



Universidad de San Carlos de Guatemala

Facultad de Ingeniería

Escuela Regional de Ingeniería Sanitaria y Recursos  
Hidráulicos (ERIS)

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS EN AGUAS  
RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**Licenciado Sergio Alfredo Lickes**

Asesorado por MSc. Ing. Zenón Much Santos

Guatemala, noviembre de 2017



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS EN AGUAS  
RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

ESTUDIO ESPECIAL

PRESENTADO A LA ESCUELA REGIONAL DE INGENIERÍA SANITARIA Y  
RECURSOS HIDRÁULICOS (ERIS)

POR

**LIC. SERGIO ALFREDO LICKES**

ASESORADO POR MSC. ING. ZENÓN MUCH SANTOS

COMO REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE  
**MAESTRO (MAGÍSTER SCIENTIFICAE) EN CIENCIAS  
DE RECURSOS HIDRÁULICOS OPCIÓN GESTIÓN INTEGRADA DE  
RECURSOS HÍDRICOS**

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2017



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Jurgen Andoni Ramírez Ramírez
VOCAL V	Br. Oscar Humberto Galicia Nuñez
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN DE ESTUDIO ESPECIAL**

EXAMINADOR	MSc. Ing. Joram Matías Gil Laroj
EXAMINADOR	MSc. Ing. Pedro Cipriano Saravia Celis
EXAMINADOR	MSc. Ing. Zenón Much Santos



## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS EN AGUAS  
RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Tema que me fuera asignado por la Comisión de Admisión y Otorgamiento de Grado de la Escuela de Ingeniería Sanitaria y Recursos Hidráulicos, con fecha junio de 2016.



**Sergio Alfredo Lickes**

Correo electrónico: [salickez@hotmail.com](mailto:salickez@hotmail.com)

Carné núm. 100012494





Guatemala 9 de noviembre de 2017

M.Sc. Ing. Elfego Odvin Orozco Fuentes  
Coordinador de la Maestría en Recursos Hidráulicos  
Escuela Regional de Ingeniería Sanitaria y Recursos Hidráulicos (ERIS)  
Facultad de ingeniería, USAC

Habiendo revisado el documento titulado:

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS EN AGUAS  
RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Elaborado por el licenciado Sergio Alfredo Lickes, como parte de su Estudio Especial, y como requisito para optar al grado académico de Maestro en Ciencias en Recursos Hidráulicos opción Gestión Integrada de Recursos Hídricos, mediante la presente me permito informarle mi satisfacción con su contenido y revisión de lingüística, por lo tanto, le comunico que dicho documento cuenta con mi aprobación.

Agradeciendo la atención prestada a la presente me suscribo de usted.  
Atentamente.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

MSc. Ing. Zenón Mucha Santos  
Asesor del estudio





UNIVERSIDAD DE  
SAN CARLOS DE GUATEMALA



ESCUELA REGIONAL DE INGENIERIA SANITARIA  
Y RECURSOS HIDRAULICOS - ERIS -  
FACULTAD DE INGENIERIA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA - USAC -

Facultad de Ingeniería  
Escuela Regional de Ingeniería  
Sanitaria y Recursos Hidráulicos  
COORDINACIÓN  
RECURSOS HIDRÁULICOS

Edificio ERIS,  
Area de prefabricados, CII  
Ciudad Universitaria zona 12  
Ciudad de Guatemala 01012  
Guatemala, C.A.

Tel. (502) 2418 8000,  
Ext. 86213 y 86212  
(502) 2418 9138

[www.ingenieria-usac.edu.gt](http://www.ingenieria-usac.edu.gt)

Guatemala, 10 de noviembre de 2017

Señores  
Comisión de Admisión y Otorgamiento de Grado  
Escuela Regional de Ingeniería Sanitaria y Recursos Hidráulicos  
Facultad de Ingeniería, USAC

Respetuosamente les comunico que he revisado la versión corregida, en mi calidad de Coordinador de la Maestría de Recursos Hidráulicos, el trabajo de Estudio Especial titulado:

**Aislamiento y caracterización de bacterias lipolíticas en aguas residuales de la planta de tratamiento de aguas residuales de la universidad de San Carlos de Guatemala**

presentado por el estudiante,

**Licenciado Sergio Alfredo Lickes**

Les manifiesto que el estudiante cumplió con los requisitos exigidos por la Escuela Regional de Ingeniería Sanitaria y Recursos Hidráulicos (ERIS) Y la Universidad de San Carlos de Guatemala, en la realización de su estudio en forma satisfactoria.

Agradeciéndoles la atención a la presente, se suscribe de ustedes,

Atentamente.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

MSc. Ing. Elfego Orozco  
Coordinador Maestría de Recursos Hidráulicos

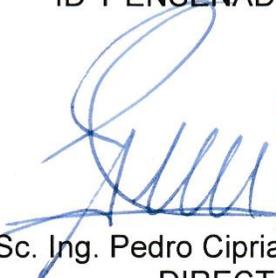




El Director de la Escuela Regional de Ingeniería Sanitaria y Recursos Hidráulicos -ERIS- después de conocer el dictamen del tribunal examinador integrado por los profesores siguientes: MSc. Ing. Joram Matías Gil Laroj, MSc. Ing. Pedro Cipriano Saravia Celis y MSc. Ing. Zenón Much Santos; así como el visto bueno del Coordinador de la Maestría en Recursos Hidráulicos, MSc. Ing. Elfego Odvin Orozco Fuentes, la revisión de lingüística realizada por la Licda. en Letras Jéssica Edith Melgarejo Monterroso, colegiada No. 27,003, al trabajo del estudiante: Licenciado Sergio Alfredo Lickes, titulado **"AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS LIPOLÍTICAS EN AGUAS RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA"**, en representación de la Comisión de Admisión y Otorgamiento de Grado, procede a la autorización del mismo en Guatemala, 14 de noviembre de 2017.

**IMPRIMASE**

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
  
MSc. Ing. Pedro Cipriano Saravia Celis  
DIRECTOR



## **ACTO QUE DEDICO A:**

**Universidad de San Carlos  
de Guatemala**

Por recibirme con las puertas abiertas.

**Escuela Regional de  
Ingeniería Sanitaria (ERIS)**

Por el esfuerzo en forjar profesionales en  
el área.

**Pueblo de Guatemala**

Por su lucha constante.

**Mi familia**

Por su apoyo incondicional.

**Mis amigos**

Por ser parte de mi vida.



## **AGRADECIMIENTOS A:**

**Universidad de San Carlos  
de Guatemala**

Por haberme abierto las puertas del conocimiento.

**Escuela Regional de  
Ingeniería Sanitaria y  
Recursos Hidráulicos**

En especial al personal docente y administrativo.

**Laboratorio Microbiológico  
de Referencia -LAMIR- de la  
Facultad de Ciencias  
Químicas y Farmacia**

Por brindarme la oportunidad de desarrollar el trabajo práctico.

**Personal operativo de la  
PTAR de la Universidad de  
San Carlos de Guatemala**

En especial al señor Arturo González, por su valioso apoyo en el proceso de captación de muestras.

**Señora Consuelo Estrada**

Auxiliar de Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

**Señor Julio Maas**

Técnico de Laboratorio del LAMIR, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	III
LISTA DE SÍMBOLOS .....	V
GLOSARIO .....	VII
RESUMEN.....	IIX
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	XI
JUSTIFICACIÓN.....	XIII
OBJETIVOS.....	XV
HIPÓTESIS.....	XVII
ANTECEDENTES.....	XIX
ALCANCES Y LIMITACIONES .....	XXIII
INTRODUCCIÓN .....	XXV
1. MARCO TEÓRICO .....	1
1.1. Tributirina.....	4
1.2. Agar tributirina .....	5
1.3. Pruebas de diferenciación .....	6
1.3.1. Coloración de Gram .....	6
1.3.2. Oxidasa.....	6
1.3.3. Catalasa .....	7
1.3.4. Oxidación Fermentación (OF).....	8
1.3.5. Movilidad.....	8
1.3.6. Crecimiento en agar Mac Conkey .....	9

1.4. Descripción del área de estudio .....	9
1.4.1. Planta de tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala .....	9
1.4.2. Localización .....	12
2. METODOLOGÍA .....	15
2.1. Puntos de muestreo .....	15
2.2. Tipo de muestra.....	17
2.3. Diseño y método estadístico .....	17
2.3.1. Número de muestras y frecuencia del muestreo.....	17
2.4. Criterio de actividad lipolítica.....	18
2.5. Procedimientos de aislamiento y resiembra .....	18
2.6. Caracterización.....	19
3. RESULTADOS.....	21
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	27
CONCLUSIONES .....	33
RECOMENDACIONES.....	35
BIBLIOGRAFÍA.....	37
APÉNDICES.....	43
ANEXOS.....	68

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	Hidrólisis de un ácido graso (tributirina) .....	2
2.	Hidrólisis de triglicéridos catalizada por lipasa. ....	4
3.	Molécula de tributirina .....	5
4.	Esquema de la PTAR USAC .....	11
5.	Ubicación de la PTAR USAC .....	13
6.	Puntos de muestreo .....	16
7.	Gráfica de cantidad de cepas aisladas por fase de la PTAR.....	28
8.	Cantidad de cepas aisladas por mes de muestreo.....	32

### TABLAS

I.	Diferencias generales entre lipasas y esterases .....	3
II.	Puntos de muestreo .....	15
III.	Listado de cepas aisladas y código de cepa asignado.....	21
IV.	Resultados galería API® 20 NE .....	23
V.	Resultados galería API® 20 E.....	24
VI.	Resultados galería API® 50 CHB.....	25
VII.	Listado de cepas no identificadas y sus características. ....	26
VIII.	Bacterias aisladas en las muestras de julio de 2016.....	29
IX.	Bacterias aisladas en las muestras que fueron captadas en agosto de 2016 .....	30
X.	Bacterias aisladas en las muestras que fueron captadas en septiembre de 2016.....	31



## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
<b>g/L</b>	Gramos por litro
<b>m</b>	Metro
<b>mg/L</b>	Miligramos por litro
<b>mL/L</b>	Mililitros por litro
<b>UFC/mL</b>	Unidad formadora de colonia por mililitro
<b>sp.</b>	Indica que es una especie del género indicado
<b>°C</b>	Grado Celsius



## GLOSARIO

<b>Afluente</b>	Caudal de agua que llega a una planta o unidad de tratamiento.
<b>Cepario</b>	Colección de bacterias con fines de conservación, que pueden ser utilizadas para investigación, diagnóstico y otros fines.
<b>Cultivo axénico</b>	Cultivo que contiene una sola clase de microorganismos, también llamado cultivo puro.
<b>DBO</b>	Demanda bioquímica de oxígeno.
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno.
<b>Efluente</b>	Caudal de agua que sale a una planta o unidad de tratamiento.
<b>Halotolerante</b>	Calificativo que se le da a un organismo que es capaz de soportar altas concentraciones de sal.
<b>IUPAC</b>	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry).

<b>Lipasas</b>	Enzimas lipolíticas son biocatalizadores que llevan a cabo reacciones de síntesis, hidrólisis o intercambios de grupos en sustancias oleosas.
<b>Lipólisis</b>	Proceso mediante el cual los lípidos son transformados para producir ácidos grasos y glicerol. También se le puede llamar hidrólisis de triglicéridos. La lipólisis es el conjunto de reacciones bioquímicas inversas a la lipogénesis.
<b>Microbiota</b>	La suma total de microorganismos que conviven en un ambiente determinado.
<b>Microorganismo sacarolítico</b>	Microrganismo que utiliza la glucosa como fuente de carbono.
<b>PTAR</b>	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales.
<b>Tributirina</b>	Triglicérido compuesto de ácido butírico y glicerol.
<b>USAC</b>	Universidad de San Carlos de Guatemala.

## RESUMEN

En el presente informe se encuentra la información obtenida en la caracterización de bacterias lipolíticas aisladas de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con la finalidad de crear un cepario para que las cepas bacterianas aisladas estén disponibles para estudios posteriores de degradación de grasas en aguas residuales.

Se tomaron muestras de agua residual de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la USAC. Las muestras fueron tomadas en tres fechas diferentes, y en cinco puntos en cada una de las fechas, durante los meses de julio, agosto y septiembre de 2016.

Se aislaron bacterias con actividad lipolítica utilizando como sustrato agar tributirina, las cepas aisladas fueron caracterizadas por medio de coloración de Gram; pruebas para separar por grupos como catalasa, OFglucosa, movilidad, crecimiento en agar Mac Conkey y oxidasa. Posteriormente se utilizaron pruebas bioquímicas específicas. Las pruebas comerciales utilizadas fueron las galerías API® 20 E, API® 20 NE Y API® 50 CHB de la marca BioMérieux, que se seleccionaron de acuerdo al microorganismo y siguiendo diagramas de flujo específicos. (Anexos 1 y 2).

Se aislaron un total de treinta y cinco (35) cepas con actividad lipolítica, de las cuales pudieron ser identificadas veinte (20). De las 20 cepas identificadas, 18 son Gram negativo y 2 Gram positivo. Entre las especies identificadas se encuentran: *Serratia marcescens*, *Acinetobacter*

*baumannii/calcoaceticus*, *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Comamonas testosteroni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Pasteurella aerogenes*, *Pasteurella* spp., *Chromobacterium violaceum*, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens* y *Bacillus coagulans*.

