

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

**Determinación de *E. coli*, colifagos y parásitos helmintos
en cuatro microcuencas del Lago de Amatitlán**

Carlos Enrique Villatoro Castillo

Químico Biólogo

Guatemala, Julio de 2012

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

**Determinación de *E. coli*, colifagos y parásitos helmintos
en cuatro microcuencas del Lago de Amatitlán**

Informe de Tesis

Presentado por

Carlos Enrique Villatoro Castillo

Para optar al título de

Químico Biólogo

Guatemala, Julio de 2012

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Porque a pesar de que aveces me he encontrado lejos, su voz siempre ha sonado dentro de mí, dándome fuerzas para seguir adelante y así poder cumplir cada deseo de mi corazón.

A MIS PADRES: Por ser un ejemplo de integridad, rectitud y honradez que me han llevado hoy a ser una persona de bien.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA y FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA: Por abrirme la puerta del conocimiento a través de la educación y por enseñarme el fascinante mundo de la ciencia.

AL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA: Por permitirme llevar a cabo este trabajo de investigación, en especial a la Dra. Karin Herrera del LAMIR, por aceptar la asesoría de esta tesis.

A AMSA: Por patrocinar esta investigación y por asignar al Msc. Hayro García como asesor, quien fue un gran apoyo para el desarrollo del proyecto.

A MIS CATEDRATICOS: Por tratar siempre de sembrar un poco del saber en mí y por desempeñar de forma extraordinaria la labor docente, la cual no hace otra cosa más que inspirar vidas. Especialmente a la Licda. Julieta de Pezzarossi (+) por sus consejos y regaños que aún hoy son recordatorios en mi vida, a la Licda. Noemí Orozco, por su paciencia para enseñarme Orgánica demostrando ser una excelente maestra, a la Licda. Ana Rodas, por ayudarme cuando las cosas se pusieron difíciles. Y a todos y cada uno que contribuyeron en mi formación académica.

A MIS COMPAÑEROS DE CLASE Y AMIGOS: Por haber compartido tanto tiempo en esos salones de clases, que sin duda ha sido una de las mejores épocas de mi vida.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: Por ser luz a mis pies en este camino de la vida. A Él sea toda la Gloria.

A MIS PADRES: Juan Daniel Villatoro y Argelia Castillo, por sacrificarse para que yo pudiera alcanzar esta meta, por sus palabras de aliento y por creer siempre en mí. Los amo con todo mi corazón y espero poder regresar un poco de tanto que me han dado.

A MIS HERMANOS: Dany, Ivón y Jorge, por ser la mejor compañía que Dios puso en mi vida.

A MIS AMIGOS Y AMIGAS: Por ser una parte importante en mi vida, gracias por cada risa, cada historia, cada fiesta y por estar ahí, no sólo en los momentos alegres sino también en los problemas, para brindar una ayuda o para reírnos de ellos. En especial a Carlos Vargas coautor de este trabajo de tesis jeje (I'll never forget!!).

INDICE

CONTENIDO	PÁGINAS
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	4
A. Generalidades	4
a. Cuenca hidrográfica	4
b. Cuenca del lago de Amatitlán	4
B. Aguas residuales o urbanas	5
C. Materia sólida del agua residual	6
a. Compuestos orgánicos del agua residual	7
b. Compuestos inorgánicos del agua residual	8
D. Tratamiento de aguas residuales	8
a. Mecanismos de depuración biológica	9
b. Proceso de lodos activados	10
c. Eliminación biológica de materia orgánica	10
d. Eliminación biológica simultánea de nutrientes	11
i. Nitrificación	11
ii. Desnitrificación	11
iii. Acumulación potenciada de fósforo	11
iv. Redisolución de fósforo	11
E. Componentes microbianos del agua residual	12
a. Bacterias	12
i. Grupo coliforme	12
b. Parásitos	14
c. Virus	15
i. Virus como indicadores de contaminación	15
F. Autoridad para el Manejo Sustentable de La cuenca y del Lago de Amatitlán	16
a. Proyectos de AMSA	16

i. Rescatando al lago de Amatitlán	16
ii. Programa de Educación Ambiental	17
iii. Programa de Control Ambiental	17
IV. JUSTIFICACIÓN	18
V. OBJETIVOS	19
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	20
A. Universo de trabajo	20
B. Recursos	20
C. Materiales	20
D. Metodología	22
E. Diseño estadístico	25
F. Análisis de resultados	26
VII. RESULTADOS	27
VIII. DISCUSION DE RESULTADOS	31
IX. CONCLUSIONES	33
X. RECOMENDACIONES	34
XI. REFERENCIAS	35
XII. ANEXOS	38

I. RESUMEN

Se evaluaron los parámetros microbiológicos *E. coli*, colifagos y parásitos helmintos en cuatro cuencas tributarias al lago de Amatitlán (El Frutal, El Zacatal, Pinula, y Villalobos) para lo cual se realizaron tres muestreos durante la época seca, en los meses de abril a mayo y tres durante la época lluviosa en los meses de junio y julio, para establecer si existía diferencia significativa entre los puntos de muestro y entre épocas. Para llevar a cabo la determinación de los parámetros bacteriológicos, se utilizaron las técnicas de filtración por membrana y recuento aeróbico total, para la cuantificación de huevos de helmintos se utilizó la clarificación por sedimentación.

Con relación a los coliformes totales se encontró que no existe diferencia significativa ($p= 0.975$) tanto entre los puntos de muestreo como entre las épocas seca y lluviosa, sin embargo, para coliformes fecales se evidenció un aumento considerable en la microcuenca conocida como el Zacatal con respecto a los otros puntos muestreados.

El análisis de parásitos helmínticos evidenció que durante la época seca los recuentos de helmintos son menores respecto a los de la época lluviosa, debiéndose esto probablemente al arrastre que sufren estos cuerpos de agua durante el invierno disminuyendo la cantidad de huevos que pueden cuantificar.

La *E. coli* y los colifagos estuvieron presentes en todos los muestreos, en los puntos de muestreo y en las diferentes épocas del año, lo que evidencia el alto grado de contaminación fecal que se descarga o se deposita en los ríos. Esto contribuye a elevar los niveles de contaminación del Lago de Amatitlán.

Al analizar los resultados de esta investigación se deduce la necesidad de promover el tratamiento de aguas de desecho por parte del sector industrial, así como de la concientización de la población de las microcuencas para el correcto manejo de los desechos de origen doméstico, ya que estas malas prácticas han conducido al deterioro paulatino y constante de este cuerpo de agua. El impacto de la contaminación de los afluentes finalmente repercute en el Lago.

II. INTRODUCCIÓN

El agua es un factor que puede convertirse en un vehículo para la adquisición de diversas enfermedades en el ser humano. Actualmente, existen descritas más de 20 enfermedades en las que el agua actúa directa o indirectamente en su aparición, algunas de ellas con alto impacto en términos de morbilidad y mortalidad. La contaminación fecal de la tierra o el agua es frecuente en zonas de escasos recursos, carentes de servicios sanitarios y en donde la defecación se hace en el suelo, favoreciendo que quistes huevos y larvas de helmintos se hagan infectantes (geohelminiasis), otros pueden ser transmitidos por contaminación fecal de las manos o los alimentos (1,2).

Las condiciones ambientales, clima cálido, precipitación pluvial, vegetación abundante y falta de drenajes, propician la diseminación de helmintos. En la cuenca del lago de Amatitlán, viviendas precarias, sin condiciones de salubridad (agua potable y disposición adecuada de excretas), aglomeración familiar, falta de educación de la población, extensas áreas rurales, junto a la cría inadecuada de animales alrededor de la casa, son factores que favorecen las parasitosis y la diseminación de zoonosis parasitarias. Los factores que determinan la presentación y distribución de estas enfermedades parasitarias son importantes para comprender, interpretar y diseñar programas de control (3).

A causa de las enfermedades de origen hídrico y el interés de controlarlas, los estudios bacteriológicos del agua se han orientado, en su mayor parte, hacia sus aspectos sanitarios. Uno de los criterios, utilizado para determinar la calidad sanitaria del agua, es la clase y número de bacterias que se encuentran presentes. En general, los métodos utilizados están diseñados para detectar el grado de contaminación del agua con desechos de origen humano y/o animal. Tradicionalmente se han usado ensayos para la determinación de microorganismos indicadores más que para la determinación de patógenos. Los métodos usados para el aislamiento y recuento de microorganismos patógenos en agua y alimentos pueden no ser eficaces debido a que dichos microorganismos se encuentran en muy baja cantidad. Aún cuando se cuenta con métodos sensibles, en general son largos y costosos, además hay patógenos que no pueden determinarse en laboratorios no especializados, como por ejemplo, los causantes de enfermedades de tipo viral como la hepatitis A (3,4).

