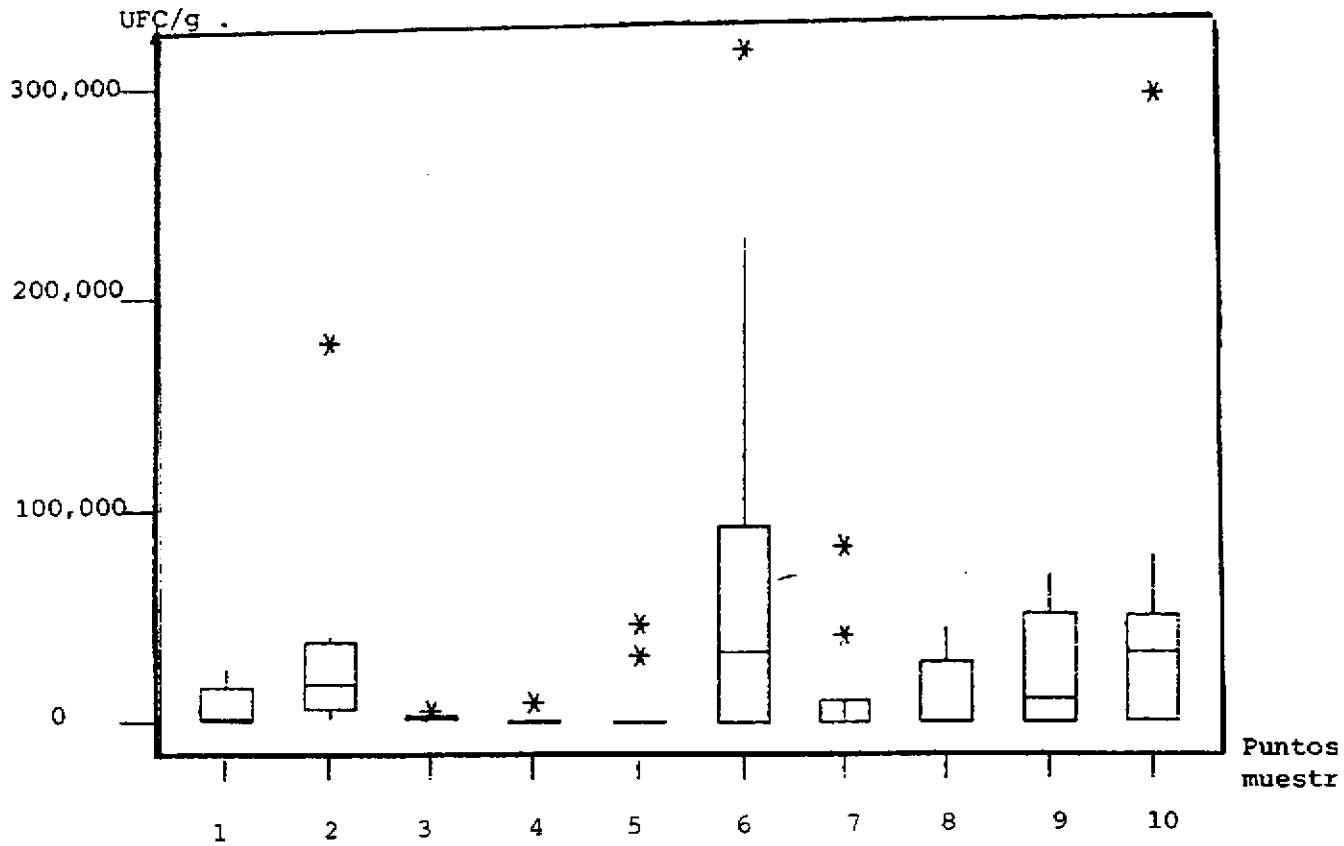
**PUNTOS DE MUESTREO EN EL LAGO DE AMATITLÁN**

- 1) Silla del Niño, 2 y 8) Desembocadura del río Villalobos, 3) Estrechamiento del lago-lado Villalobos, 4) Estrechamiento del lago lado-"El Relleno", 5 y 10) Lado Este o "El Relleno", 6) Desembocadura del río Michatoya, 7) Playa Pública y 9) Playa del IRTRA .