Las cepas aisladas se sembraron en agar de conservación con aceite mineral para conformar un cepario; así como también para garantizar su preservación a temperatura ambiente y dejándolas disponibles para su utilización en estudios posteriores.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El problema de los efluentes urbanos e industriales está íntimamente relacionado con la contaminación ambiental, ya que constituye una de sus causas. Con el aumento de la población y las necesidades creadas se han multiplicado los problemas que ocasionan los residuos generales, que lógicamente van en aumento. Esta es una consecuencia obligada y que fundamentalmente proviene de la falta de previsión al no incluir en las inversiones iniciales una planta de tratamiento de efluentes. Un tratamiento de aceites de desecho usando microorganismos lipolíticos capaces de bioconvertir (o biodegradar) estos en productos de interés, reduciendo así su impacto en el ecosistema, sería una alternativa adecuada a este problema. Si se diseña para los microorganismos biodegradadores la correcta combinación de nutrientes y factores ambientales se permitirá romper las cadenas químicas y desactivar sus propiedades.

Con los resultados del estudio se podrá contar con una base de cepas bacterianas con actividad lipolítica, aisladas localmente y que posteriormente se podrán utilizar para estudios y producción de biomasa para la utilización en plantas de tratamiento de aguas residuales.



## JUSTIFICACIÓN

La importancia que tiene la conservación de recursos naturales ha despertado en la sociedad la búsqueda de soluciones para cuidarlos y recuperarlos, con el fin de que sean aprovechados por los seres vivos. “Las grasas y aceites de desecho forman parte hoy en día de los contaminantes que más afectan al medio acuático, cuando se desecha a través del alcantarillado y llegan al mar (cuerpos de agua) sin tratamiento adecuado”.

La cantidad de lípidos en las aguas residuales municipales es de aproximadamente 30-40 % del total de la demanda química de oxígeno. Las aguas residuales que contienen grasas y aceites tradicionalmente se tratan de forma física, este tratamiento se considera actualmente insuficiente si la grasa está en su forma dispersa. Se ha descrito que el tratamiento biológico es el método más eficiente para la eliminación de grasas y aceites, degradándolas en moléculas miscibles; por lo tanto, la manipulación de microorganismos para fines de tratamiento y de biorremediación proporciona una herramienta muy eficaz para la purificación de efluentes contaminados y aguas naturales<sup>1</sup>.

Adicionalmente, el tratamiento biológico se prefiere sobre los procesos físico-químicos, ya que es rentable, eficiente y amigable con el medio ambiente<sup>2</sup>. de allí la importancia de contar con un banco de cepas aisladas localmente para posteriormente desarrollar un tratamiento biológico.

---

<sup>1</sup> ODEYEMI, Aletoba. et al. *Lipolytic Activity of some Strains of Klebsiella, Pseudomonas and Staphylococcus Spp. from Restaurant Wastewater and Receiving Stream.* p. 43.

<sup>2</sup> MAHAJAN, Deeksha., KARNWAL, Arun. *Removal of Vegetable Oil from Contaminated Industrial Effluents by Bacteria.* p. 257.



## **OBJETIVOS**

### **General**

Aislar bacterias con actividad lipolítica de las aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### **Específicos**

1. Evidenciar la actividad lipolítica en bacterias aisladas de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
2. Caracterizar bacterias con actividad lipolítica aisladas de aguas residuales de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
3. Generar un cepario con las bacterias aisladas que presenten capacidad lipolítica.
4. Proveer de material biológico para estudios posteriores de fuentes de producción de lipasas destinadas al uso en el biotratamiento de aguas residuales.



## **HIPÓTESIS**

En el efluente de cada una de las unidades de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala existen bacterias lipolíticas capaces de ayudar en la degradación de grasas y aceites y se aislarán al menos 20 cepas.



## ANTECEDENTES

Es posible obtener cultivos puros de bacterias con propiedades lipolíticas utilizando medio enriquecido con un lípido como sustrato. Un cultivo axénico (o puro) se puede aislar de muchas maneras a partir de un cultivo de enriquecimiento. Entre las técnicas habituales de aislamiento están la siembra en placa por estrías, la dilución en agar y la dilución en líquido<sup>3</sup>. En este estudio se utilizó la técnica de dilución en agar para obtener colonias separadas de bacterias y posteriormente cultivos puros.

En la revisión de literatura se encontraron diversos reportes de estudios, realizados en diferentes países, sobre aislamiento de bacterias lipolíticas en aguas residuales y otras fuentes, entre ellos:

Estudios de comparación de técnicas de aislamiento, como la reportada por Harris y colaboradores, en el que se compararon tres diferentes métodos, empleando dos medios de cultivo: agar estándar de conteo en placa (Standard Plate Count Agar -SPCA-) y agar tripticasa soya enriquecido con peptona al 1% (Trypticase Soy Agar -TSA-). En este estudio se reportó que el método de doble capa produjo un número ligeramente mayor de bacterias lipolíticas que un método de una sola capa con medios comparables y se logró una mejor claridad visual con el método de una sola capa. El medio TSA enriquecido con peptona soporta un mejor crecimiento de las bacterias lipolíticas que el SPCA. En todos los casos se utilizó mantequilla de leche clarificada como sustrato<sup>4</sup>.

---

<sup>3</sup> MADIGAN, Michael., et al. *Brock. Biología de los microorganismos*. p. 614.

<sup>4</sup> HARRIS, P., CUPPETT S., BULLERMAN L. *A technique comparison of isolation of lipolytic bacteria*. p. 176-177.

En estudios realizados en Colombia sobre la capacidad degradadora de aceite por bacterias lipolíticas en el lodo residual de la extracción de aceite de palma se reportaron 4 géneros de bacterias con esta capacidad: *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus* y *Staphylococcus*<sup>5</sup>.

En otro estudio realizado también en Colombia sobre aislamiento de bacterias lipolíticas a partir de residuos orgánicos domiciliarios en compostaje (residuos orgánicos), se aislaron 9 cepas de bacterias que fueron clasificadas como presuntivas por su capacidad lipolítica, de estas 9 cepas se confirmaron tres, de las cuales todas fueron bacilos Gram negativo y se caracterizaron morfológicamente las colonias de cada una de las cepas sin profundizar en la identificación<sup>6</sup>.

En Perú, con el objetivo de aislar bacterias halotolerantes con actividad lipolítica, recolectaron muestras de suelos salinos. Se preseleccionaron 55 bacterias con características morfológicas diferentes y en base a su capacidad de hidrolizar los sustratos específicos y de presentar tolerancia salina variable desde 0 a 25 %, se seleccionaron 14 bacterias que crecieron óptimamente (lipolíticas y halotolerantes). De las 14 bacterias seleccionadas, seis fueron bacilos Gram positivo y ocho Gram negativo. Estas 14 bacterias constituyen fuentes promisorias para la producción de lipasas y biotratamiento de residuos oleosos<sup>7</sup>.

---

<sup>5</sup> OTÁLORA, Miguel., et al. *Evaluación de la capacidad degradadora de aceite por bacterias lipolíticas en el lodo residual de la extracción de aceite de palma*. p. 288.

<sup>6</sup> CEPEDA, Leidy y VALENCIA, Sandra. *Aislamiento de bacterias lipolíticas y determinación de patógenos humano Escherichia coli y Salmonella sp. a partir de residuos orgánicos domiciliarios en compostaje*. p. 52.

<sup>7</sup> FLORES-FERNÁNDEZ, Mónica y colaboradores. *Bacterias halotolerantes con actividad lipolítica aisladas de las Salinas de Pilluana San Martín*. p. 88.

Un reporte en India de un estudio en suelos contaminados con aceites indica que se aislaron 7 cepas con actividad lipolítica, de las cuales dos aislamientos fueron identificados principalmente como *Aspergillus flavus* y dos cepas identificadas como *Micrococcus*<sup>8</sup>.

En un estudio en África se reportaron 32 bacterias con capacidad lipolítica aisladas del efluente de aguas residuales de un restaurante en Nigeria. Las 32 bacterias aisladas se encontraron agrupadas en los géneros *Enterococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia* y *Staphylococcus*<sup>9</sup>.

En un estudio de tesis de Maestría sobre aislamiento y caracterización de bacterias lipolíticas realizada en la Universidad de Stellenbosch, Sudáfrica, se reportó el aislamiento de cuatro bacterias: *Pseudomonas fluorescens*, *P. luteola*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Bacillus licheniformis* con actividad lipolítica a diferentes temperaturas<sup>10</sup>.

Por otro lado, también se encuentran estudios sobre el uso de bacterias en el tratamiento de aguas residuales, como en un estudio de biodegradación de residuo graso industrial realizado en Venezuela, en el cual se reportó que con una mezcla de las bacterias aisladas de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter* realizaron una prueba de degradación, en la cual, se obtuvo una reducción del 91.4 % en masa de las grasas del residuo graso estudiado,

---

<sup>8</sup> HOMBALIMATH, Veeranna. *Isolation and characterization of lipolytic microorganisms from oil contaminated soil*. p. 293.

<sup>9</sup> ODEYEMI, Aletoba. et al. *Lipolytic Activity of some strains of Klebsiella, Pseudomonas and Staphylococcus Spp. from restaurant wastewater and receiving stream*. p. 43.

<sup>10</sup> HENDRICKS, Ashley. *Isolation and characterization of lipolytic bacteria and investigation of their ability to degrade fats, oils and grease in grain distillery wastewater*. p. 3.

eliminando así un 90 % del volumen de residuos grasos y olores desagradables de la trampas de grasas de empresas procesadoras de cerdos y aves<sup>11</sup>.

En Guatemala se han realizado diversos estudios de eficiencias en degradación de cargas orgánicas (DBO<sub>5</sub>) e inorgánicas (DQO), y nutrientes, sin embargo, no se encontraron registros sobre estudios relacionados con microorganismos degradadores de grasas en aguas residuales.

---

<sup>11</sup> GONZÁLEZ, Diana, AMAÍZ, Luis, MEDINA Luis, et al. *Biodegradación de residuo graso industrial empleando bacterias endógenas*. p. 105.

## ALCANCES Y LIMITACIONES

Por ser primera vez que se realiza un estudio bacteriológico de microorganismos degradadores de grasas, sería de mucha ayuda contar con datos de caracterización de grasas y aceites en el afluente y efluente de la PTAR de la Universidad de San Carlos, sin embargo, no se encontraron estudios que reflejen datos de ingreso (carga) y eficiencia en el tratamiento de grasas y aceites de la PTAR de la USAC.

Debido a que el cultivo de bacterias lipolíticas no se realiza en Guatemala, las pruebas de identificación disponibles en el mercado se encuentran diseñadas principalmente para muestras clínicas, por lo que la identificación de bacterias se encuentra limitada a las bases de datos de las pruebas utilizadas; por lo anterior, existe un gran número de bacterias ambientales que no aparecen en las tablas de identificación, adicionalmente, existe una poca disponibilidad de reactivos y medios de cultivo a nivel local, lo que implica tiempo prolongado de importación (>3 meses) de medios de cultivo y reactivos a precios elevados.

Los drenajes de la Universidad de San Carlos de Guatemala son en su mayoría drenajes combinados, con lo cual en época lluviosa se produce una dilución y arrastre de la microbiota de la PTAR.



## INTRODUCCIÓN

Los lípidos (representados mayoritariamente por aceites, grasas y ácidos grasos de cadena larga) son componentes orgánicos importantes en aguas residuales que significan un gran problema en el tratamiento y como contaminantes de los ecosistemas acuáticos. La demanda global en el consumo de aceite vegetal se incrementó rápidamente (3.5 %) entre los años 1980 y 2000; lo que ha sido relacionado también con la contaminación ambiental debido a su descarga indiscriminada al medio ambiente, sin un tratamiento previo, por encima de los límites permitidos. Los principales constituyentes de los lípidos (aceites y grasas) residuales son los aceites vegetales y las grasas animales usados en restaurantes y procesos industriales; que se componen de triglicéridos y ácidos grasos libres<sup>12</sup>.

Los microorganismos juegan un papel importante para purificar efluentes eliminando aceites de efluentes contaminados. Los factores importantes en la degradación de sustancias orgánicas por microorganismos son la producción de varios tipos de enzimas y el rápido crecimiento de microorganismos. Varios microorganismos tienen la capacidad de producir la enzima lipasa extracelular que hidroliza los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol<sup>13</sup>.

Por lo anteriormente mencionado, existe un potencial en la utilización de cepas bacterianas aisladas localmente, en este caso de la PTAR de la

---

<sup>12</sup> HUANÉ, Lourdes., RIVERA, Ronie. *Evaluación de la adición de un inóculo para estimular a escala de laboratorio la biodegradación de efluentes grasos.* p. 3.

<sup>13</sup> MAHAJAN, Deeksha., KARNWAL, Arun. *Removal of vegetable oil from contaminated industrial effluents by bacteria.* p. 257.

Universidad de San Carlos de Guatemala, para desarrollar un producto a base de bacterias que posteriormente puedan utilizarse como biotratamiento de aguas residuales, específicamente en la degradación de grasas y aceites.

## 1. MARCO TEÓRICO

Los microorganismos están presentes en cualquier lugar de la Tierra propicio para mantener la vida. Esto incluye hábitats con los que estamos familiarizados –el suelo, el agua, los animales y las plantas– así como prácticamente cualquier estructura fabricada por los seres humanos<sup>14</sup>.