Los coliformes fecales, *E. coli*, colifagos y parásitos helmínticos son utilizados como indicadores de contaminación fecal, su uso ha presentado algunas desventajas, ya que han sido reportados casos de enfermedades entéricas por consumo de agua, en la cual no se había detectado coliformes; aunque se presume que algunos de estos casos pueden deberse a la infección por *E. coli* que luego es infectada por los colifagos, imposibilitando su detección como coliformes. Por esta razón los virus que infectan a *E. coli* conocidos como colifagos pueden ser mejores indicadores de contaminación fecal. La presencia de colifagos en heces humanas y desagües es constante y su detección es fácil y rápida. Los colifagos han sido aislados fácilmente de aguas contaminadas conjuntamente con los coliformes totales y termotolerantes (4).

En el presente estudio se evaluó la calidad microbiológica del agua de cuatro microcuencas tributarias del lago de Amatitlán; El Frutal, El Zacatal, Pinula y Villalobos durante las épocas seca y lluviosa del año, midiendo como parámetros la presencia de coliformes fecales y *E. coli*, así como la determinación de colifagos y parásitos helmínticos. Estas determinaciones forman parte de un proyecto de rescate del lago de Amatitlán impulsado por el Gobierno de Guatemala, en el cual paralelo a los muestreos a la vez se implementan procesos de saneamiento de las aguas tributarias al lago de Amatitlán.

III .ANTECEDENTES

A. Generalidades

1. Cuenca hidrográfica

Es un área geográfica en donde interactúan componentes físicos, biológicos y socioeconómicos; está enmarcada dentro de una división superficial de aguas que convergen hacia los puntos más bajos de la superficie y se unen en una corriente o río que las evacua a otro río, un lago u océano y está constituida por la vertiente y los vasos de avenamiento . Es la unidad territorial en la cual el agua que cae por precipitación se reúne y escurre a un punto en común o que fluye toda al mismo río, lago, o mar. En esta área viven seres humanos, animales y plantas, todos ellos relacionados. La cuenca hidrográfica se subdivide en subcuenca, la que se define como la unidad de drenaje de menor superficie de una cuenca y que forma parte de esta, constituyendo un tributario de la misma, o sea una cuenca que sale o que drena a una cuenca más grande, y microcuenca la cual es la mínima unidad territorial de drenaje dentro de una cuenca y tributaria de una subcuenca (2,3).

2. Cuenca del Lago de Amatitlán

La cuenca del Lago de Amatitlán es una subcuenca del río Maria Linda, y se ubica dentro de las coordenadas, 14°23'25'' y 14°40'25'' latitudes Norte 90°27'15'' longitud oeste meridiano de Greenwich y comprende de una extensión de 381.31 Km². Los límites de la Cuenca del Lago de Amatitlán son: al Norte con la divisoria continental de aguas (Calzada Roosevelt y Boulevard Liberación siguiendo lo Arcos de la Ciudad de Guatemala) y la cuenca del río Motagua de la Vertiente del Océano Atlántico, al Oeste con la cuenca del río Achiguate; al Este con la cuenca del río Los Esclavos; al Sur con el río Michatoya y parte media del río Maria Linda, que constituye una de las cuencas de la vertiente del Pacífico (4,5, Anexo 6).

La altitud varía entre 1,186 y 2,500 metros sobre el nivel del mar. La parte alta de la cuenca Cuenca del Lago de Amatitlán, es escarpada con mesetas planas; la parte media

es de escarpada a ondulada y la parte baja es de ondulada a plana. El promedio de lluvias es de 1,500 milímetros y la humedad relativa del aire oscila entre el 75% y 80%, en cuanto que el promedio de temperatura está alrededor de los 20°C. La dirección del viento predominante es Noreste en un 90% y Sureste un 10% con velocidad de 20 a 30 Km/h. hacia el Sur, en dirección del Cañón de Palín, pasando sobre el lago. En cuanto a los aspectos geológicos, predominan en la Cuenca del lago los sedimentos eólicos fluviales y lacustres con flujos de ceniza, seguidos de lava basáltica y tobas. Existen 30 fallas geológicas en la Cuenca del Lago de Amatitlán, localizándose la mayor cantidad en el área aledaña al río Villalobos. Todas ellas son derivaciones de tres de las grandes fallas de Guatemala: El Frutal, Jalpatagua y Mixco (5).

El crecimiento de la población en la ciudad de Guatemala; la tasa de crecimiento anual (2.9% al 2008), y la población actual estimada en 3.5 millones de personas; han hecho que el consumo de agua potable para fines domésticos e industriales sea mayor que años anteriores, causando que los manantiales sean captados y el agua subterránea sea extraída a través de pozos. Sumado a esto, las aguas negras y los desechos sólidos de la ciudad de Guatemala y las poblaciones rurales son desviados a la cuenca del lago de Amatitlán.

Las principales actividades agrícolas de la cuenca son el café, la caña de azúcar, las hortalizas y los árboles frutales. La utilización del agua par riego influye también en los aportes al lago, ya que algunos de sus afluentes son desviados y utilizados para riego y para fines industriales. Otro factor importante es el manejo inadecuado del uso de la tierra que causa erosión, además de la utilización de grandes cantidades de insecticidas y plaguicidas, que contribuyen al incremento de nutrientes en el lago (5).

B. Aguas residuales o urbanas

Son las aguas usadas que, procedentes de viviendas e instalaciones de servicios industriales sanitarias o agrícolas, se evacúan por las instalaciones públicas o privadas de saneamiento a los distintos medios receptores, diluidas o no, con cualquier agua subterránea, superficial o pluvial que se le haya incorporado; las cuales por razones de salud pública y por consideraciones de recreación económica y estética, no pueden

desecharse vertiéndolas sin tratamiento, en lagos o corrientes convencionales. Los materiales inorgánicos como la arcilla, sedimentos y otros residuos se pueden eliminar por métodos mecánicos y químicos; sin embargo, si el material que debe ser eliminado es de naturaleza orgánica, el tratamiento implica usualmente actividades de microorganismos que oxidan y convierten la materia orgánica en CO_2 , es por esto que los tratamientos de las aguas de desecho son procesos en los cuales los microorganismos juegan papeles cruciales (2).

El tratamiento de las aguas residuales da como resultado la eliminación de microorganismos patógenos, evitando así que estos microorganismos lleguen a ríos, lagos o a otras fuentes de abastecimiento. Específicamente el tratamiento biológico de las aguas residuales es considerado un tratamiento secundario ya que este está ligado íntimamente a dos procesos microbiológicos, los cuales pueden ser aerobios y anaerobios. El tratamiento secundario de las aguas residuales comprende una serie de reacciones complejas de digestión y fermentación efectuadas por un huésped de diferentes especies bacterianas, el resultado neto es la conversión de materiales orgánicos en CO_2 y gas metano, este último se puede separar y quemar como una fuente de energía. Debido a que ambos productos finales son volátiles, el efluente líquido ha disminuido notablemente su contenido en sustancias orgánicas. La eficiencia de un proceso de tratamiento se expresa en términos de porcentaje de disminución de la DBO inicial (3).

C. Materia sólida del agua residual

La materia sólida del agua residual está presente tanto en forma disuelta como en suspensión. Se distinguen tres tipos de sólidos en el agua: totales, fijos y volátiles. La materia sólida permite valorar la concentración y el estado físico del agua residual; su concentración permite predecir el mayor o menor grado de depuración que puede obtenerse de acuerdo con la eficiencia de las distintas etapas de tratamiento. Las sustancias obtenidas por decantación, filtración o centrifugación de una muestra de agua corresponden a la materia en suspensión, mientras que aquellas que no pueden separarse por estos métodos y pasan a través del papel filtro de $0.45\mu\text{m}$ se denominan materia disuelta. La materia en

suspensión constituye la contaminación más fácil de eliminar del agua, siendo la sedimentación el principal mecanismo de eliminación (6).

Tanto la materia disuelta como la particulada están compuestas por materia orgánica e inorgánica. La incineración a 550°C permite diferenciarlas, pues la pérdida de materia por incineración representa el contenido orgánico de la muestra, mientras que las cenizas residuales representan el contenido inorgánico o mineral. La materia soluble de un agua residual está compuesta mayoritariamente por materia inorgánica, mientras que la materia en suspensión es predominantemente de naturaleza orgánica (2).

1. Compuestos orgánicos del agua residual

La materia orgánica está constituida por una fracción particulada y una fracción disuelta, la materia volátil ofrece una estimación del contenido de materia orgánica de una agua residual, sin embargo, para obtener una información más precisa es necesario evaluarla mediante el oxígeno requerido para oxidar completamente la materia orgánica a dióxido de carbono agua y amoníaco. La presencia de oxígeno disuelto en las aguas naturales es vital para mantener las distintas formas de vida. La mayoría de los compuestos orgánicos pueden servir de alimento para las bacterias y otros microorganismos, que obtienen la energía necesaria para sus funciones vitales y para la síntesis celular a partir de la oxidación de la materia orgánica. Sin embargo, el vertido de aguas residuales no tratadas a un curso de aguas ejerce un consumo de oxígeno, debido a la estabilización biológica de la materia orgánica, que puede llegar a agotarlo, produciendo un efecto negativo sobre la vida acuática y propiciando condiciones sépticas (7).