Anexo No. 2

COLIFORMES TOTALES SEGUN LOS PUNTOS DE MUESTREO

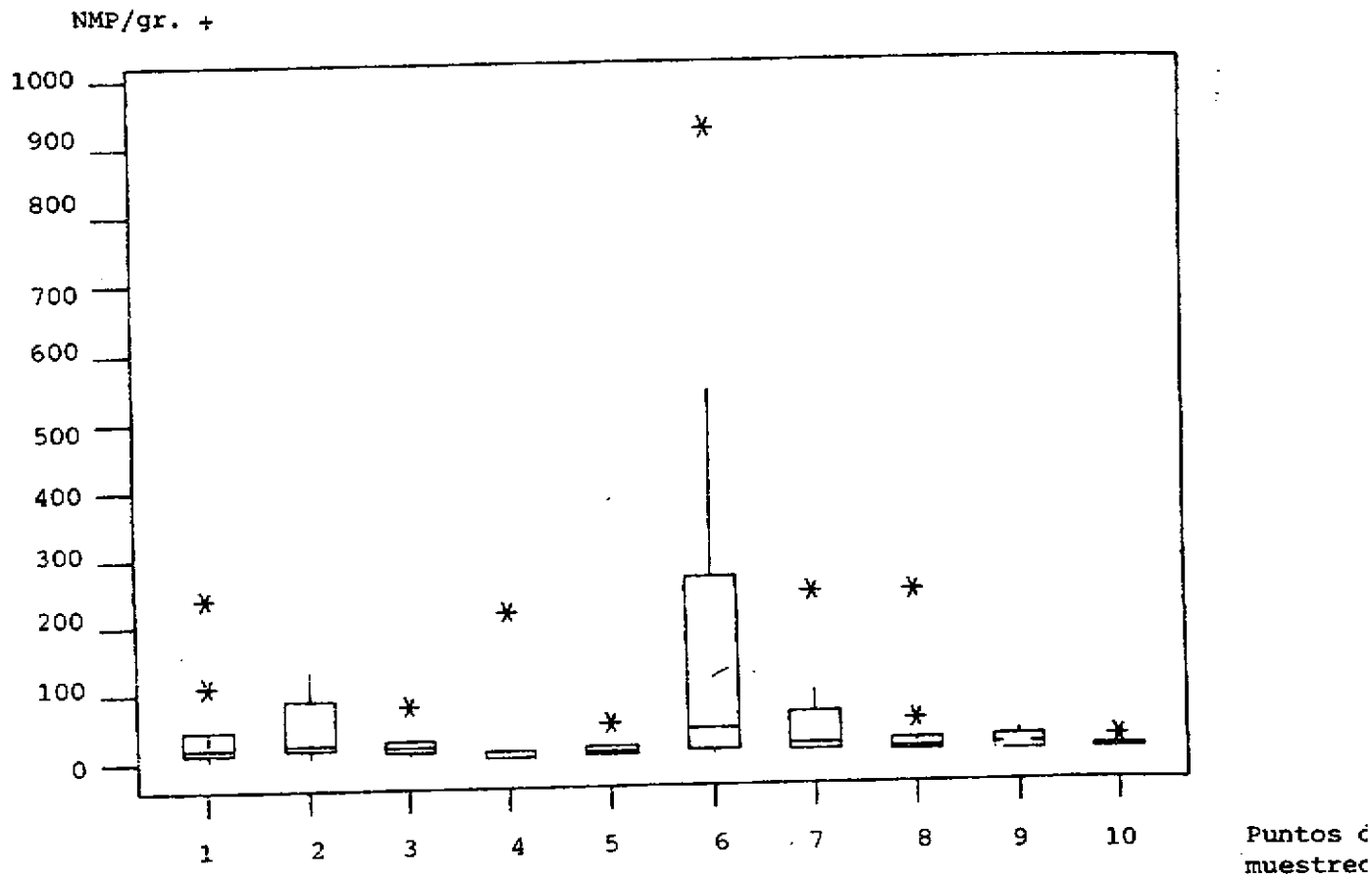


- 1: Silla del Niño; 2: Desembocadura del río Villalobos  
3: Estrechamiento del lago lado Villalobos; 4: Estrechamiento del lago lado "El Relleno"; 5: Lado Este o "El Relleno"; 6: Desembocadura del río Michatoya; 7: Playa Pública; 8: Desembocadura del río Villalobos; 9: Playa del IRTA; 10: Lado Este o "El Relleno".



Anexo No. 3

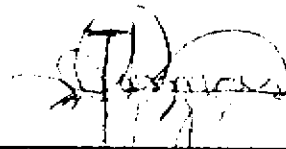
Coliformes Fecales NMP/g . de pescado (5 tubos)  
según los puntos de muestreo.



+: NMP/gr. está en el orden de  $1 \times 10^4$ .

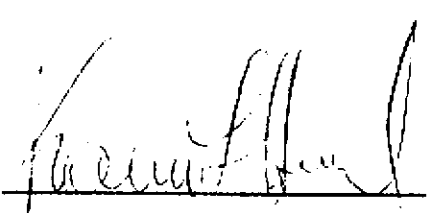
1: Silla del niño; 2: Desembocadura del río Villalobos; 3: Estrechamiento del lago lado Villalobos; 4: Estrechamiento del lago lado "El Relleno"; 5: Lado Este o "El Relleno"; 6: Desembocadura del río Michatoya; 7: Playa Pública; 8: Desembocadura del río Villalobos; 9: Flaya del IRTRA; 10: Lado Este o "El Relleno".

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
Biotecnología



---

**Jr. Javier Francisco Armas Zebadúa.**  
**Tesista**



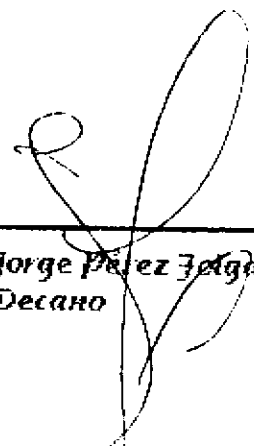
---

**Licenciada Karin Herrera**  
**Asesora**



---

**Licenciado Gerardo Arroyo Catalán**  
**Director**



---

**Licenciado Jorge Pérez Folgar**  
**Decano**