Los microorganismos producen enzimas, moléculas cuya función biológica es dirigir reacciones químicas específicas. Un grupo de estas enzimas son las hidrolasas, llamadas así debido a que hidrolizan grandes moléculas hacia componentes más pequeños. En este grupo se encuentran incluidas las lipasas. Existen microorganismos capaces producir lipasas y por lo tanto capaces de degradar grasas por medio de estas enzimas lipolíticas.

La degradación hidrolítica (hidrólisis) de las grasas ocurre a través de la acción de enzimas que destruyen las grasas o lipasas. Los lípidos simples se degradan (Figura 1) a glicerol y ácidos grasos<sup>15</sup>.

Las enzimas lipolíticas son biocatalizadores que llevan a cabo reacciones de síntesis, hidrólisis o intercambios de grupos en sustancias oleosas. Las enzimas lipolíticas presentes en la naturaleza han sido utilizadas en la producción de alimentos durante millones de años, pero en las últimas décadas han adquirido una mayor importancia; debido a la multitud de aplicaciones tecnológicas en las que son capaces de actuar y a las ventajas que presentan frente a los

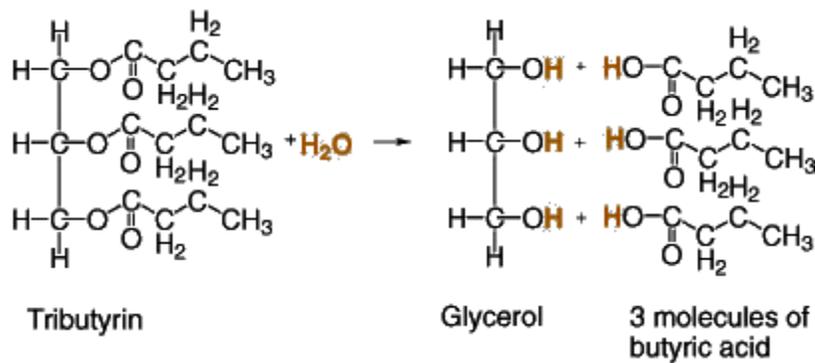
---

<sup>14</sup> MADIGAN, Michael., et al. Brock. Biología de los Microorganismos. p. 8.

<sup>15</sup> VOLK, Wesley A. Microbiología Básica. 7a. edición. p. 81.

catalizadores convencionales no biológicos. Una de las principales fuentes de estos biocatalizadores son las bacterias, ya que son fáciles y rápidas de cultivar, entre otras ventajas, y gracias a las técnicas de biología molecular pueden obtenerse en grandes cantidades<sup>16</sup>.

Figura 1. **Hidrólisis de un ácido graso (tributirina)**



Fuente: CASE, Christine L. *Bioremediation of Fats and Oils*

<https://accounts.smccd.edu/case/envmic/oil.html>. Consulta: 24 de agosto de 2016.

Se puede decir, de forma genérica, que las enzimas lipolíticas se dividen en dos grandes grupos: las lipasas (EC3.1.1.3) y las esterasas o carboxilesterasas (EC 3.1.1.1)<sup>17</sup>.

Las lipasas son específicas para acilgliceroles con ácidos grasos de cadena larga (>10 átomos de carbono), siendo la trioleína su sustrato de referencia; mientras que las esterasas actúan específicamente sobre

<sup>16</sup> NAVARRO-GONZÁLEZ, Inmaculada., et al. Enzimas lipolíticas bacterianas: propiedades, clasificación, estructura, aplicaciones tecnológicas y aspectos legales. p. 45.

<sup>17</sup> *Ibíd.* p. 47.

acilgliceroles de cadena corta (<10 átomos de carbono), y otros esteres simples, siendo la tributirina su sustrato estándar<sup>18</sup>.

De acuerdo con la definición de la Comisión de Enzimas de la IUPAC las lipasas son triacilglicerol éster hidrolasas (Figura 2), es decir, enzimas que catalizan de forma natural la hidrólisis de triacilglicéridos<sup>19</sup>.

Tabla 1. **Diferencias generales entre lipasas y esterases**

<b>Propiedad</b>	<b>Lipasa</b>	<b>Esterasa</b>
<i>Sustratos</i>	Triglicéridos	Ésteres simples
<i>Activación interfacial</i>	Sí	No
<i>Sustrato hidrofóbico</i>	Alta	Alta o baja
<i>Enantioselectividad</i>	Generalmente alta	Alta o baja
<i>Estabilidad en disolventes</i>	Alta	Alta o baja

Fuente: NAVARRO-GONZÁLEZ, I. *Enzimas lipolíticas bacterianas: propiedades, clasificación, estructura, aplicaciones tecnológicas y aspectos legales*.

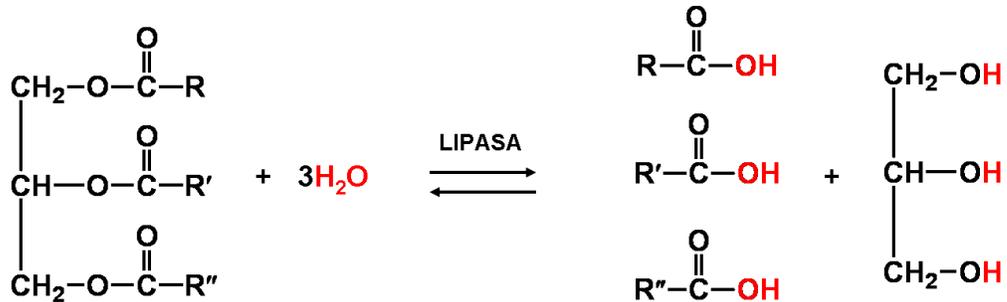
<http://revistas.um.es/analesvet/article/view/188711/155451>. Consulta: 12 de mayo de 2016

Como corresponde a su función biológica las lipasas catalizan de forma natural la hidrólisis de ésteres, especialmente triacilglicéridos de cadena larga, para dar monoacilglicéridos, diacilglicéridos, ácidos grasos libres y glicerol. Sin embargo, son también capaces de catalizar la reacción inversa, es decir esterificación y transesterificación, en ambientes microacuosos. El equilibrio entre la reacción directa (hidrólisis) y la inversa (síntesis) está determinado por la actividad del agua en el medio de reacción.

<sup>18</sup> NAVARRO-GONZÁLEZ, Inmaculada., et al. *Enzimas lipolíticas bacterianas: propiedades, clasificación, estructura, aplicaciones tecnológicas y aspectos legales*. p. 47.

<sup>19</sup> GARCÍA ROMÁN, Miguel. *Hidrólisis enzimática de triglicéridos en emulsiones o/w aplicación a formulaciones detergentes*. p. 15.

Figura 2. **Hidrólisis de triglicéridos catalizada por lipasa**



Fuente: *Función e importancia de lipasa*. <http://bloggminerva.blogspot.com/2013/04/funcion-e-importancia-de-lipasa.html>. Consulta 24 de agosto de 2016

### 1.1. Tributirina

La tributirina es un triglicérido compuesto de ácido butírico y glicerol. Entre otras cosas, es usado como un ingrediente para fabricar margarina. Se lo encuentra en la manteca y puede ser descrito como una grasa líquida de sabor amargo y olor similar a la mantequilla rancia. Su fórmula molecular es  $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2)_2\text{CHOCOCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  y posee un peso molecular de 302.36 g/mol. La tributirina es la más simple de las grasas y, por lo tanto, cuando es metabolizada, la lipólisis puede ser fácilmente detectada por la formación de una zona clara alrededor de la colonia en un agar turbio debido a la emulsión de grasa<sup>20</sup>.

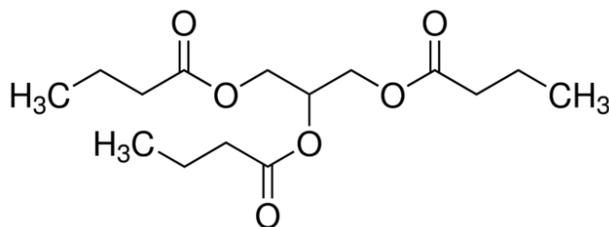
<sup>20</sup> HENDRICKS, Ashley. *Isolation and Characterization of Lipolytic Bacteria and Investigation of their Ability to Degrade Fats, Oils and Grease in Grain Distillery Wastewater*. p.59.

Nombre IUPAC:

1,3-Di(butanoyloxy)propan-2-yl butanoate.

Sinónimos: 1,2,3-Tributirilglicerol, Glicerol tributirato, Gliceril tributirato.

Figura 3. **Molécula de tributirina**



Fuente: *Product Comparison Guide*.

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/tributyryn302366001511?lang=en&region=GT>.

Consulta 24 de agosto de 2016

## 1.2. **Agar tributirina**

Es el medio de cultivo base que se suplementa con tributirina y que se utiliza para la detección de microorganismos lipolíticos tales como *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* y otros, en diferentes sustratos. La composición típica del agar tributirina es: peptona de carne 2.5 g/L, peptona de caseína 2.5 g/L, extracto de levadura 3.0 g/L, agar-agar 12.0 g/L y tributirina 10mL/L, con ligeras variaciones de acuerdo a las casas comerciales que lo producen. La digestión péptica del tejido animal y el extracto de levadura proporcionan nutrientes a los organismos. La degradación de la tributirina por los microorganismos está indicada por zonas claras que rodean las

colonias lipolíticas en el medio de cultivo turbio (Apéndice 1). El medio debe tener una emulsión uniformemente turbia para la eficacia del medio de cultivo<sup>21</sup>.

### **1.3. Pruebas de diferenciación**

Para la caracterización de bacterias, generalmente se realizan pruebas de diferenciación, entre ellas: coloración de Gram, prueba de oxidasa, prueba de la catalasa, prueba de oxidación/fermentación, prueba de movilidad y posteriormente pruebas de confirmación.

#### **1.3.1. Coloración de Gram**

La tinción de Gram o coloración de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en bacteriología para la visualización de bacterias, normalmente se usa como primer paso para la caracterización de bacterias recién aisladas. Debe su nombre al bacteriólogo danés Christian Gram (1853-1938), que desarrolló la técnica en 1884. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana, como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana. Una vez teñidas, las bacterias Gram positivo se muestran de color morado, y las Gram negativo de color rosa<sup>22</sup>.

#### **1.3.2. Oxidasa**

La prueba de la oxidasa se basa en la producción bacteriana de la enzima intracelular (oxidasa). Esta reacción se debe a que el sistema de citocromo oxidasa activa la oxidación del citocromo reducido por medio de oxígeno

---

<sup>21</sup> MERCK. *Merck Microbiology Manual 12th Edition*. p. 470. / Sigma-Aldrich. *Tributyryn Agar. Product information*.

<sup>22</sup> MADIGAN, Michael., et al. Brock. *Biología de los Microorganismos*. p. 29.

molecular. Las bacterias aeróbicas obtienen su energía a través de la respiración, proceso responsable de la oxidación de varios sustratos. La oxidasa cataliza la remoción del hidrógeno de un sustrato utilizando únicamente oxígeno como aceptor de hidrógeno.

El sistema de citocromo se encuentra presente en organismos aeróbicos, permitiendo que se utilice el oxígeno como último aceptor de electrones, reduciendo el oxígeno molecular a peróxido de hidrógeno (el último paso de la cadena respiratoria)<sup>23</sup>.

### **1.3.3. Catalasa**

La enzima catalasa se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo; la excepción principal son las bacterias del género *Streptococcus*. Por lo general, los organismos que no poseen el sistema citocromo carecen también de la enzima catalasa y por lo tanto no pueden descomponer el peróxido de hidrógeno; la mayoría de las bacterias anaerobias poseen la enzima peroxidasa en lugar de la catalasa. La catalasa es una hemoproteína; el grupo prostético está formado por cuatro átomos de hierro trivalente por molécula que retiene su estado oxidado durante la actividad enzimática.

El peróxido de hidrógeno se forma como un producto terminal oxidativo de la descomposición aeróbica de los azúcares; si se deja acumular, es tóxico para las bacterias y provoca su muerte. La catalasa descompone el peróxido de hidrógeno y oxida los sustratos secundarios<sup>24</sup>.

---

<sup>23</sup> BRAN, María del Carmen y colaboradores. *Manual de pruebas de laboratorio para la identificación de bacterias*. p. 284.

<sup>24</sup> *Ibíd.* p. 66.

#### **1.3.4. Oxidación Fermentación (OF)**

Los microorganismos sacarolíticos pueden degradar la glucosa por vía fermentativa, oxidativa o ambas. Los productos de la fermentación son ácidos mixtos relativamente fuertes, y fáciles de detectar; los productos de la oxidación son ácidos débiles y necesitan un medio para su detección más sensible: el medio Hugh-Leifson. La producción de ácido se detecta en el medio por la aparición de color amarillo; cuando el microorganismo es oxidativo el viraje del color se observa primero en la superficie del medio.

Esta prueba permite determinar el tipo de metabolismo (oxidativo o fermentativo) sobre un hidrato de carbono, incorporados a un medio de cultivo que puede contener un indicador de pH (generalmente se usan indicadores que viran a amarillo en medio ácido), produciendo ácido y gas en condiciones aerobias, anaerobias o en ambas<sup>25</sup>.

#### **1.3.5. Movilidad**

Se utiliza para determinar si un microorganismo es móvil o inmóvil. La bacteria es móvil cuando tiene flagelo. Principalmente son los bacilos los que poseen flagelos, pero hay algunas formas cocoides que son móviles. Las bacterias móviles poseen un flagelo o varios flagelos, y la localización varía según la especie bacteriana y el medio de cultivo. Ocasionalmente, bacterias móviles producen variantes no móviles que parecen estables y en raras ocasiones se revierten a su forma móvil. Los organismos no móviles carecen de flagelos<sup>26</sup>.