Los compuestos orgánicos del agua residual tienen al menos un átomo de carbono en su estructura, por lo que también se les conoce como compuestos carbonados. Estos átomos pueden ser oxidados tanto química como biológicamente para producir dióxido de carbono. El método de determinación de la materia orgánica mediante su oxidación biológica se denomina demanda bioquímica de oxígeno (DBO) o demanda total de oxígeno (DTO), dependiendo del agente químico empleado y de la naturaleza de las condiciones de oxidación (7).

2. Compuestos inorgánicos del agua residual

Los compuestos inorgánicos capaces de representar una amenaza seria de contaminación son pocos y además es factible realizar ensayos sencillos para detectar aquellos que resultan ser probablemente los más molestos. El nitrógeno y el fósforo son los compuestos inorgánicos más importantes para el control de la calidad de las aguas residuales. La mayor parte del nitrógeno y del fósforo total en un agua residual se encuentra en su fracción soluble nitratos, amonio, polifosfatos y ortofosfatos (8).

El nitrógeno y el fósforo presentes en los mantos de agua provienen de diferentes fuentes, como por ejemplo los fertilizantes artificiales y los desechos ganaderos aplicados en la agricultura los efluentes industriales y en particular en los efluentes de los sistemas de tratamiento las aguas residuales. El nitrógeno de los efluentes proviene principalmente de las conversiones metabólicas de los compuestos derivados de los excrementos, mientras que el 20% o más del fósforo procede de los detergentes sintéticos (7,8).

El nitrógeno y el fósforo son nutrientes esenciales para el crecimiento biológico. El fósforo se asimila en forma de fosfatos, mientras que el nitrógeno puede ser asimilado tanto en forma de amoniaco como de nitrato según el organismo de que se trate. Los organismos que se ocupan de la purificación de las corrientes de agua forman un sistema ecológicamente equilibrado. La descomposición de la materia orgánica produce anhídrido carbónico y consume oxígeno, mientras que el crecimiento de los organismos fotosintéticos utiliza anhídrido carbónico y produce oxígeno (8).

D. Tratamiento de aguas residuales

Como promedio, solamente el 10% de las aguas de alcantarillado recolectadas en Guatemala, son sujetas a cualquier tipo de tratamiento. Además continúan las dudas acerca del modo apropiado de operar las plantas de tratamiento existentes. Una evaluación de las plantas de tratamiento de aguas de alcantarillado, calcula que solamente el 5% de las plantas existentes están siendo operadas de manera satisfactoria (9).

El tratamiento de aguas residuales es necesario para la prevención de la contaminación ambiental del agua, al igual que para la protección de la salud pública. La meta del tratamiento de aguas residuales nunca ha sido producir un producto estéril, sin especies microbianas, sino reducir el nivel de microorganismos dañinos a niveles más seguros de exposición, donde el agua es comúnmente reciclada para el riego o usos industriales como sucede en la cuenca del lago de Amatlán (9).

El tratamiento de las aguas residuales es un proceso por el cual los sólidos que el líquido contiene son separados parcialmente, permitiendo que el resto de los sólidos orgánicos complejos, muy putrescibles queden convertidos en sólidos minerales o en sólidos orgánicos relativamente estables. Una vez completado este proceso, es aún necesario disponer de los líquidos y los sólidos que se hayan separado (7).

1. Mecanismos de depuración biológica

El principio del tratamiento biológico de las aguas residuales es el mismo que el de la purificación espontánea en aguas naturales. Se realiza en reactores diseñados especialmente para mantener los microorganismos bajo condiciones controladas, acelerando el proceso natural de descomposición y neutralización de los residuos, antes de que las aguas sean finalmente vertidas a las masas de agua receptoras. En el proceso participan distintas reacciones microbiológicas para eliminar o transformar diferentes tipos de materia orgánica, nutrientes y muchos otros elementos químicos tales como el sulfuro y los metales. Estas reacciones pueden ser realizadas bajo condiciones aerobias, anóxicas o anaerobias, dependiendo de la vía de degradación empleada. Asimismo, la biomasa empleada en el tratamiento se puede mantener en suspensión o adherida a un material de soporte (10,11).

Los tratamientos biológicos se basan en la utilización de microorganismos capaces de asimilar las sustancias en suspensión o disueltas presentes en el agua residual, a fin de incorporarlas al metabolismo celular y de obtener energía para sus funciones vitales promover el desarrollo somático. Con un control adecuado de las condiciones ambientales es posible conseguir el desarrollo de una biomasa capaz de depurar el agua residual hasta

alcanzar el grado de tratamiento deseado. Aunque se han desarrollado diferentes tipos de procesos biológicos, el más empleado en el tratamiento de aguas residuales urbanas es el proceso de lodos activados (11).

2. Proceso de lodos activados

El proceso de lodos activados es el sistema de tratamiento biológico más habitual en el tratamiento de las aguas residuales. El proceso de lodos activados ha sido desarrollado principalmente para la eliminación de materia orgánica y de nutrientes (nitrógeno y fósforo). Los microorganismos convierten la materia orgánica y los nutrientes en compuestos más simples como dióxido de carbono y agua, así como en una nueva biomasa. Un proceso de lodos activados de flujo continuo consta de diferentes etapas cada una de las cuales efectúa una fase determinada del tratamiento. En un proceso de eliminación biológica de nutrientes, ciertas bacterias del líquido de mezcla asimilan materia orgánica a la vez que liberan fosfatos bajo condiciones anaerobias. Bajo condiciones anóxicas o aerobias, la materia orgánica es utilizada por las bacterias para su crecimiento y la asimilación de fósforo (12).

La eliminación biológica del nitrógeno se consigue por dos procesos sucesivos, la nitrificación y la desnitrificación. En la nitrificación, el amoníaco es oxidado a nitritos y nitratos bajo condiciones anaerobias. Durante la desnitrificación y bajo condiciones anóxicas, los nitratos y nitritos son utilizados por bacterias heterótrofas facultativas como aceptores finales de electrones para la respiración celular; como resultado de ello se produce nitrógeno gaseoso que escapa a la atmósfera, así como un consumo de carbono orgánico biodegradable. Para permitir la desnitrificación y establecer una población de bacterias capaz de realizar la eliminación biológica de fósforo el agua residual afluyente debe de contener suficiente carbono orgánico (13,14).

3. Eliminación biológica de materia orgánica

La materia orgánica presente en el agua residual afluyente a un sistema de lodos activados sirve como sustrato a las bacterias heterótrofas del líquido de la mezcla. La

eliminación de la materia orgánica presente en el agua residual que ha entrado en contacto con los lodos activados se produce a través de las siguientes etapas (16,17):

- Atrapamiento de las partículas en la estructura del flóculo de los fangos activados.
- Adsorción del material coloidal.
- Biosorción, o eliminación rápida e inicial por absorción y almacenamiento celular de compuestos orgánicos solubles de elevado peso molecular.
- Asimilación y acumulación intracelular de sustancias fácilmente biodegradables.
- Autodigestión de la biomasa cuando existan limitaciones de sustrato biodegradable.

Las bacterias heterótrofas utilizan la materia orgánica presente en el agua residual como fuente de carbono para la síntesis celular. Por otro lado las bacterias anaerobias utilizan el oxígeno disuelto para la oxidación bioquímica de su contenido de materia orgánica a dióxido de carbono, generando energía (17).

4. Eliminación biológica simultánea de nutrientes

La eliminación biológica de nutrientes se consigue modificando el proceso de lodos activados de modo que incluya zonas con o sin aireación para crear una secuencia de zonas aerobias, anóxicas y anaerobias; con el fin de eliminar el nitrógeno y fósforo presentes. (18).

a. Nitrificación: oxidación prolongada, en condiciones aerobias, del líquido de mezcla después de la eliminación de la materia orgánica. La realizan las bacterias autótrofas.

b. Desnitrificación. Eliminación del nitrógeno en forma de gas en presencia de materia carbonosa y en condiciones anóxicas.

c. Acumulación potenciada de fósforo: acumulación de fósforo en el interior de las células en condiciones anaerobias.

d. Redisolución de fósforo: liberación de fósforo soluble en el líquido de mezcla a partir de fósforo polimérico acumulado en el interior de las células. Asimilación celular de compuestos orgánicos fácilmente asimilables para almacenarlos como sustancia de reserva. Se realiza en condiciones anaerobias (19).

E. Componentes microbianos del agua residual

Las aguas residuales contienen una gran variedad de microorganismos: virus, bacterias, hongos, protozoos y nemátodos. Se estima que hay alrededor de 5 millones de especies de microorganismos en el medio ambiente, de los cuales menos del 5% han sido catalogadas, de los cuales 3500 son bacterias, 90000 son hongos, 100,000 son protistas y 4,000 son virus. Los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales se basan en la interacción y el metabolismo de los microorganismos. Estos procesos dependen de la capacidad de la comunidad microbiana de utilizar los compuestos del agua. No existe un único organismo capaz de utilizar todos los compuestos orgánicos presentes en las aguas residuales; por tanto, un proceso biológico constituye un ecosistema diverso que se alimente del agua cruda que entra al sistema y que depende de la disponibilidad de oxígeno, del pH y de las condiciones de la mezcla (23,24).

1. Bacterias

Las bacterias que se encuentran con mayor frecuencia en el agua residual son las bacterias entéricas que colonizan el tracto gastrointestinal del hombre y son eliminadas a través de la materia fecal. Cuando estos microorganismos se introducen en el agua, las condiciones ambientales son muy diferentes y por consiguiente su capacidad de reproducirse y de sobrevivir son limitadas. Debido a que su detección y recuento a nivel de laboratorio son lentos y laboriosos, se ha buscado un grupo alternativo de indicadores que sean de más rápida y fácil detección; el grupo más utilizado es el de las bacterias coliformes (26,27).

a. Grupo coliforme

El grupo coliforme incluye a todas las bacterias aerobias o anaerobias facultativas, gram-negativo, no esporógenas, que fermentan la lactosa con formación de gas, dentro de las 48 horas, a una temperatura de 35°C. Existen dos tipos de coliformes: coliformes totales, que son bacterias que se encuentran en el suelo y aguas contaminadas, normalmente; y coliformes fecales, que se encuentran únicamente en las excretas. Las coliformes fecales especialmente la *E. coli* son indicadores definitivos de contaminación fecal. Los coliformes totales son solamente presuntivos. Generalmente las cepas de *E. coli*

que colonizan el intestino son comensales, sin embargo dentro de esta especie se encuentran bacterias patógenas causantes de una diversidad de enfermedades gastrointestinales; dentro de las cuales se pueden incluir: *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteroadherente, *E. coli* enteroagregativa (4,-6).

En la práctica, los organismos coliformes son siempre miembros del grupo de las bacterias entéricas. Estas bacterias son adecuadas como indicadores porque son habitantes comunes del tracto intestinal, tanto de las personas como de los animales de sangre caliente, donde están presentes en grandes cantidades. También interesa la determinación de coliformes fecales que representan la fracción de coliformes presentes en intestinos y materias fecales del hombre o animales de sangre caliente (coliformes termotolerantes). Esto proporciona información importante sobre la fuente y el tipo de contaminación presente (28,29).

Un método muy utilizado para el recuento de bacterias coliformes fecales y *E. coli* es el de filtración por membrana; un método altamente reproducible, que puede usarse para analizar volúmenes de muestra relativamente grandes y con el que se obtienen resultados en menor tiempo que con el Número Más Probable (NMP). Sin embargo, no puede aplicarse a cualquier tipo de muestra y tiene sus limitaciones. Las bacterias coliformes producen colonias oscuras con brillo metálico en medio Endo, luego de 24 h de incubación a 35°C. La determinación de coliformes fecales se hace a partir de las colonias desarrolladas en Endo o directamente incubando la membrana en medio chromocult e incubando a 44,5°C. Para la detección simultánea de coliformes totales y *E. coli* se puede utilizar la prueba de sustrato enzimático. En este caso, el grupo de coliformes totales incluye todas las bacterias que presentan la enzima beta-D-galactosidasa, que hidroliza un sustrato cromogénico (por ejemplo, ONPG) liberando el cromógeno. Como *E. coli* se incluyen todas las bacterias que dan positiva la reacción de coliformes totales y que tienen actividad beta-glucuronidasa, que rompe el sustrato fluorogénico (por ejemplo, MUG), liberando el fluorógeno. Este método permite llevar a cabo tanto recuentos como ensayos de ausencia/presencia (28).

b. Parásitos

Los causantes de las enfermedades con base en el agua, son organismos que pasan parte de su ciclo vital en el agua y otra parte como parásitos de animales. Estos organismos pueden prosperar tanto en aguas contaminadas como no contaminadas. Como parásitos, generalmente toman forma de gusanos helmintos y se valen de vectores animales intermediarios (como los caracoles) para prosperar, y luego infectan directamente al hombre, penetrando a través de la piel o al ser ingeridos. Son algunas de las enfermedades con base en el agua la ascariasis, dracunculosis, paragonimiasis, clonorquiasis y esquistosomiasis. Los causantes de estas enfermedades son una variedad de gusanos tremátodos, tenias, vermes cilíndricos y nemátodos vermiformes, denominados colectivamente helmintos, que infectan al hombre. Aunque estas enfermedades generalmente no son mortales, pueden ser extremadamente dolorosas e impiden trabajar a quienes las padecen, e incluso a veces impiden el movimiento (28).

Debido al origen de las aguas residuales, especialmente las de uso doméstico, las probabilidades que existan helmintos patógenos para el ser humano aumenta. Los helmintos constituyen el mayor riesgo real para la salud pública proveniente del riego con aguas residuales en las zonas donde las helmintiasis son endémicas. Debido a esto la concentración de huevos de helmintos en esta agua para riego debe ser de uno o menos por litro, esto significa que se debe eliminar el 99 % de los huevos de helmintos mediante procesos de tratamiento apropiado a estas zonas donde su presencia presenta riesgos tangibles para la salud. Los huevos de parásitos helmintos son un grupo de organismos que incluye los nemátodos, tremátodos y céstodos. Las características epidemiológicas que hacen de los helmintos patógenos entéricos causantes de infección por contacto con agua contaminada, son su alta persistencia en el medio ambiente, la mínima dosis infecciosa, la baja respuesta inmune y la capacidad de permanecer en el suelo por largos periodos de tiempo. En el estudio de los huevos de parásitos helmintos a nivel ambiental se ha hecho necesaria la selección de un parásito indicador debido a las limitaciones en la detección a nivel de laboratorio. *Ascaris lumbricoides* se ha sugerido como un buen indicador del comportamiento de los huevos de helmintos (4,7).

c. Virus

Los virus que se pueden encontrar en las aguas residuales y que pueden contaminar las fuentes de agua de consumo o potable pertenecen a un grupo amplio, entre los que se encuentran los virus de la hepatitis A y E, los enterovirus, los adenovirus y los rotavirus, una de las principales causas de la gastroenteritis infantil. Los virus adquieren una importancia especial para la salud pública, ya que se evacúan en gran cantidad a través de deposiciones de individuos infectados (4,7).

1. Virus como indicadores de contaminación

Se ha sugerido la posibilidad de uso de los colifagos (virus que infectan *E. coli*) como modelo de comportamiento de enterovirus en aguas tratadas por presentar una sensibilidad más o menos similar al efecto de la cloración. Las ventajas del uso de los colifagos son la simplicidad de su técnica de detección, bajo costo y rápida respuesta (4 a 6 horas). En el conocimiento que los virus entéricos son más resistentes que las bacterias entéricas al proceso de desinfección, y considerando que las técnicas de detección de estos virus no son factibles de realizar en forma rutinaria, el uso de un sistema indicador simple y representativo, parece prometedor (29,30).

Los colifagos son bacteriófagos de coliformes, es decir, se encuentran siempre que haya coliformes totales y fecales. De acuerdo con estudios de correlación entre números de colifagos y coliformes en agua, se podría utilizar el índice de colifagos como índice de calidad sanitaria del agua. Además, como son más resistentes a la cloración que los coliformes, pueden ser mejores indicadores de desinfección que estos últimos. Se han hecho estudios de correlación entre los coliformes y colifagos como indicadores de contaminación fecal en aguas residuales, demostrando que los colifagos presentan un alto grado de correlación puesto que pueden ser encontrados en presencia de material fecal y otros posibles interferentes, sin haber variación en comparación con aquellos del grupo coliforme (33).

El método de cuantificación se basa en la formación de placas de lisis. Los colifagos infectan y se multiplican en bacterias sensibles a ellos. Esto provoca la lisis celular de esas

bacterias y la liberación de partículas virales que infectarán las células bacterianas adyacentes. A medida que las bacterias se vayan lisando, se formarán zonas claras entre el crecimiento confluyente de la bacteria utilizada, determinando las conocidas como “placas de lisis”. La cepa utilizada en los ensayos es una *E. coli* sensible a la infección por colifagos (ATCC 13706) (19).

F. Autoridad para el Manejo Sustentable de La Cuenca y del Lago de Amatitlán, AMSA

Con el fin de contrarrestar y detener este deterioro, así como descontaminar el ecosistema dañado, fue que se creó AMSA, Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán, cuya finalidad es ordenar el uso de los recursos y fortalecer las acciones de protección y rescate del lago, que permitan a la población vivir en un medio ambiente saludable. AMSA ha presentado el plan del Manejo Integrado de la Cuenca y del lago de Amatitlán, PLANDEAMAT. Se plantea el control de los desechos sólidos y líquidos para reducir la contaminación. Los desechos líquidos se dispondrán con sistemas de tratamiento en los puntos de descarga de aguas negras y se espera que estos sistemas sean capaces de generar beneficios para su autogestión sin tener que depender de subsidios. Los desechos sólidos, originados en las viviendas, también se manejarán con sistemas de tratamiento, promoviendo la participación comunitaria y del sector privado (30).