---

<sup>25</sup> BRAN, María del Carmen y colaboradores. *Manual de pruebas de laboratorio para la identificación de bacterias*. p. 269.

<sup>26</sup> *Ibíd.* p. 258.

### **1.3.6. Crecimiento en agar MacConkey**

El agar MacConkey es un medio de cultivo selectivo y diferencial, posee entre sus componentes sales biliares y cristal violeta que inhiben el crecimiento de microorganismos Gram positivo. Adicionalmente, este medio de cultivo tiene lactosa y rojo neutro como indicador de pH lo que facilita la diferenciación de microorganismos lactosa positivo que producen colonias color rojo rodeadas por una zona turbia debido a la precipitación de sales biliares como consecuencia del descenso del pH. Las colonias lactosa negativo son incoloras<sup>27</sup>.

## **1.4. Descripción del área de estudio**

### **1.4.1. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala (PTAR USAC)**

La PTAR USAC fue diseñada por el Ing. Arturo Pazos en el año de 1989, como un sistema de tratamiento biológico de un filtro percolador de tres etapas en serie, con una capacidad para 50,000 estudiantes. Fue construida por la Compañía Constructora de Obras Civiles (COCISA) en 1990.

El sitio seleccionado para su construcción es un terreno de topografía irregular, que permite aprovechar la fuerza de gravedad como mecanismo para el movimiento del agua residual en las unidades del proceso<sup>28</sup>.

---

<sup>27</sup> BRAN, María del Carmen y colaboradores. *Manual de pruebas de laboratorio para la identificación de bacterias*. p. 102.

<sup>28</sup> RAMÍREZ SÁNCHEZ, Óscar Luis. *Investigación de la eficiencia de las etapas en serie del filtro percolador de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos*. p. 26.

La PTAR USAC está constituida por las siguientes unidades: canal de rejillas, desarenador, sedimentador primario, filtros percoladores, sedimentador secundario, del sedimentador secundario el agua tratada se descarga hacia el cuerpo receptor y los lodos son dirigidos a un digestor de lodos y de este los lodos son trasladados a un patio de secado. En la figura 4 se puede observar la distribución de las unidades de la PTAR.

El diseño de los filtros percoladores está construido en tres etapas dispuestas en serie. Cada una de las etapas posee las mismas dimensiones constructivas y utilizan piedra volcánica como medio filtrante.

La eficiencia en la remoción de la materia orgánica, medida como la demanda bioquímica de oxígeno, DBO<sub>5</sub> del sedimentador primario alcanza en promedio un 63.09 % y el filtro percolador un 32.62 %. Al considerar solamente al filtro percolador, la etapa I alcanza una eficiencia promedio del 71.71 %, la etapa II del 25.08 % y etapa III del 3.97 %<sup>29</sup>.

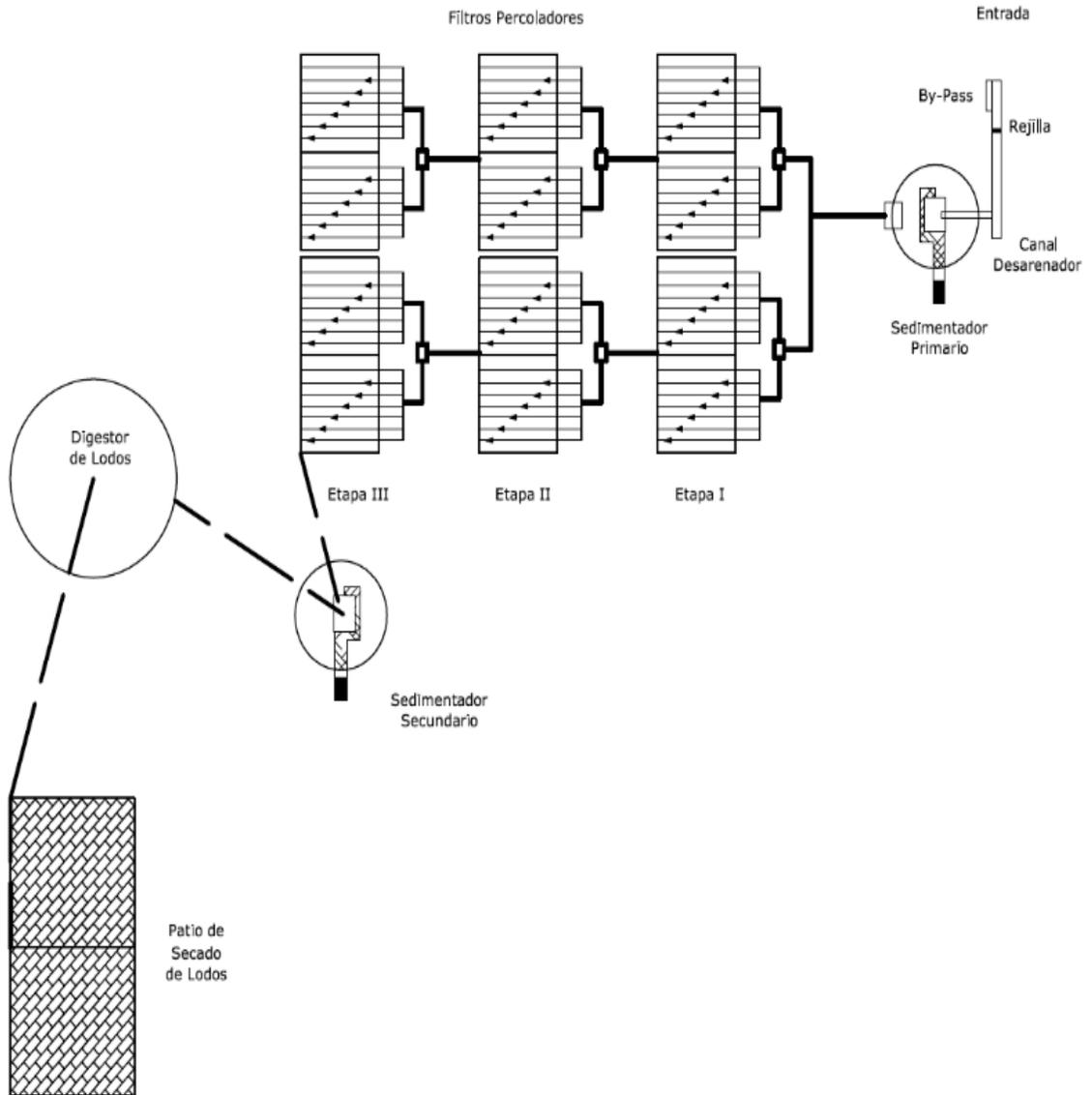
La eficiencia promedio de remoción de materia orgánica es de 79.8 % de DBO<sub>5</sub> y la eficiencia promedio de remoción de DQO es de 71.82 %<sup>30</sup>.

---

<sup>29</sup> RAMÍREZ SÁNCHEZ, Óscar Luis. *Investigación de la eficiencia de las etapas en serie del filtro percolador de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos*. p. XI.

<sup>30</sup> PIERRI PALMA, Ileana Felicia. *Eficiencia en la remoción de nitrógeno y fósforo en los filtros percoladores de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. p. VII.

Figura 4. Esquema de la PTAR USAC



Fuente: PIERRI, Ileana, *Eficiencia en la remoción de nitrógeno y fósforo en los filtros percoladores de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. p. 13.

### 1.4.2. Localización

La Planta de Tratamiento de Aguas Residuales se encuentra en la Ciudad Universitaria, Campus Central zona 12 de la ciudad de Guatemala.

Al norte, este y sur colinda con los predios de la Ciudad Universitaria y al oeste, con la colonia El Carmen y una quebrada de por medio, que se origina a inmediaciones de la Ciudad Universitaria<sup>31</sup>.

La entrada se ubica después de la Unidad de EPS y la Granja de Veterinaria. El trayecto se encuentra señalizado hasta la planta de tratamiento como se muestra en la figura 5. El camino está debidamente cercado y solo puede ingresar personal autorizado<sup>32</sup>.

Las coordenadas geográficas de la planta de tratamiento son las siguientes:

Latitud: 14° 34' 43" N,

Longitud: 90° 33' 34.8" O

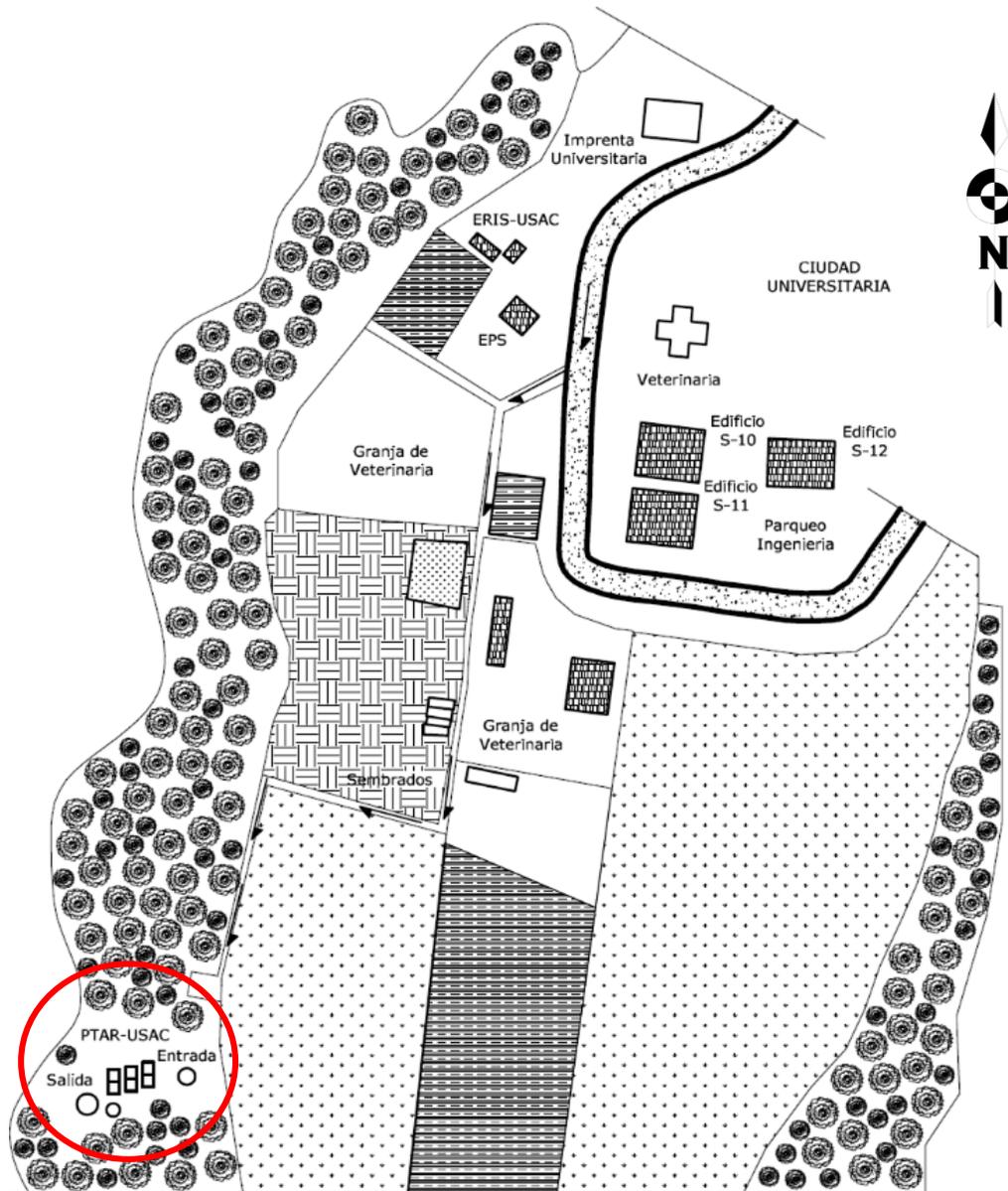
Altitud: 1456 msnm.

---

<sup>31</sup> RAMÍREZ SÁNCHEZ, Óscar Luis. *Investigación de la eficiencia de las etapas en serie del filtro percolador de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos*. p. 27.

<sup>32</sup> PIERRI PALMA, Ileana Felicia. *Eficiencia en la remoción de nitrógeno y fósforo en los filtros percoladores de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. p. 11.

Figura 5. Ubicación de la PTAR USAC



Coordenadas:

Latitud: 14° 34' 43" N.

Longitud: 90° 33' 34.8" O.

Fuente: PIERRI, Ileana. *Eficiencia en la remoción de nitrógeno y fósforo en los filtros percoladores de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. p. 12. Modificado S Lickes.



## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Puntos de muestreo

Se seleccionaron cinco puntos de muestreo en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A continuación, en la tabla II se listan los puntos de muestreo con la numeración asignada y la descripción del punto de muestreo

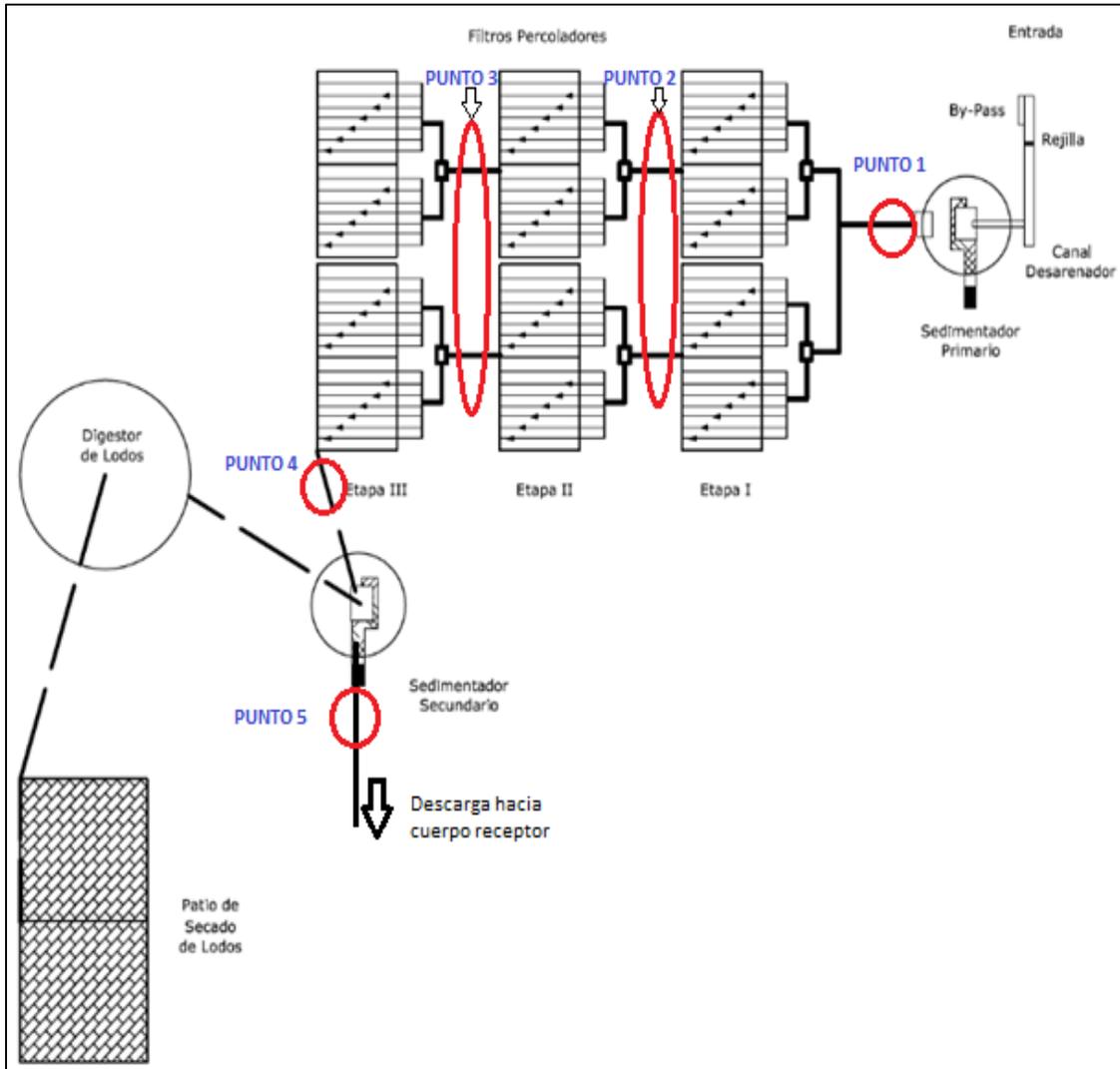
Tabla II. **Puntos de muestreo**

<b>No.</b>	<b>Descripción</b>
1	Salida de sedimentador primario
2	Salida de filtro percolador etapa I
3	Salida de filtro percolador etapa II
4	Salida de filtro percolador etapa III
5	Salida de sedimentador secundario

Fuente: elaboración propia.

En la figura 6 se muestra un diagrama de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala y se encuentran señalados los puntos de muestreo.

Figura 6. Puntos de muestreo



Fuente: Elaboración propia, basada en el diagrama de PIERRI, Ileana. *Eficiencia en la remoción de nitrógeno y fósforo en los filtros percoladores de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. p. 13.

Los puntos de muestreo fueron definidos en la salida de cada una de las unidades de la PTAR, excepto el canal de rejillas y desarenador, es decir, en la salida del sedimentador primario (apéndice 2), en la salida de cada una de las tres etapas de los filtros percoladores (apéndice 3) y en la salida del sedimentador secundario (apéndice 4) para un total de cinco puntos de muestreo.

## **2.2. Tipo de muestra**

Se tomó una muestra simple en cada uno de los puntos de muestreo, la muestra se tomó en un recipiente de vidrio esterilizado y se capturaron 500 mL de agua residual (apéndice 5).

## **2.3. Diseño y método estadístico**

El diseño estadístico se desarrolló con el apoyo del Departamento de Bioestadística de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

### **2.3.1. Número de muestras y frecuencia del muestreo**

En consulta verbal con el Licenciado Jorge Luis de León del Departamento de Bioestadística de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia se definió una cantidad mínima de 20 ensayos para que sea representativo estadísticamente.

Se tomaron 15 muestras de agua en 5 puntos diferentes de la PTAR USAC distribuidos en tres fechas de muestreo.

Estas muestras se sembraron por duplicado por lo que el total de ensayos es de 30.

Se considera que 30 es un número estadísticamente representativo para la determinación de los parámetros analizados ya que el estudio es de carácter descriptivo.

Las muestras fueron captadas durante los meses de julio, agosto y septiembre de 2016.

#### **2.4. Criterio de actividad lipolítica**

Se consideraron como microorganismos con actividad lipolítica los que producen un halo de degradación alrededor de las colonias en agar nutritivo adicionado con tributirina después de incubación en condiciones aeróbicas por 24 a 48 horas.

#### **2.5. Procedimientos de aislamiento y resiembra**

Se realizaron diluciones seriadas (Apéndice 6) en agua peptonada al 0.1 % hasta obtener una dilución  $10^{-8}$ . De las diluciones se siembra por vertido en agar nutritivo + tributirina y se incuban a 37°C en condiciones aeróbicas por 24 a 48 horas. (Apéndice 7).

Una vez transcurrido el tiempo de incubación se inspeccionan las cajas de Petri con los cultivos. Se seleccionan las cajas que contengan colonias con halos claros de lipólisis y se marcan en las placas para su aislamiento. (Apéndice 8).

El aislamiento se realiza por medio de un asa en punta con la cual se pican las colonias identificadas y se trasladan a placas de agar nutritivo + tributirina

para la confirmación de lipólisis y la obtención de cultivos puros y se procede a incubar 48 horas. Con la confirmación del crecimiento y de la actividad lipolítica, se procede a sembrar en agar Stock para su conservación y pruebas posteriores.

## **2.6. Caracterización**

Se obtiene un cultivo fresco a partir del agar de conservación y se procede a realizar tinción de Gram y pruebas de orientación (*orientation test*) para determinar la batería de pruebas bioquímicas o galerías API® que se utilizarán. Las pruebas de orientación se realizan de acuerdo a los diagramas de flujo que se observan en los anexos 1 y 2. Una vez establecido el tipo de galería que se utilizará se procede a inocular la galería seleccionada de acuerdo al grupo de microorganismo: API® 20 E para enterobacterias API® 20 NE para no enterobacterias, ambas para bacilos Gram negativo y API® 50 CHB para bacilos Gram positivo esporoformadores catalasa positivo pertenecientes al Género *Bacillus*. En el anexo 3 se observa una imagen de una galería API® 20 E utilizada para bacterias del grupo de las enterobacterias.

Las galerías se incuban por 24 a 48 horas a 30°C o a 37°C de acuerdo al tipo de galería; todas en condiciones aeróbicas. Los resultados se registran en una boleta especialmente diseñada para cada tipo de galería como se muestra en el anexo 4.

Para la identificación se utiliza la herramienta informática APIWeb™, que es un programa diseñado por BioMérieux disponible a través de un disco de instalación con el cual se provee acceso a una base de datos para la identificación de los microorganismos.



### 3. RESULTADOS

En total se aislaron 35 cepas con actividad lipolítica, de las cuales fue posible identificar 20, que corresponde a un cincuenta y siete por ciento (57 %) del total. En la tabla III se observa el listado de las cepas identificadas, así como el sitio del cual se aisló (origen). A cada cepa con actividad lipolítica aislada se le asignó un código.

Tabla III. Listado de cepas aisladas y código de cepa asignado

Correlativo	Origen	Código de cepa	Identificación
1		1.1	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>
2	Sedimentador primario	1.2	NI
3		1.3	NI
4		1.4	<i>Serratia marcescens</i>
5		2.1	<i>Pasteurella spp.</i>
6	Filtro percolador fase I	2.2	<i>Comamonas testosteroni/ Pseudomonas alcaligenes</i>
7		2.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8		2.4	<i>Comamonas testosteronii/ Pseudomonas alcaligenes</i>
9		3.1	NI
10	Filtro percolador fase II	3.2	<i>Aeromonas sobria</i>
11		3.3	<i>Pseudomonas putida</i>
12		4.1	NI
13	Filtro percolador III	4.2	<i>Bacillus subtilis/amyloliquefaciens</i>
14		4.3	NI
15	Sedimentador secundario	5.1	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
16		5.2	<i>Pasteurella spp.</i>
17	Sedimentador primario	6.7	<i>Comamonas testosteroni/ Pseudomonas alcaligenes</i>
18		6.8	NI
19		7.2	<i>Pasteurella aerogenes</i>
20	Filtro percolador fase I	7.4	NI
21		7.5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
22	Filtro percolador fase II	8.4	NI
23		8.5	NI
24		9.2	<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>
25	Filtro percolador fase III	9.4	NI
26		9.5	NI
27		9.6	NI
28		11.2	NI
29	Sedimentador primario	11.3	NI
30		11.5	<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria2</i>
31	Filtro percolador fase I	12.1	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>
32		12.3	<i>Bacillus coagulans</i>
33	Filtro percolador fase II	13.1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
34		13.3	NI
35	Filtro percolador fase III	14.3	<i>Chromobacterium violaceum</i>

\*NI = No identificada

Fuente: elaboración propia.

En las tablas IV a VI se muestran los resultados individuales de cada cepa por tipo de galería utilizada. Quince cepas de 20 (75 %) fueron identificadas con la galería API® 20 NE; 3 cepas (15 %) fueron identificadas con la galería API® 20 E y 2 cepas (10 %) fueron identificadas con la galería API® 50 CHB.

En la tabla IV se muestran los resultados de la galería API® 20 NE. Con esta galería se identificaron 20 cepas del grupo de las no enterobacterias. En la tabla se describen los códigos asignados a cada cepa y los resultados individuales de cada uno de los pozos de la galería, así como el sustrato contenido en cada pozo. Los pozos con resultado positivo (+) se observan por un cambio en el color después del período de incubación e indican que la cepa es capaz de utilizar el sustrato utilizado en el pozo.

Estas galerías cuentan con una serie de veinte pozos con igual cantidad de sustratos (un sustrato en cada pozo). Con la utilización de la combinación de resultados para cada cepa y utilizando la base de datos de API es posible identificar la bacteria analizada.

La prueba de citocromo oxidasa (OX) no está incluida en la galería y es necesario realizarla por separado, sin embargo, se utiliza en la interpretación de los resultados para la identificación del microorganismo.

Los resultados detallados de la identificación por medio de APIWeb pueden observarse en los apéndices del 9 al 28.

Tabla IV. Resultados galería API® 20 NE

Cod de la cepa	Origen	NO <sub>3</sub>	N <sub>2</sub>	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX	Identificación
1.1	Sedimentador primario	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>
2.1	Filtro percolador fase I	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	<i>Pasteurella</i> spp.
2.2	Filtro percolador fase I	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	<i>Comamonas testosteroni/ Pseudomonas alcaligenes</i>
2.3	Filtro percolador fase I	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2.4	Sedimentador primario	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	<i>Comamonas testosteroni/ Pseudomonas alcaligenes</i>
3.2	Filtro percolador fase II	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Aeromonas sobria</i>
3.3	Filtro percolador fase II	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>
5.1	Sedimentador secundario	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
5.2	Sedimentador secundario	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Pasteurella</i> spp.
6.7	Sedimentador primario	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	<i>Comamonas testosteroni/ Pseudomonas alcaligenes</i>
7.2	Filtro percolador fase I	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	<i>Pasteurella aerogenes</i>
7.5	Filtro percolador fase I	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
12.1	Filtro percolador fase I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>
13.1	Filtro percolador fase II	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
14.3	Filtro percolador fase III	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	<i>Chromobacterium violaceum</i>

NO <sub>2</sub>	Reducción de nitratos en nitritos	MNE	Asimilación de manosa
N <sub>2</sub>	Reducción de nitratos en nitrógeno	MAN	Asimilación de manitol
TRP	Formación de indol (triptófano)	NAG	Asimilación de N-acetil-glucosamina
GLU	Fermentación de glucosa	MAL	Asimilación de maltosa
ADH	Arginina dihidrolasa	GNT	Asimilación de gluconato potásico
URE	Ureasa	CAP	Asimilación de ácido cáprico
ESC	Hidrólisis (β-glucosidasa) de esculina	ADI	Asimilación de ácido adípico
GEL	Hidrólisis (proteasa) de gelatina	MLT	Asimilación de ácido málico
PNG	β-galactosidasa (para nitro-fenil-βD-galactopiranosidasa)	CIT	Asimilación de citrato trisódico
GLU	Asimilación de glucosa	PAC	Asimilación de ácido fenilacético
ARA	Asimilación de arabinosa	OX	Citocromo oxidasa

Fuente: elaboración propia.