1. Proyectos de AMSA

a. Rescatando al Lago de Amatitlán

A través de este proyecto se pretende brindar una solución concreta para resolver a nivel macro la problemática de contaminación de la cuenca y del Lago de Amatitlán. AMSA promueve acciones de integración de cada uno de los componentes a desarrollar por fases con que cuenta el megaproyecto, los cuales son:

- Canalización del río de Villalobos desde el complejo de Puentes de Villalobos hasta el puente El Cementerio en Villa Canales (18.3Km)

- Filtros Verdes paralelos al río Villalobos a la altura de los municipios de Villa Nueva, Villa Canales y San Miguel Petapa, así como aireadores y máquina cosechadora.
- Colectorización que inicia en el lugar denominado El Frutal entre San Miguel Petapa y Villa Nueva pasando por el relleno del Lago de Amatitlán litoral suroeste, siguiendo la trayectoria de la línea férrea hasta el puente de Anís, Río Michatoya, municipio de Amatitlán.
- Megaplanta de tratamiento de aguas residuales, domésticas, agroindustriales, industriales y municipales en el municipio de Palín, Escuintla.
- Manejo de residuos sólidos (27).

b. Programa de educación ambiental

Este programa pretende colaborar con el mejoramiento de las condiciones sociales, culturales y ambientales en el área de la cuenca. El contenido de este programa es de concientización con el fin de dar a conocer la problemática general de lago de Amatitlán, para sensibilizar a aquellos sectores que están involucrados en su deterioro. La Fundación para la Salvación de Lago de Amatitlán (FUNDALAGO), como parte de su trabajo en el lago y los municipios de la cuenca, promueve la educación ambiental para contar con promotores ambientales que funcionen como entes multiplicadores del mensaje en la comunidad (27,30).

c. Programa de control ambiental

El programa de Control Ambiental, es otra de las herramientas en pro de la salvación del lago, en el que se establecen las condiciones necesarias para analizarlo y estudiarlo. Para este análisis se tiene un programa de monitoreo de la calidad del agua del lago y de los ríos que van a dar a él; se espera poner a funcionar nuevamente las estaciones meteorológicas e hidrométricas, para fortalecer los análisis de contaminación del lago, de forma más completa y clara. A mediano plazo se construirá la macroplanta de tratamiento de aguas negras sobre el río Villalobos, para lograr la colectorización de todas las aguas servidas de la zona (31,32).

IV. JUSTIFICACIÓN

La ciudad de Guatemala, cuenta con una alta concentración de población en el área, alta explotación de los recursos naturales y escasez de agua; que en su conjunto han sido parte de un proceso que ha llevado al deterioro del lago de Amatitlán y sus cuencas tributarias.

La subcuenca del lago de Amatitlán, está irrigada por cerca de 24 ríos y quebradas, entre los cuales se encuentran los ríos tributarios: Villalobos, El Frutal, El Zacatal y Pinula. Los mismos carecen de un tratamiento previo a su desembocadura en el lago por lo que arrastran una gran cantidad de desechos de diferentes puntos, incluyendo la ciudad capital, provenientes de barrancos, calles, basureros clandestinos y autorizados; siendo así focos de contaminación química y biológica, provocando a la población adyacente a los ríos, enfermedades gastrointestinales entre otras; siendo estas comunidades también responsables en gran parte de la contaminación microbiológica del lago.

El aumento indiscriminado de las áreas marginales, proyectos habitacionales nuevos y numerosos y la poca accesibilidad a los servicios básicos, provocan que la población adyacente a estos ríos, se vean en la necesidad de utilizarlos como fuente de agua para el consumo humano; por lo que es necesario realizar un control de dichas aguas para llevar un registro y de esta manera concientizar tanto a la población como a la industria sobre la necesidad de la implementación de un sistema de producción más limpia para contribuir con la recuperación y mantenimiento del medio ambiente.

En el presente estudio evaluó la calidad microbiológica del agua en cuatro microcuencas, realizando muestreos en las épocas seca y lluviosa para la determinación de *E. coli*, parásitos helmintos, como indicadores convencionales de la contaminación en aguas residuales y la comparación de *E. coli* con organismos colifagos, como una alternativa de indicadores de contaminación fecal.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Determinar la presencia de *E. coli*, parásitos helmintos y colifagos en cuatro microcuencas del lago de Amatitlán (El Frutal, El Zacatal, Pinula y Villalobos).

B. Objetivos Específicos

1. Establecer la presencia de *E. coli*, parásitos helmintos y colifagos a través de su cuantificación en las cuatro microcuencas de estudio.
2. Comparar la presencia de *E. coli*, parásitos helmintos y colifagos entre las microcuencas y en función de la época seca y lluviosa.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Microcuencas del Lago de Amatitlán; El Frutal, El Zacatal, Pinula, Villalobos (Anexos 1 y 2).

1. Muestra

Está constituida por 24 muestras para la determinación y cuantificación de colifagos, coliformes fecales, *Escherichia coli* y conteo de huevos de helmintos.

B. Recursos

1. Humanos

- Br. Carlos Enrique Villatoro Castillo
- Dra. Karin Herrera (Asesora)
- Msc. Hayro García (Asesor)

2. Institucionales

- Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA).
- Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR).

C. Materiales

1. Cristalería y materiales varios

- 1 caja de portaobjetos de vidrio de 2 x 3''
- 2 cajas de cubreobjetos de vidrio de 22 x 40 mm.
- Frascos de color ámbar con tapa rosca para guardar los reactivos.
- Erlenmeyer de 500 mL. de capacidad
- Erlenmeyer de 250 mL. de capacidad
- Tubos de ensayo 15 x 125 mm.
- Probetas de vidrio de 500 mL.

- Probetas de vidrio de 1000 mL.
- 75 Cajas de Petri 15 *150 mm.
- 32 frascos colectores estériles de 100 mL.
- 10 recipientes plásticos de 5 litros para toma de muestras.
- Asa bacteriológica no calibrada
- Membranas de nitrocelulosa para filtración con un poro de 0.45 μm de diámetro
- 100 pipetas pasteur
- Tubos cónicos con capacidad para 15 mL
- Kitazato de 250 mL.
- Gradillas de metal
- Guantes de látex
- Papel mayordomo
- Piseta

2. Reactivos

- Agar Chromocult ® para coliformes
- Agar tripticasa soya
- Caldo tripticasa soya
- Acetato de sodio
- Ácido acético
- Nitrato de sodio
- Tiosulfato de sodio
- Sulfato de zinc
- Alcohol al 70%
- Lugol
- Agua destilada estéril

3. Equipo

- Autoclave
- Incubadora

- Microscopio con objetivos 10x, 40x, 100x
- Campana bacteriológica
- Mechero tipo bunsen
- Refrigeradora
- Pipetor electrónico
- Balanza semianalítica
- 5 unidades de filtración
- bomba de vacío para filtración
- Hieleras

4. Papelería

- Marcadores indelebles
- Hojas de papel bond tamaño carta
- Folders tamaño carta
- Masking tape
- Lapiceros
- Cuaderno o libreta de campo

D. Metodología

1. Toma de muestra

a. Coliformes y *E. coli*

- Para la toma de muestra utilizar recipientes estériles de capacidad mínima de 100 mL, los cuales deben abrirse al momento de tomar la muestra.
- Colectar la muestra de agua, tratando de evitar contaminación del suelo o cualquier otra superficie que pueda alterar los resultados microbiológicos.
- En el momento de finalizar la toma de muestra, los recipientes deben ser mantenidos en cadena de frío, hasta su llegada al laboratorio.

2. Parásitos helmínticos y colifagos

- Utilizar recipientes herméticos para coleccionar la muestra de agua de capacidad mínima de 6 litros.
- Debe permanecer cerrado el recipiente hasta el momento de tomar la muestra.
- Elegir y localizar el lugar de donde se desea tomar la muestra, si es necesario se utiliza un bote o lancha. De ser posible, utilizar GPS para georeferenciar el punto de muestreo.
- Abrir el recipiente en donde se desea tomar la muestra y rápidamente introducir el agua contra de la corriente. En caso de no haber corriente se mueve horizontalmente.
- Al terminar se cierra el recipiente rápidamente y se rotula con la fuente, fecha, lugar, hora de toma de muestra y responsable se la toma de muestra.
- Debe tomarse en cuenta preservar la muestra en cadena de frío del punto de muestreo hasta su llegada al laboratorio para su posterior análisis.

2. Análisis de muestras

a. Determinación y cuantificación de coliformes totales y fecales

i. Procedimiento

- Tomar una muestra de agua en una recipiente estéril, y transportarlo al laboratorio en una hielera con hielo para mantener la temperatura de refrigeración (0 a 4°C).
- Tomar 25 mL de la muestra y realizar diluciones hasta 1:7 con 225 mL agua estéril.
- Filtrar 100 mL de la última dilución por una membrana de filtración de 0.45 µm utilizando una unidad de filtración, esterilizada previamente.
- Colocar la membrana sobre el medio Chromocult con modificación hecha por el LAMIR, e incubar la caja a 36.5°C durante 24 horas (31).
- Al término de las 24 horas se observan colonias con diferentes colores, que permiten la identificación y distinción entre coliformes totales, fecales y *E. coli* y su cuantificación.

b. Determinación de colifagos

- Incubar una o dos colonias de *E. coli* en 50 mL de caldo tripticasa soya.
- Incubar durante 2 horas a 37°C con agitación.
- Tomar con una pipeta una alícuota de cada muestra de agua y filtrar a través de un filtro Acrodisc de polisulfona con un poro de 0.2 µm de diámetro.
- Licuar agar tripticasa soya (10 mL por tubo) y colocar en baño María a 48°C durante 15 minutos hasta que la temperatura del agar se ajuste a 48°C.
- Agregar al primer tubo 1 mL de caldo de cultivo de *E. coli* y 1 mL de muestra filtrada no diluida.
- Mezclar durante 2 a 3 segundos y se vierte en una caja de Petri con agar tripticasa soya de fondo.
- Rotar la caja para difundir la mezcla en toda la superficie
- Agregar la segunda capa de agar tripticasa soya y dejar solidificar.
- Repetir el procedimiento para cada dilución.
- Incubar las cajas a 37°C durante 24 horas.
- Observar las zonas de inhibición lo cual nos indicara la presencia de los mismos y permitirá su cuantificación (31).

5. Determinación de parásitos en Aguas.**i. Procedimiento de Sedimentación**

- Medir 5 L de la muestra de agua y dejar sedimentar durante cinco días
- Remover cuidadosamente el sobrenadante y descartarlo.
- Resuspender el sedimento con agitación y lavando el recipiente con agua destilada.
- Centrifugar a 2500 rpm. durante 15 minutos.

ii. Clarificación

- Descartar el sobrenadante por decantación

- Agregar buffer aceto-acético a pH 4 en proporción de 1:1 al volumen del sedimento.
- Agregar acetato de etilo en proporción 1:1 al volumen del sedimento
- Mezclar con cuidado en vortex por 3 minutos.
- Centrifugar la mezcla a 2500 rpm durante 10 minutos.
- Descartar sobrenadante.
- Resuspender el sedimento, con una solución saturada de sulfato de Zinc (solución al 33% gravedad específica 1.18), agregando una cantidad 3 veces mayor al volumen del sedimento o 3 mL.
- Medir el volumen (V) del producto.
- Transferir dos gotas del producto a un portaobjetos y colocar una gota de reactivo Azul de metileno, cubrir la muestra con un cubreobjetos.
- Contar los huevos de helmintos a 40X
- Determinar el número total de huevos de helmintos recuperados con la fórmula.

$$N = XV / P(E)$$

X = Número de huevos o parásitos.

P = Volumen del sedimento observado.

V = Volumen total del sedimento.

E = Volumen de muestra.

E. Diseño Estadístico

El estudio es de tipo estratificado en dos etapas, ya que se tomaron cuatro puntos de muestreo, El Frutal, El Zacatal, Villalobos y Pinula; en dos épocas del año, seca y lluviosa, con una diferencia entre muestreo de dos semanas.

El tipo de muestreo fue no aleatorio por intención, donde se tomaron muestras quincenales, durante tres meses, de cada punto de muestreo, lo cual incluyó tres muestreos

en época seca y tres muestreos en época lluviosa, lo cual dió un resultado de tres réplicas por tratamiento, que incluye la combinación de lugar y época.

F. Análisis de Resultados

Para realizar el análisis, los conteos de *E. coli* se utilizó logaritmo natural, mientras los resultados de colifagos y helmintos se trabajaron sin transformación numérica.

Se realizó un análisis de varianza para un diseño estratificado en dos etapas con el fin de determinar si hubo o no diferencias significativas entre puntos y épocas, controlando la variación de las épocas dentro de cada punto. Para los puntos donde se encontró diferencia, se realizó la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher.

VII. RESULTADOS

A continuación se presenta la información obtenida para la determinación de presencia de *E. coli* parásitos helmínticos y colifagos en las microcuencas en estudio, se realizaron seis muestreos en cada época del año (seca y lluviosa). Los resultados fueron analizados con el logaritmo natural para todas las variables.

En la tabla No 1 se observa el análisis cualitativo de *E. coli* y colifagos, encontrándose presencia de ambos indicadores en los cuatro puntos de muestreo durante las épocas seca y lluviosa.

Tabla No 1 **Análisis bacteriológico para la determinación de *E. coli* y colifagos para las cuatro microcuencas durante todos los meses muestreados**

EPOCA	MUESTREOS	EL FRUTAL		ZACATAL		PINULA		VILLALOBOS	
		<i>E. coli</i>	Colifagos	<i>E. coli</i>	Colifagos	<i>E. coli</i>	Colifagos	<i>E. coli</i>	Colifagos
Seca	1	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
	2	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
	3	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
Lluviosa	1	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
	2	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
	3	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia

Fuente: datos experimentales

Para los coliformes totales de acuerdo al análisis de varianza se demuestra que no hay diferencia significativa entre puntos de muestro ($p=0.975$) (anexo 1) y de igual forma no se encontró diferencia entre las épocas del año ($p= 0.985$) (Tablas 2 y 3, Gráficas 1 y 2).

Tabla No 2. **Comparación entre coliformes totales y coliformes fecales por punto y por época.**

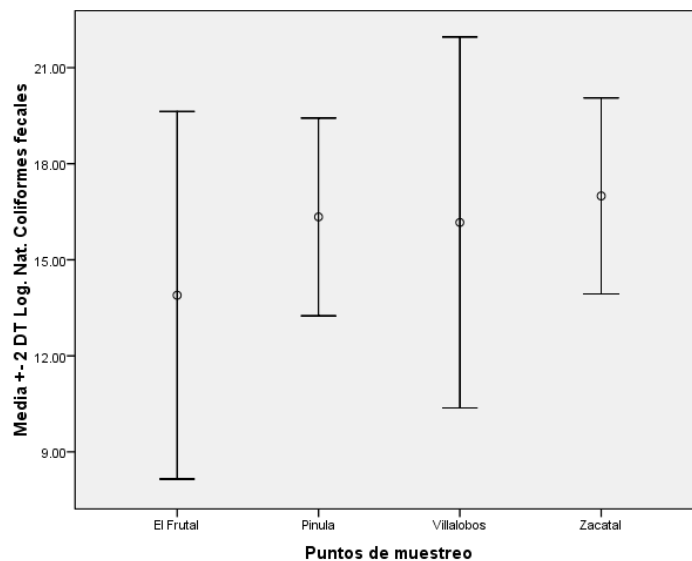
EPOCA	PUNTO DE MUESTREO	COLIFORMES TOTALES		COLIFORMES FECALES	
		MEDIA	± DT	MEDIA	± DT
SECA	EL FRUTAL	17.486	5.459	13.890	2.869
	PINULA	16.584	4.792	16.330	1.544
	VILLALOBOS	17.063	5.300	16.160	2.896
	EL ZACATAL	17.001	5.180	16.990	1.530
LLUVIOSA	EL FRUTAL	18.149	2.185	12.278	0.0321
	PINULA	17.685	0.762	15.682	1.841
	VILLALOBOS	15.541	1.785	14.379	5.893
	EL ZACATAL	17.852	0.128	15.962	2.416

Fuente: datos experimentales

DT: Desviación típica

Durante la época seca los recuentos obtenidos para coliformes totales no difieren significativamente entre puntos, mientras que para los coliformes fecales sí se observó una diferencia de los puntos Pinula, Villalobos y El Zacatal, con respecto al punto El Frutal, ya que este último obtuvo recuentos más bajos.

Según el análisis realizado se observó que el punto El Frutal fue el que obtuvo los menores recuentos de coliformes fecales durante la época lluviosa y el punto El Zacatal fue el que obtuvo mayores recuentos de coliformes fecales. Observándose que el comportamiento para coliformes fecales fue similar tanto en época seca como en época lluviosa.



Fuente: Datos experimentales

Gráfica No. 1 **Comparación de medias de coliformes fecales**

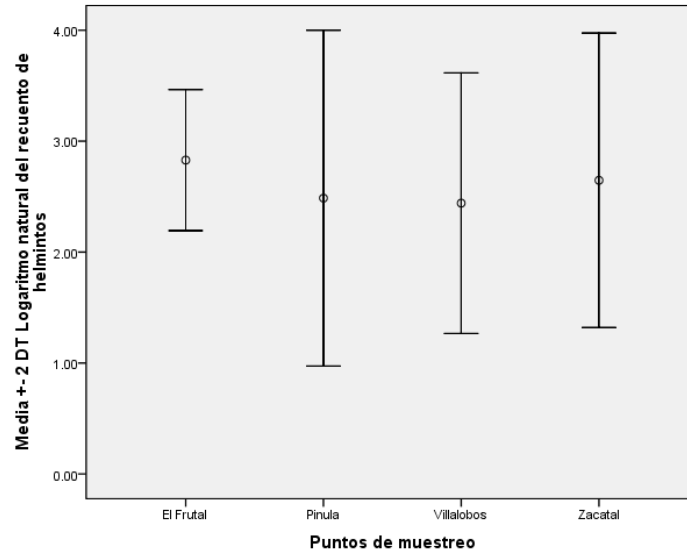
Tabla No 3. **Comparación entre puntos de muestreo con respecto a El Frutal de coliformes fecales o termotolerantes**

PUNTO	PUNTO	VALORES DE P
El Frutal	Pinula	0.019
	Villalobos	0.028
	Zacatal	0.005

Fuente: datos experimentales
Significancia: $p < 0.05$

De acuerdo al prueba de la Mínima Diferencia Significativa de Fisher para puntos, El Frutal es el lugar que presenta diferencias significativas con todos los demás, con recuentos más bajos (Anexo 2).