En la tabla V se muestran los resultados obtenidos con la galería API® 20 E, esta galería se utiliza para bacterias del grupo de las enterobacterias, con esta galería se identificaron 3 cepas: *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* y *Aeromonas hydrophila/caviae/sobria2*. En la tabla se muestran los resultados de cada uno de los pozos de la galería y se indica el sustrato de cada contenido en cada pozo.

Tabla V. Resultados galería API® 20 E

Cod. de cepa	Origen	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	MOB	McC	OF-O	OF-F	Identificación
1.4	Sedimentador primario	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+		<i>Serratia marcescens</i>	
9.2	Filtro percolador fase III	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-		<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>	
11.5	Sedimentador primario	+	-	-	-	+	-	-	-	+/	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Aeromonas hydrophila /caviae /sobria 2</i>	

ONPG β-galactosidasa (Ortonitrofenil-β-galctopiranosidasa)	VP Producción de acetoina (Voges Proskauer)	AMY Fermentación-oxidación de amigdalina
ADH Arginina dihidrolasa	GEL Gelatinasa	ARA Fermentación-oxidación de L-rabinosa
LDC Lisina decarboxilasa	GLU Fermentación-oxidación de glucosa	OX Oxidasa
ODC Ornitina decarboxilasa	MAN Fermentación-oxidación de D-manitol	NO <sub>2</sub> Reducción de nitratos en nitritos
CIT Utilización de citrato	INO Fermentación-oxidación de inositol	N <sub>2</sub> Reducción de nitratos en nitrógeno
H <sub>2</sub> S Producción de H <sub>2</sub> S	SOR Fermentación-oxidación de sorbitol	MOB Movilidad
URE Ureasa	RHA Fermentación-oxidación de L-ramnosa	McC Crecimiento en agar MacConkey
TDA Tyriptófano desaminasa	SAC Fermentación-oxidación de D-sacarosa	OF-O Oxidación de glucosa
IND Producción de indol	MEL Fermentación-oxidación D-melobiosa	OF-F Fermentación de glucosa

Fuente: elaboración propia.

En la tabla VI se muestran los resultados obtenidos con las galerías API® 50 CHB, esta galería fue diseñada para la identificación de bacilos Gram positivo del género *Bacillus*. Esta galería cuenta con 50 pozos (49 sustratos) con los cuales se realiza la identificación bioquímica de los microorganismos.

Tabla VI. Resultados galería API® 50 CHB

Cod. de la cepa: 4.2											Cod. de la cepa: 12.3											
Origen: Filtro percolador III											Origen: Filtro percolador I											
No. pozo	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	No. pozo	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Sustrato	0	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	Sustrato	0	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	
Resultado	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	Resultado	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
No. pozo	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	No. pozo	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Sustrato	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	Sustrato	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	
Resultado	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	Resultado	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	
No. pozo	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	No. pozo	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
Sustrato	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC	SAL	CEL	MAL	LAC	Sustrato	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC	SAL	CEL	MAL	LAC	
Resultado	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	Resultado	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
No. pozo	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	No. pozo	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
Sustrato	IMEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	Sustrato	IMEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	
Resultado	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Resultado	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	
No. pozo	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	No. pozo	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
Sustrato	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	Sustrato	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	
Resultado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Resultado	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	

Identificación: <i>Bacillus subtilis/amyloliquefaciens</i>		Identificación: <i>Bacillus coagulans</i>	
Pozo	Sustrato	Pozo	sustrato
0	TESTIGO -	20	MDM Metil- $\alpha$ D-Manopiranosida
1	GLY GLicerol	21	MDG Metil- $\alpha$ D-Glucopiranosida
2	ERY ERitritol	22	NAG N-AcetilGlucosamina
3	DARA D-ARAbinosa	23	AMY AMgldalina
4	LARA L-ARAbinosa	24	ARB ARButina
5	RIB D-RIBosa	25	ESC ESCulina citrato férrico
6	DXYL D-XiLosa	26	SAL SALicina
7	LXYL L-XiLosa	27	CEL D-CELobiosa
8	ADO D-ADOnitol	28	MAL D-MALtosa
9	MDX Metil- $\beta$ D-Xilopiranosida	29	LAC D-LACtosa (origen bovino)
10	GAL D-GALactosa	30	MEL D-MELibiosa
11	GLU D-GLUcosa	31	SAC D-SACarosa
12	FRU D-FRUctosa	32	TRE D-TREhalosa
13	MNE D-Mammosa	33	INU INUlina
14	SBE L-Sorbosa	34	MLZ D-MeLeZitosa
15	RHA L-RHAMmosa	35	RAF D-RAFinosa
16	DUL DULcitol	36	AMD AlmiDón
17	INO INOsitol	37	GLYG GLicóGeno
18	MAN D-MANitol	38	XLT XiLTol
19	SOR D-SORbitol	39	GEN GENiobiosa

Fuente: elaboración propia.

De las 35 cepas aisladas, quince (15) no pudieron ser identificadas con las galerías API® disponibles. A estas cepas se les realizaron pruebas básicas como coloración de Gram (reacción a la coloración y morfología) y catalasa. Las

15 cepas no identificadas corresponden a Bacilos Gram positivo y se describen los resultados de la caracterización en la tabla VII.

Tabla VII. **Listado de cepas no identificadas y sus características**

<b>Código de cepa</b>	<b>Morfología</b>	<b>Gram</b>	<b>Catalasa</b>	<b>Esporas</b>
1.2	Bacilos	+	+	si
1.3	Bacilos	+	+	no
3.1	Bacilos cortos con gránulos	+	+	no
4.1	Bacilos cortos	+	+	no
4.3	Bacilos cortos	+	+	no
6.8	Bacilos	+	-	no
7.4	Bacilos cortos	+	+	no
8.4	Bacilos	+	-	no
8.5	Bacilos	+	+	no
9.4	Bacilos	+	-	no
9.5	Bacilos	+	-	no
9.6	Bacilos	+	+	no
11.2	Bacilos	+	+	no
11.3	Bacilos	+	+	no
13.3	Bacilos	+	-	no

Fuente: Elaboración propia.

## 4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

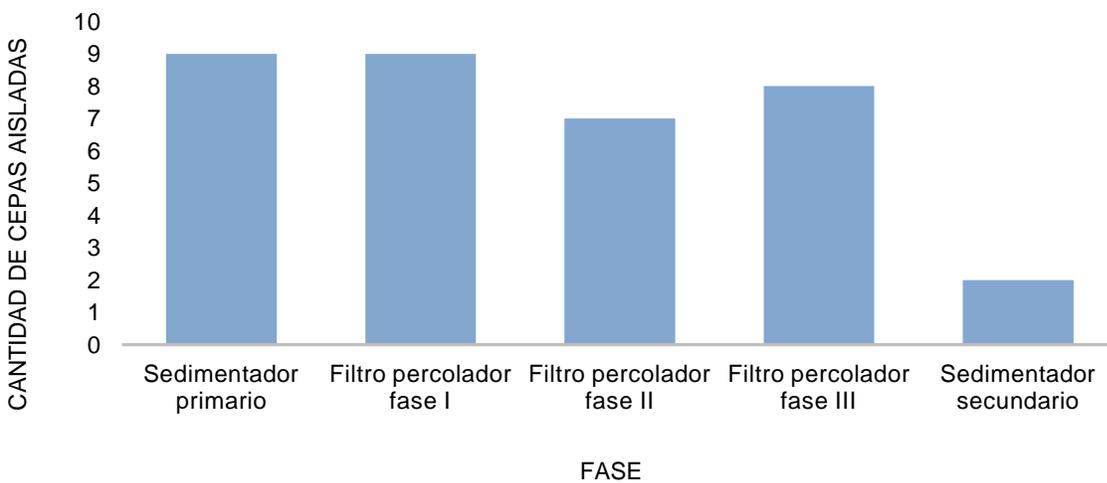
Es importante mencionar que en las pruebas API<sup>®</sup>, en el caso en que los resultados se expresan como *especie a/especie b*, es necesario realizar pruebas adicionales para establecer claramente si la especie aislada es la a o la b. Adicionalmente, en los resultados también se expresa un porcentaje de identificación (% ID), y una observación al realizar la identificación. Para que una prueba pueda considerarse confiable se debe obtener una observación como: “buena identificación”, “muy buena identificación” o “excelente identificación”, las tres relacionadas con porcentajes altos de id. si se obtiene una observación como “baja discriminación” o “perfil inaceptable”, es necesario realizar pruebas adicionales para confirmar la especie.

Se observa que no hay una variación significativa en la cantidad de cepas aisladas por cada uno de los puntos de muestreo, excepto en el sedimentador secundario del cual únicamente se aislaron 2 cepas, en comparación con el resto de fases en las cuales se aislaron de 7 a 9 cepas por fase, sin embargo, se observa una tendencia a la disminución conforme se avanza en las fases del tratamiento como se muestra en la figura 7.

Esto tiene relación si se toma en cuenta que las eficiencias reportadas para las diferentes fases de la PTAR son: sedimentador primario 63.09 % y el filtro percolador un 32.62 %. Al considerar solamente al filtro percolador, la etapa I alcanza una eficiencia promedio del 71.71 %, la etapa II del 25.08 % y etapa III

del 3.97 %<sup>33</sup>. Estos datos de eficiencia son un indicador de una mayor actividad biológica y por ende una mayor cantidad y diversidad de bacterias en las fases iniciales que se van reduciendo conforme el agua avanza en las siguientes fases de la PTAR.

Figura 7. **Gráfica de cantidad de cepas aisladas por fase de la PTAR**



Fuente: elaboración propia.

Ordenando las cepas aisladas por fecha de muestreo se puede observar que de las muestras captadas durante el mes de julio de 2016 se aislaron 11 cepas de bacterias con actividad lipolítica. Tres del sedimentador primario, tres de la fase I de los filtros percoladores, dos de la fase II de los filtros percoladores, una de la fase III de los filtros percoladores y dos del sedimentador secundario, en este muestreo se aislaron bacterias lipolíticas en cada uno de los puntos de muestreo, en la tabla VIII se detallan estos resultados.

<sup>33</sup> RAMÍREZ SÁNCHEZ, Óscar Luis. *Investigación de la eficiencia de las etapas en serie del filtro percolador de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos*. p. XI.

Tabla VIII. **Bacterias aisladas en las muestras del mes de julio**

Origen	Morfología	Gram	Cod. de cepa	Identificación	% ID
Sedimentador primario	Bacilo	-	1.1	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>	56.4
	Bacilo	-	1.4	<i>Serratia marcescens</i>	99.5
	Bacilo	-	1.5	<i>Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes</i>	98.2
Filtro percolador Fase I	Bacilo	-	2.1	<i>Pasteurella</i> spp.	49.2
	Bacilo	-	2.2	<i>Comamonas testosteroni / Pseudomonas alcaligenes</i>	98.2
	Bacilo	-	2.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99.9
Filtro percolador Fase II	Bacilo	-	3.2	<i>Aeromonas sobria</i>	99.2
	Bacilo	-	3.3	<i>Pseudomonas putida</i>	76.7
Filtro percolador III	B espor	+	4.2	<i>Bacillus subtilis/amyloliquefaciens</i>	98.9
Sedimentador secundario	Bacilo	-	5.1	<i>Aeromonas Hydrophila/caviae</i>	99.9
	Bacilo	-	5.2	<i>Pasteurella</i> spp.	47.9

Fuente: elaboración propia.

Las bacterias aisladas, de acuerdo a la identificación con el sistema API® de BioMérieux fueron: *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Serratia marcescens*, *Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes*, *Pasteurella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens* y *Aeromonas hydrophila/caviae*.

La bacteria *Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes* se aisló de la muestra del sedimentador primario y de la muestra de la fase I de los filtros percoladores y la bacteria *Pasteurella* spp., se aisló de las muestras que fueron captadas en la fase I del filtro percolador y en la muestra captada en la salida del sedimentador secundario, es decir estas dos especies se aislaron en dos puntos de muestreo diferentes.

De las muestras correspondientes al muestreo del mes de agosto de 2016 se pudieron aislar cuatro cepas de bacterias lipolíticas: *Comamonas testosteroni/*

*Pseudomonas alcaligenes*, *Pasteurella aerogenes*, *Pseudomonas fluorescens* y *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*. En el caso de la *Pasteurella aerogenes* la prueba API no arrojó un porcentaje de identificación, (%ID), por lo que es necesario confirmar la identificación de este microorganismo. En la tabla IX se detallan los resultados mencionados en el párrafo anterior.

Tabla IX. **Bacterias aisladas en las muestras que fueron captadas en el mes de agosto 2016**

Origen	Morfología	Gram	Cod. de cepa	Identificación	% ID
Sedimentador primario	Bacilo	-	6.7	<i>Comamomonas testosteroni</i> / <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	58.5
Filtro percolador fase I	Bacilo	-	7.2	<i>Pasteurella aerogenes</i>	
Filtro percolador fase I	Bacilo	-	7.5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99.8
Filtro percolador fase III	Bacilo	-	9.2	<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>	99.9

Fuente: elaboración propia.