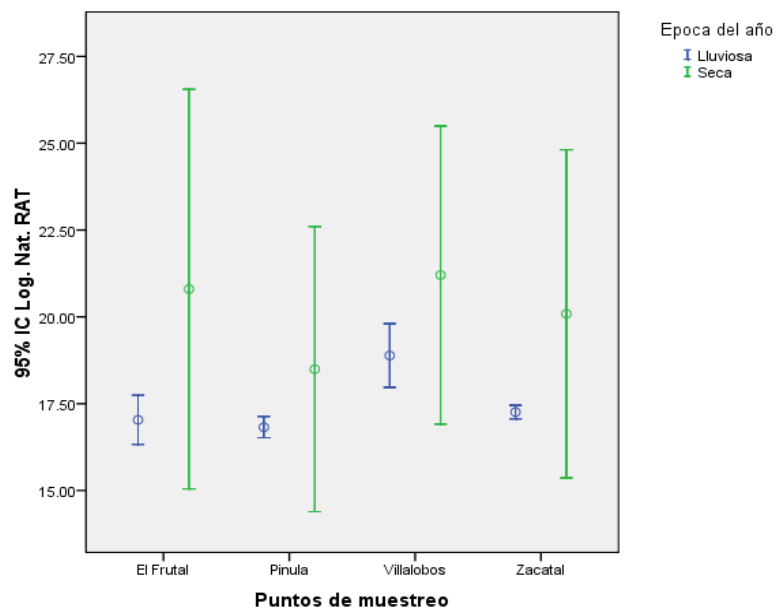
El recuento de parásitos helmintos demostró que no existe diferencia significativa ($p=0.137$) (Anexo 3) entre los puntos de muestreo, contrario a lo observado en la comparación entre épocas, en donde sí se encontró diferencia ($p < 0.001$) (Gráfica 2)



Fuente: Datos experimentales

Gráfica No. 2 Comparación del recuento de helmintos, entre los diferentes puntos de muestreo.

Para evaluar el grado de contaminación bacteriana se realizó la técnica de recuento aeróbico total (RAT), observándose que no existe diferencia significativa entre los puntos muestreados ($p=0.057$) (Anexo 4), sin embargo al realizar la comparación entre épocas, sí se encontró diferencia significativa ($p=0.04$) (Gráfica 3).



Fuente: Datos experimentales

Gráfica No. 3 Comparación de RAT entre puntos de muestreo y épocas del año

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

El agua al ser un recurso humano imprescindible para la vida humana y para el desarrollo socioeconómico, industrial y agrícola, su conservación es de suma importancia, ya que el uso indiscriminado y un mal tratamiento de las aguas residuales puede acarrear problemas de contaminación que pueden plantear problemas de salud, ya que esta puede convertirse en un vehículo para la diseminación de enfermedades(6).

Al analizar los resultados de los recuentos de coliformes totales, se observa que el grado de contaminación en los cuatro puntos de muestreo presentan niveles similares, y se deduce que el nivel de descargas de desechos tanto domésticos como industriales es equivalente en los cuatro puntos muestreados, también se nota que no hay variación al realizar la comparación entre la época seca y la lluviosa.

En los resultados de coliformes fecales, se observa que el punto de muestreo El frutal, presentó menores recuentos con respecto a los otros puntos. Es posible que la cantidad de residuos que recibe este afluente es menor a la del resto de microcuencas. La microcuenca que presentó los recuentos más altos respecto a las otras fue El Zacatal, en los casos de Pinula y Villalobos se observó que aunque se obtuvieron recuentos menores, no hay diferencia significativa ($p=0.975$) con respecto a El Zacatal. En la comparación de épocas se observó que sí existió diferencia significativa ($p=0.024$) entre la época seca y lluviosa, debido probablemente al aumento del caudal durante la época lluviosa.

Con respecto a los resultados de parásitos helmínticos, se observa que no existió diferencia significativa ($p=0.137$) entre los puntos muestreados. Sin embargo, el punto El Frutal fue la microcuenca que presentó los conteos más altos. Al realizar la comparación de épocas, sí se observó diferencia significativa ($p<0.001$), ya que el recuento fue más alto para la época seca, esto puede deberse a que durante la época lluviosa aunque existe mayor arrastre de residuos y excretas por la precipitación pluvial, la renovación del nivel del caudal es mayor, lo cual podría explicar la diferencia en los conteos con relación a la época seca.

La *E. coli* es uno de los indicadores de contaminación fecal, proporciona información sobre la fuente y el tipo de contaminación presente en los afluentes. El análisis de este microorganismo fue cualitativo, es decir se reportó como presente o ausente en las muestras analizadas. De igual se realizó el análisis para los colifagos, en donde se encontró presencia de estos microorganismos en todos los muestreos realizados en las cuatro microcuencas. Los colifagos se encuentran siempre que haya coliformes presentes en el agua analizada, lo cual sugiere que estos podrían usarse como indicadores de contaminación fecal en aguas residuales y como se pudo observar en este estudio, la presencia de colifagos correlaciona con la presencia de *E. coli*.

El Recuento Aeróbico Total (RAT) fue realizado con la finalidad de tener una idea global de la cantidad de microorganismos presentes en los puntos muestreados, se pudo observar que al realizar la comparación entre puntos no existió diferencia significativa ($p=0.057$) ya que el conteo fue similar, evidenciando que la presencia de microorganismos mesófilos es constante y que cuantificarlos como un total no es en sí un indicador de aumento o disminución de contaminación .

De acuerdo al análisis realizado, se puede decir que el agua de las cuencas tributarias al lago de Amatitlán es de las principales fuentes de contaminación de este. En consecuencia este cuerpo de agua no es adecuado para uso recreacional ni para actividades agrícolas, ya que el agua puede actuar como un vehículo para la propagación de diversas enfermedades que podrían representar un riesgo para la salud de los habitantes del área.

IX. CONCLUSIONES

1. La *E. coli* y los colifagos estuvieron presentes en las cuatro microcuencas en ambas épocas en todos los muestreos.
2. Los conteos de coliformes fecales o termotolerantes, fueron mayores durante la época seca.
3. La microcuenca de El Frutal presentó los recuentos más bajos de coliformes fecales con respecto a los demás puntos de muestreo.
4. La cuantificación de coliformes totales mostró conteos similares en las cuatro microcuencas.
5. La cuenca del Frutal, fue la que presentó los conteos más altos en el análisis de huevos de parásitos helmínticos.
6. Para el recuento de coliformes fecales, el afluente que presentó los conteos más altos fue el Zacatal. Los afluentes Pinula y Villalobos presentaron conteos similares, no habiendo diferencia significativa ($p=0.975$) con respecto al Zacatal.
7. El Recuento Aeróbico Total se mantuvo en valores más altos durante los muestreos que se realizaron en la época seca.

X. RECOMENDACIONES

1. Investigar sobre nuevas metodologías para la cuantificación de parásitos helmínticos que provean de mayor exactitud en el recuento y la concentración de muestras
2. Dar continuidad a los proyectos dirigido por la Autoridad para el Manejo Sostenible del Lago de Amatitlán.
3. Utilizar muestras de mayor volumen en los puntos de muestreo con el fin de obtener muestras que sean más representativas en el estudio.
4. Realizar estudios posteriores para la evaluación de otros agentes patógenos para el hombre, animales y plantas presentes en las microcuencas estudiadas que desembocan en el Lago de Amatitlán.
5. Complementar los hallazgos realizados en este estudio con análisis fisicoquímicos para ver el estado del agua del Lago de Amatitlán.

XI. REFERENCIAS

1. Droste R. Theory and practice of water and wastewater treatment. John Willey & Sons, Inc.1997 pp. 468-471.
2. Horan N. Biological Wastewater Treatment Systems. John Wiley and Sons Ltd. Chichester, West Sussex. England,1987.
3. Ferrer-Veliz E. Cuencas. Aproximación al análisis de los sistemas hidrográficos. Ecosmos, Barquisimento, Venezuela 1992.
4. Shrivastava S. Observations on the Experimental Assessment of Optimal Exposure Time for Mercury Detoxification by an Integrated Aquatic Macrophyte Base System. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2004.
5. Muñiz A. Diagnóstico preliminar de Infraestructura Sanitaria y de Servicios (Drenaje y Agua) de la Cuenca del Lago de Amatitlán. ARRLA,1995.
6. Mujeriego R. Riego con Agua Residual Municipal Regenerada, Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona, diputación de Barcelona (1990) pp 145.
7. Miyares M. Determinación de Coliformes y Helmintos en Aguas Afluentes y Efluentes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales, Nimajuyú 1 zona 21, Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2003. 52p.
8. Winkler M. Tratamiento Biológico de Aguas de Desecho. Editorial Limusa SA México D.F. 1998.
9. LAC CDE, Our Own Agenda, Latin American and Caribbean Commission on Development and the Environment, UNDP,IDB,1992.
10. Lee S. Effect of Fermentation wastes on Denitrification in Activated Sludge. Wat. Env. Suecia 1995 pp 67, 7, 119-1122.
11. Lee M. Parameters Affecting Microorganism and the Process Performance in Biological Wastewater Treatment. Tesis Doctoral. Department of Biotechnology. Lund University, Suecia. (pp 25,45).
12. Barajas M. Eliminación Biológica de Nutrientes en un Reactor Biológico secuencial. Caracterización y estimulación de las Fuentes de Carbono del Agua Residual Urbana. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña España 2002.

13. Bajaras K. Solubilization and Fermentation in a Modified. VFA-potential Method. Environ. England 2003, pp 20, 4, 329-336.
14. Aravinthan V. *et al.* Sludge Hydrolysate as a carbon source for denitrification. World Congress of the International Water association, Paris Julio 2000. pp 3, 146-153.
15. Brinch P. Upgrading to nutrient removal by means of Internal Carbon from Sludge hydrolysis, Science Tech. E.E.U.U. 1994. pp 29, 31-40.
16. Rivas M. Tratamiento de Aguas Residuales. 20 Edición, Ediciones Vega. Venezuela 1998.
17. Wanner J. Beginning of the Activated Sludge. Activated Sludges, No.1 1998. <http://scitrav.com/wwater/asp1/begin.htm>.
18. Lo K. Enhanced Nutrient Removal by Oxidation-Reduction Potential (ORP), Controlled Aeration in a Laboratory Scale Extended Aeration Treatment System. Suiza 1994. pp 10,20.
19. EPA. Manual de Control de Nitrógeno. EPA/625/R-93/010. 1993.
20. Neethling J. Biological Nutrient Removal with Activated Sludge systems, HDR Engineering Inc. El Dorado Hills 1995.
21. Teira M. Bases Microbiológicas. Microorganismos nitrificantes, desnitrificantes y con capacidad para acumular fósforo. 21 Curso de Ingeniería Ambiental: Eliminación Biológica de Nutrientes En Aguas Residuales. Lérida, España 1996.
22. Cortacáns J. Investigación sobre la eliminación simultánea de nutrientes por vía biológica. Universidad Autónoma de Madrid, España. 1997.
23. Fuhs Ch. Bases Microbiológicas de Remoción de Fosfatos en Fangos Activados. Proceso para el Tratamiento de Aguas Residuales, Microbiología Ecológica, Minnesota 1975 pp 2, 119-138.
24. Cloete T. Microbial Community Analysis: The Key to the Design of Biological Wastewater Treatment Systems. Scientific and Technical Report IAWQ. England. 1999.
25. Mondaca M. .Riesgo de Enfermedades Transmitidas por el Agua en Zonas Rurales. Agua Potable para Comunidades Rurales, Reuso y Tratamientos Avanzados de

- Aguas Residuales Domésticas. Capítulo 13. Disponible en:
<http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/>
26. Brock D. Biología de los Microorganismos. Prentice-Hall International 2000.
 27. Robles A. et al. Determinación Coliformes Totales, Coliformes Fecales; colifagos, *Escherichia coli*, Huevos de helmintos (*Ascaris lumbricoides* y *Uncinaria* sp) en cuatro microcuencas del Lago de Amatitlán. USAC. 2006.
 28. Castillo G. Aplicación del test de colifagos como indicador de eficiencia de desinfección en el tratamiento del agua. Universidad de Chile, Superintendencia de servicios sanitarios, Proyecto 3-P-90-0100-02, Chile 1994.
 29. AMSA, Caracterización Físico-Biótica de la Cuenca del Lago de Amatitlán, 1995.
 30. Autoridad para el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán AMSA, Lago de Amatitlán, disponible en http://www.deguate.com/ecologia/article_2947.shtml.
 31. Caballero P. Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas de Desecho. Agencia Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional (AID). Undécima Edición. Editorial Interamericana. 1996.
 32. Grady D, Biological wastewater treatment, theory and applications; Marcel Dekker Inc. New York 1980.
 33. Havelaar A. Furuse K. Hogeboom W.B. (1986). Bacteriophages and indicator bacteria in human and animal faeces. Journal of applied bacteriology,. 60, 25-256.

XII. ANEXOS

Anexo 1. ANDEVA de coliformes totales.

Tabla 1. Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Log. Nat. Coliformes totales

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	18.381 ^a	7	2.626	.080	.999
Intersección	6884.305	1	6884.305	209.016	.000
Punto	6.857	3	2.286	.069	.975
Epoca(Punto)	11.524	4	2.881	.087	.985
Error	526.989	16	32.937		
Total	7429.675	24			
Total corregida	545.370	23			

a. R cuadrado = .034 (R cuadrado corregida = -.389)

Anexo 2. Comparación entre puntos de muestreo (Prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher)

Tabla 2. Comparaciones múltiples

Log. Nat. Coliformes fecales

(I) Puntos de muestreo	(J) Puntos de muestreo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación	Intervalo de confianza al 95%.	
					Límite inferior	Límite superior
El Frutal	Pinula	-2.4469*	.94161	.019	-4.4430	-.4508
	Villalobos	-2.2739*	.94161	.028	-4.2700	-.2778
	Zacatal	-3.1008*	.94161	.005	-5.0969	-1.1046
Pinula	El Frutal	2.4469*	.94161	.019	.4508	4.4430
	Villalobos	.1731	.94161	.856	-1.8231	2.1692
	Zacatal	-.6538	.94161	.497	-2.6499	1.3423
Villalobos	El Frutal	2.2739*	.94161	.028	.2778	4.2700
	Pinula	-.1731	.94161	.856	-2.1692	1.8231
	Zacatal	-.8269	.94161	.393	-2.8230	1.1692
Zacatal	El Frutal	3.1008*	.94161	.005	1.1046	5.0969
	Pinula	.6538	.94161	.497	-1.3423	2.6499
	Villalobos	.8269	.94161	.393	-1.1692	2.8230

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 2.660.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 3. ANDEVA, recuento de helmintos.

Tabla 3. Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Logaritmo natural del recuento de helmintos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	5.796 ^a	7	.828	7.377	.001
Intersección	149.908	1	149.908	1335.594	.000
Punto	.723	3	.241	2.148	.137
Epoca(Punto)	5.265	4	1.316	11.728	.000
Error	1.684	15	.112		
Total	163.914	23			
Total corregida	7.480	22			

a. R cuadrado = .775 (R cuadrado corregida = .670)

Anexo 4. ANDEVA, recuento aeróbico total (RAT)

1 ANALISIS DE VARIANZA

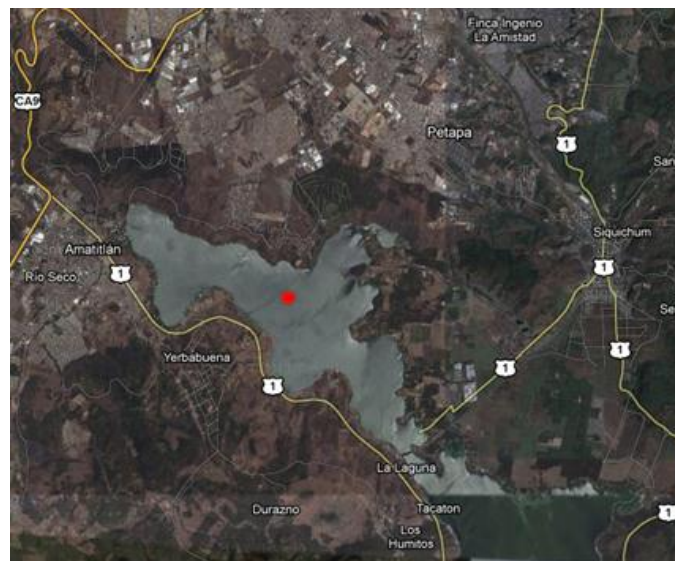
Tabla 4. Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Log. Nat. RAT

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	62.764 ^a	7	8.966	4.803	.004
Intersección	8503.430	1	8503.430	4555.045	.000
Punto	17.275	3	5.758	3.085	.057
Epoca(Punto)	45.489	4	11.372	6.092	.004
Error	29.869	16	1.867		
Total	8596.063	24			
Total corregida	92.633	23			

a. R cuadrado = .678 (R cuadrado corregida = .536)

Anexo 5. Ubicación geográfica del Lago de Amatitlán y sus cuencas.



Anexo 6. Ubicación de estaciones de monitoreo entre el año de 1969 y 1970 en el Lago de Amatitlán.