En el apéndice 29 se observan los resultados de la cepa codificada como 9.2 e identificada como *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* con un ID de 99.9 %. El resultado de la identificación de esta cepa con el programa APIWeb™ puede observarse en el apéndice 23.

De las muestras captadas en el mes de septiembre 2016 se aislaron 5 cepas de bacterias con actividad lipolítica, 4 Gram negativo: *Aeromonas hydrophila/caviae/sobria2*, *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Pseudomonas fluorescens* y *Chromobacterium violaceum* y 1 Gram positivo: *Bacillus coagulans*. Esta última no arrojó ningún %ID en la prueba API de identificación.

Tabla X. **Bacterias aisladas en las muestras que fueron captadas en septiembre de 2016**

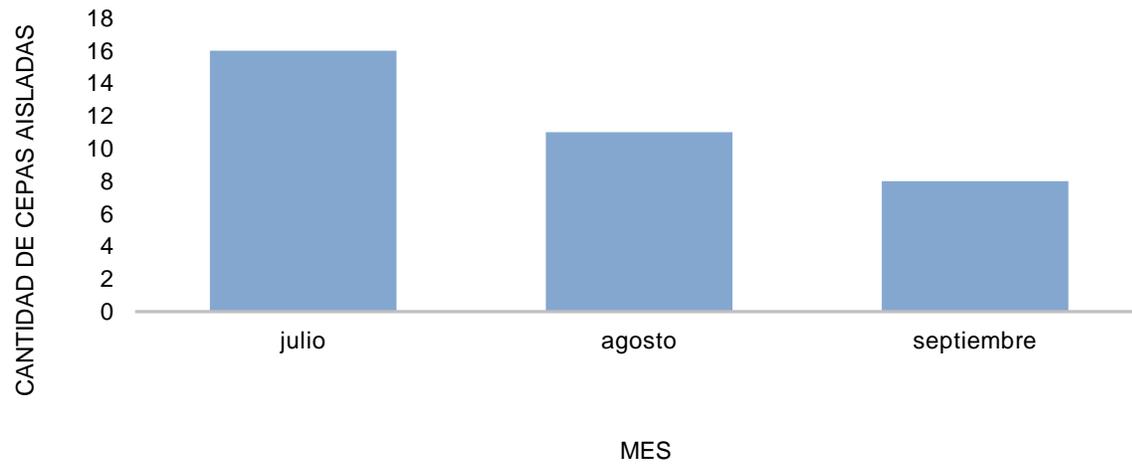
Origen	Morfología	Gram	Cod. de cepa	Identificación	% ID
Sedimentador primario	Bacilo	-	11.5	<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 2</i>	73.1
Filtro percolador fase I	Bacilo	-	12.1	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>	91.3
Filtro percolador fase I	Bacilo	+	12.3	<i>Bacillus coagulans</i>	
Filtro percolador fase II	Bacilo	-	13.1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	97.2
Filtro percolador fase III	Bacilo	-	14.1	<i>Chromobacterium violaceum</i>	99.9

Fuente: elaboración propia.

Los muestreos fueron realizados durante los meses de julio, agosto y septiembre, en las muestras del mes de julio se aislaron 16 cepas, en las muestras del mes de agosto 11 cepas y en las muestras del mes de septiembre 8 cepas (figura 18); se observa una disminución de las cantidades de cepas aisladas, esto corresponde al régimen de lluvias, siendo en orden ascendente julio, agosto y septiembre. Debido a que los drenajes de la Universidad de San Carlos son drenajes combinados, durante la época de lluvias hay un aumento del caudal y por lo tanto puede darse un efecto de lavado de material biológico, lo que se refleja en la menor cantidad de bacterias lipolíticas recuperadas en los meses de agosto y septiembre, comparados con las recuperadas en el mes de julio. Aunque en el mes de julio ya está establecida la época lluviosa, durante este mes las condiciones son determinadas por una disminución en intensidad de las lluvias, fenómeno climático conocido en nuestro medio como canícula de julio; que se manifiesta con un período de varios días sin lluvia o con lluvias disminuidas alrededor de 10 a 20 días de duración<sup>34</sup>.

<sup>34</sup> INSIVUMEH. *Análisis meteorológico del mes de julio de 2016*. p. 1.

Figura 8. Cantidad de cepas aisladas por mes de muestreo



Fuente: elaboración propia.

## CONCLUSIONES

1. Se comprobó afirmativamente la hipótesis planteada, se aislaron 35 cepas con actividad lipolítica de las aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala (ver tabla III) que pueden degradar grasas y aceites.
2. Se evidenció la actividad lipolítica de bacterias aisladas de las aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala por medio de la observación de halos claros de lipólisis en agar tributirina.
3. Se identificaron 20 cepas bacterianas con actividad lipolítica, 18 de las cuales son bacterias Gram negativo y 2 Gram positivo. (Tablas VIII, IX y X).
4. Se generó un cepario con las 35 cepas aisladas de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala, el cual se encuentra en las instalaciones del Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR), Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.



## RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios de caracterización para identificar las cepas que no pudieron ser identificadas en este estudio.
2. Efectuar pruebas complementarias a las cepas en las cuales se encontró baja discriminación en la identificación.
3. Realizar estudios de aislamiento en efluentes con altas cargas de grasas y aceites, como efluentes de restaurantes, industrias de aceites y otros.
4. Ejecutar estudios de clasificación de las cepas aisladas de menor a mayor grado de potencia lipolítica.
5. Identificar combinaciones de cepas con mayor efectividad mediante estudios de sinergia.
6. Realizar estudios de eficiencia en efluentes con altas cargas de grasas y aceites, utilizando las bacterias aisladas en el presente trabajo y disponibles en el cepario.



## BIBLIOGRAFÍA

1. ALCARRAZ, Mario. *Evaluación de la actividad proteolítica y lipolítica de cepas para el tratamiento de efluentes de curtiembre. Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial.* 17(1): 65-70 UNMSM. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima, Perú. 2014. [en línea]. <<http://www.redalyc.org/pdf/816/81640855009.pdf>>. [Consulta: 12 de mayo de 2016].
2. BRAN, María del Carmen y colaboradores. *Manual de Pruebas de Laboratorio Para la Identificación de Bacterias.* Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2010. 374 p.
3. CEPEDA, Leidy y VALENCIA, Sandra. *Aislamiento de bacterias lipolíticas y determinación de patógenos humano Escherichia coli y Salmonella sp. a partir de residuos orgánicos domiciliarios en compostaje.* Tesis Microbiología Industrial Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 2007. 105 p.
4. DATUSAHLAN, Mupit et. al. *Identification and Characterization of Bacterial Potential to Degrade Wastewater Oil Pollutants: A Case Study - Galing River, Kuantan Pahang, Malaysia.* Indonesian Student Conference on Science and Mathematics ISCSM. 2013.
5. ESPIGARES, Miguel, PÉREZ, José. *Agua Residuales. Composición.* [en línea]. <<http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unida>>

des/LIBROS/logo/pdf/Aguas\_Residuales\_composicion.pdf>.

[Consulta: 12 de mayo de 2016].

6. FLORES-FERNÁNDEZ, Mónica, et al. *Bacterias halotolerantes con actividad lipolítica aisladas de las Salinas de Pilluana San Martín, Ciencia e Investigación*. 13(2): pp. 87-91. 2010.
7. GARCÍA ROMÁN, Miguel. *Hidrólisis Enzimática de Triglicéridos en Emulsiones O/W. aplicación a Formulaciones Detergentes*. Tesis Doctoral, Editorial de la Universidad de Granada. Universidad de Granada. 2005. 349 p. ISBN: 84-338-3583-1.
8. GONZÁLEZ, Diana, AMAÍZ, Luis, MEDINA Luis, et al. *Biodegradación de residuo graso industrial empleando bacterias endógenas*. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal* 3(2):105-118. 2012. [en línea]. <<http://uniciencia.ambientalex.info/revistas/vol3n22.pdf>>. [Consulta: 12 de mayo 2016].
9. GÓMEZ, Andreina., DEVIES, Johemi., RODRÍGUEZ, Mariseg. *Infección por Chromobacterium violaceum. Descripción de un caso*. *Revista Médica de la Extensión Portuguesa - ULA*. 4(2): 30-34, 2010.
10. GUEVARA, Armando. et al. *Sepsis por Chromobacterium violaceum pigmentado y no pigmentado*. *Rev Chil Infect*. 24 (5): 402-406, 2007.
11. HARRIS, P., CUPPETT S., BULLERMAN L. A Technique Comparison of Isolation of Lipolytic Bacteria. *Journal of Food Protection*. 53(2) 176-177, 1990.

12. HENDRICKS, Ashley. *Isolation and Characterization of Lipolytic Bacteria and Investigation of their ability to Degrade Fats, Oils and Grease in Grain Distillery Wastewater*. Thesis presented for the degree of Master of Science in Food Science. Faculty of Food Science. Stellenbosch University. South Africa. 2015. 105 p.
13. HOMBALIMATH, Veeranna S. *Isolation and characterization of lipolytic microorganisms from oil contaminated soil. International Journal of Advances in Engineering, Science and Technology (IJAES)*. 2012. Vol. 2 No. 3 Aug-Oct 2012. ISSN : 2249-913X
14. HUANÉ, Lourdes., RIVERA, Ronie. *Evaluación de la adición de un inóculo para estimular a escala de laboratorio la biodegradación de efluentes grasos*. 2014. Tesis de químico farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima, Perú. 2014. 60 p.
15. INSIVUMEH. *Análisis meteorológico del mes de julio de 2016*. 2016.
16. LITTHAUER, Derek., et al. *Pitfalls using tributyrin agar screening to detect lipolytic activity in metagenomic studies. African Journal of Biotechnology*. 2010. Vol. 9(27), pp. 4282-4285.
17. MADIGAN, Michael., et al. *Brock. Biología de los Microorganismos*. 14a. edición. Pearson Educación, S.A. Madrid. 2015. 1132p. ISBN: 9788490352793

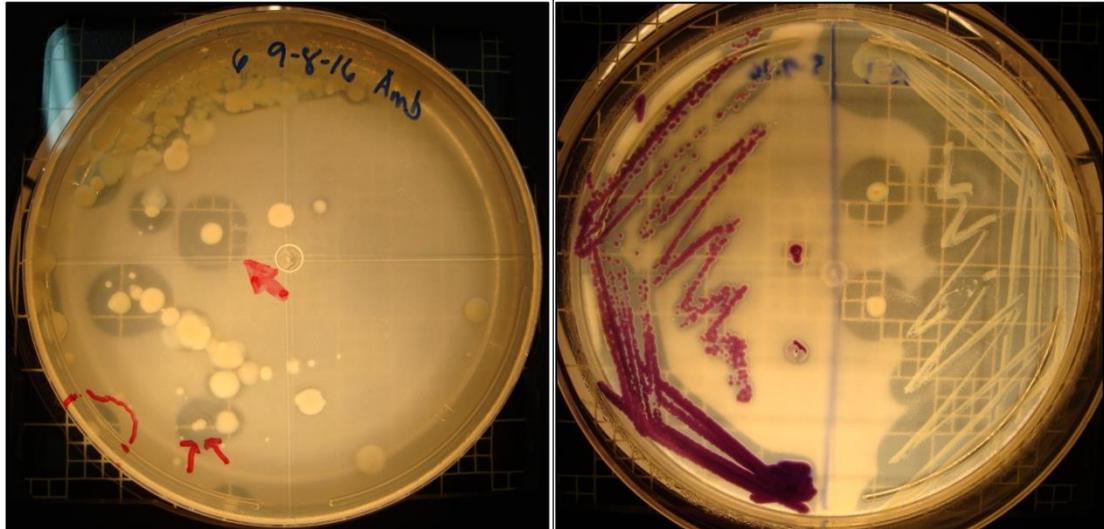
18. MAHAJAN, Deeksha., KARNWAL, Arun. *Removal of Vegetable Oil from Contaminated Industrial Effluents by Bacteria. American Journal of Advanced Scientific Research*, 2012, Vol. 1, Issue. 5, pp. 257-261.
19. MERCK. *Merck Microbiology Manual 12th Edition. Germany. 2012.* [en línea]. <[http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwig pro/Tributyryn\\_Agar\\_101957\\_engl.pdf](http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwig_pro/Tributyryn_Agar_101957_engl.pdf)> [Consulta: 15 de abril 2016].
20. MOHD, Yusof, A., et al. *A plate assay for primary screening of lipase activity. Journal of Microbiological Methods.* 1989 51- 56
21. NAVARRO-GONZÁLEZ, Inmaculada., et al. *Enzimas lipolíticas bacterianas: propiedades, clasificación, estructura, aplicaciones tecnológicas y aspectos legales. AN. VET. (MURCIA)* 2012, 28: 45-65.3
22. ODEYEMI, Aletoba. et al. *Lipolytic Activity of some Strains of Klebsiella, Pseudomonas and Staphylococcus Spp. from Restaurant Wastewater and Receiving Stream. Journal of Microbiology Research.* 2013, 3(1): 43-52 DOI: 10.5923/ j.microbiology.20130301.07. [en línea]. <<http://article.sapub.org/pdf/10.5923.j.microbiology.20130301.07.pdf>> [Consulta: 12 de mayo 2016].
23. OTÁLORA, Miguel., et al. *Evaluación de la capacidad degradadora de aceite por bacterias lipolíticas en el lodo residual de la extracción de aceite de palma. PALMAS* Vol. 21 No. Especial, Tomo 1, 2000.
24. PIERRI PALMA, Ileana Felicia. *Eficiencia en la remoción de nitrógeno y fósforo en los filtros percoladores de la Planta de Tratamiento de*

- Aguas Residuales de la Universidad de San Carlos de Guatemala..*  
Tesis de Maestría en Ingeniería Sanitaria. ERIS. USAC.  
Guatemala. 2013. 60 p.
25. PONTAZA PIVARAL, Jorge Mauricio. *Eficiencia De Microorganismos Efectivos (Me) Aplicados En La Planta De Tratamiento De Aguas Residuales San Cristóbal (Colonia Panorama) Mixco, Guatemala.* Tesis de Maestría en Ingeniería Sanitaria. ERIS. USAC. Guatemala. 2014. 83 p.
26. RAMÍREZ SÁNCHEZ, Óscar Luis. *Investigación de la eficiencia de las etapas en serie del filtro percolador de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de San Carlos.* Tesis de Maestría en Ingeniería Sanitaria. ERIS. USAC. Guatemala. 2012. 97 p.
27. SAMIKSHA, S. *Lipid Hydrolysis Test on Bacteria to find-out their Ability to Hydrolyze Lipids.* [en línea]. <<http://www.yourarticlelibrary.com/experiments/lipid-hydrolysis-test-on-bacteria-to-find-out-their-ability-to-hydrolyse-lipids-with-figure/26613/>>. [Consulta: 24 de agosto de 2016].
28. SHABTAI, Yossef. *Isolation and Characterization of a Lipolytic Bacterium Capable of Growing in a Low-Water-Content Oil-Water Emulsion.* Applied And Environmental Microbiology, 1991, p. 1740-1745
29. Sigma-Aldrich. *Tributylin Agar. Product information.* 2013 [en línea]. <[www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)>. [Consulta: 03 de junio de 2016].

30. STOYANOVA, Vasilena., GEORGIEVA, Stanka., ILIEV, Ivan., MARHOVA, Mariana., TRIFONOVA, Sonya,. *Lipolytic activity of genus Pseudomonas. J. BioSci. Biotech.* 2012, SE/ONLINE: 163-168.
31. TANASUPAWAT, Somboon., PHOOTTOSAVAKO, Mukkharin., KEERATIPIBUL, Suwimon. *Characterization and lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat. Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2015, Vol. 5 (03), pp. 006-012.
32. VOLK, Wesley A. *Microbiología Básica.* 7a. edición. México: Harla, S.A. 1996. 819p. ISBN: 970-613-059-4.

## APÉNDICES

Apéndice 1. **Agar tributirina. Se observa halo claro de hidrólisis en colonias con actividad lipolítica**



Fuente: Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR-.

Apéndice 2. **Sedimentador primario de la PTAR, USAC**



Fuente: PTAR, USAC.

**Apéndice 3. Filtros percoladores de la PTAR, USAC**



Fuente: PTAR, USAC.

**Apéndice 4. Sedimentador secundario de la PTAR, USAC**



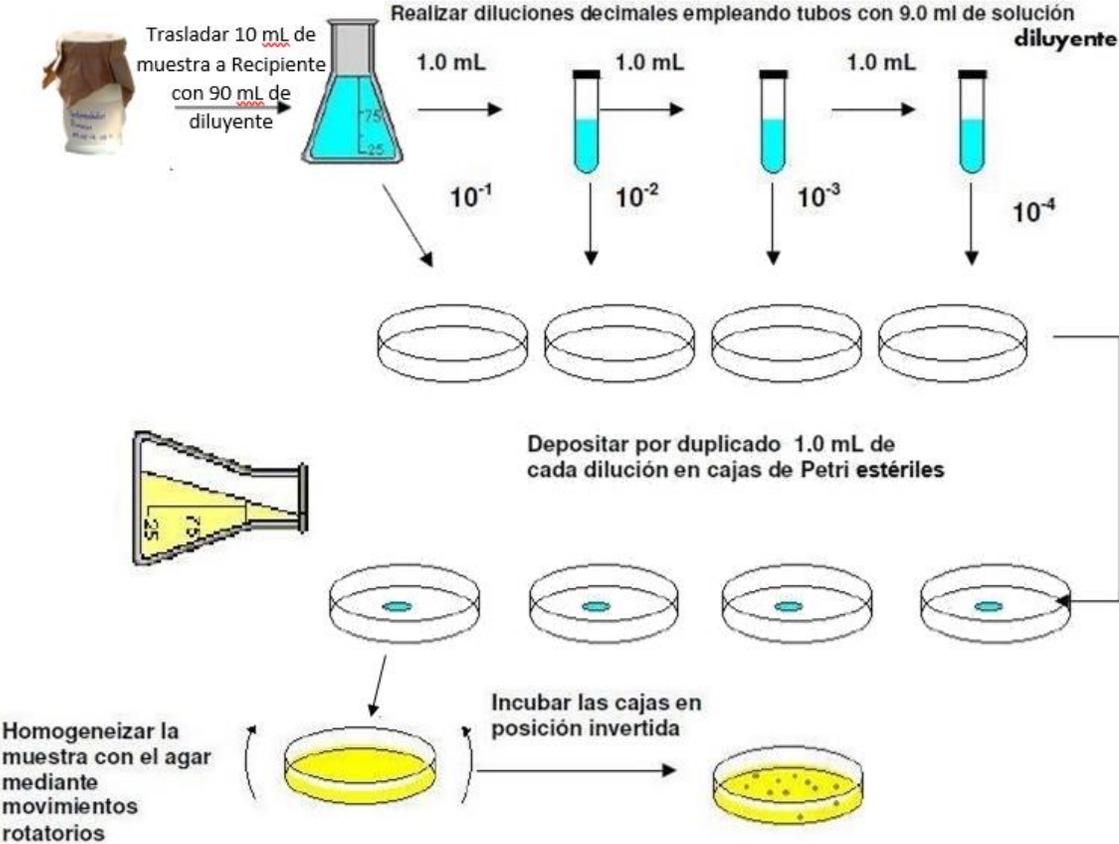
Fuente: PTAR, USAC.

Apéndice 5. Toma de muestra en recipiente estéril



Fuente: PTAR, USAC.

Apéndice 6. Diagrama de preparación de diluciones para siembra



Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 7. Preparación de diluciones



Fuente: Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR-.

## Apéndice 8. Selección de cultivos con colonias lipolíticas



Fuente: Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR-.

## Apéndice 9. Resultados APIweb™ de cepa 1.1

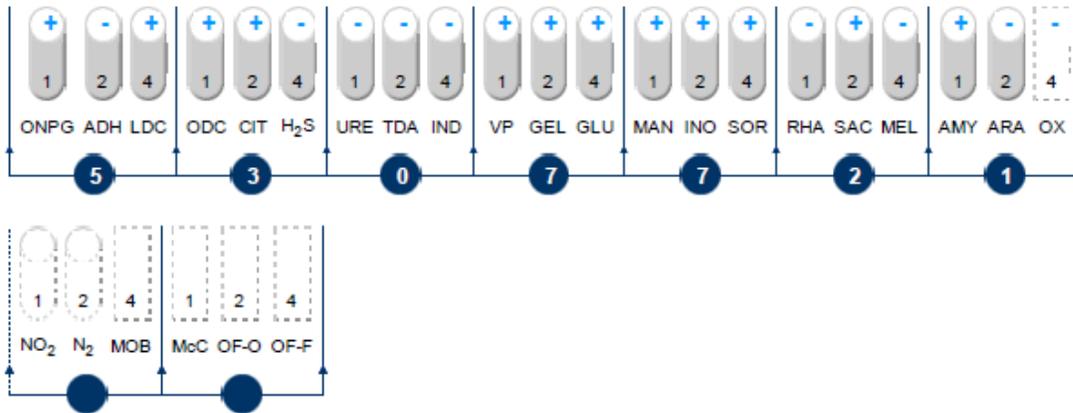


Fuente: elaboración propia.

Apéndice 10. Resultados APIweb™ de cepa 1.4



**API 20 E V4.1**

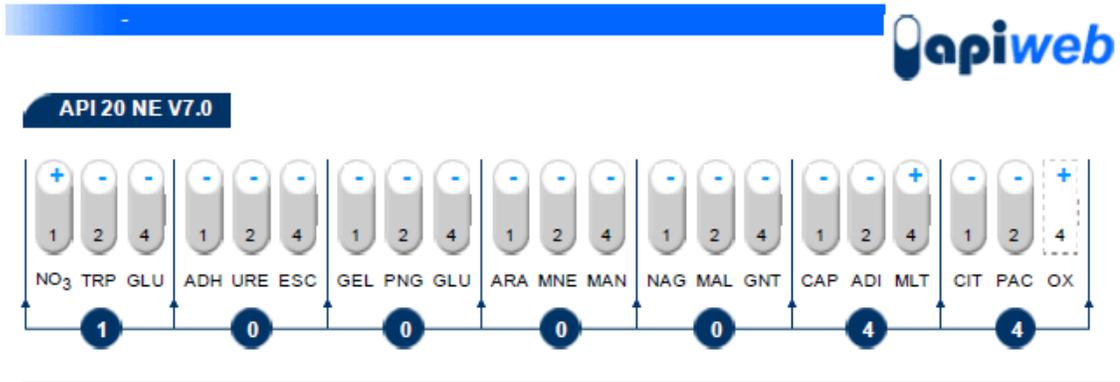


REFERENCIA 1.4  
 FECHA 13-10-2016  
 COMENTARIO Sedimentador Primario

BUENA IDENTIFICACION			
Galería	API 20 E V4.1		
Perfil	5 3 0 7 7 2 1		
Nota			
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Serratia marcescens	97.5	0.95	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Serratia liquefaciens	2.4	0.7	ARA 97%

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 11. Resultados APIweb™ de cepa 2.1



REFERENCIA 2.1  
FECHA 09-02-2017

COMENTARIO  
Filtro Percolador Fase I

BAJA DISCRIMINACION	
Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	1 0 0 0 4 4
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN ! ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Eik.corrodens ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Ps.pseudoalc. ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Ochrob.anthropi

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Pasteurella spp	49.2	0.86	MLTa 13%
Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes	32.0	0.99	
Methylobacterium mesophilicum	10.1	0.82	NO3 21% URE 76%
Brevundimonas diminuta/Oligella urethralis	4.5	0.67	NO3 1%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Moraxella lacunata	1.0	0.55	GEL 99% MLTa 9%

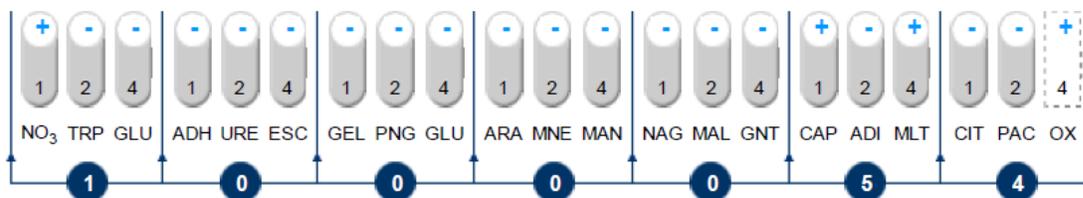
Pruebas complementarias(s)	MOT	XILOSAac	Tween 80	MAC CONKEY
Brevundimonas diminuta	100%	2%	2%	85%
Oligella urethralis	0%	2%	2%	+
Comamonas testosteroni	100%	2%	98%	85%
Pseudomonas alcaligenes	98%	2%	98%	85%
Pseudomonas pseudoalcaligenes	91%	2%	13%	98%
Methylobacterium mesophilicum	+	+	-	-
Ochrobactrum anthropi	98%	98%	2%	98%
Pasteurella multocida	0%	NT	NT	v
CDC group EF-4 (Pasteurella)	0%	2%	NT	98%
Eikenella corrodens	-	NT	NT	-

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 12. Resultados APIweb™ de cepa 2.2



### API 20 NE V7.0



REFERENCIA: 2.2  
FECHA: 13-10-2016

COMENTARIO:  
Filtro Percolador Fase I

### BUENA IDENTIFICACION

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	1 0 0 0 5 4
Nota	ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Ps.pseudoalc.

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes	98.2	1.0	

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Shewanella putrefaciens group	0.7	0.53	GEL 95% NAGa 95%

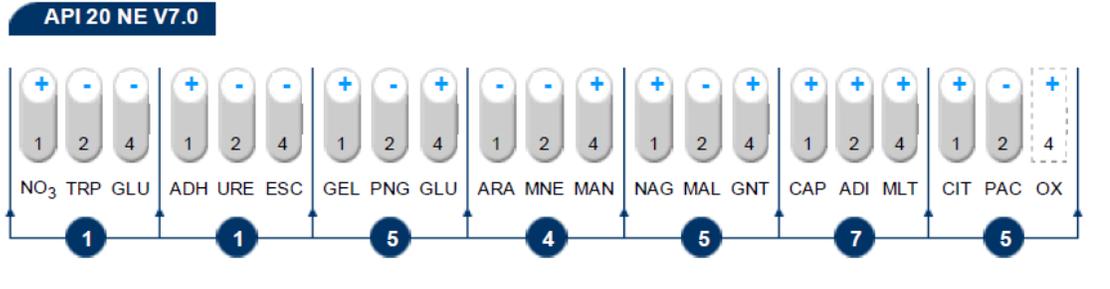
Pruebas complementarias(s)	42°C	Tween 80	FRUCTOSAas
Comamonas testosteroni	+(-)	98%	-
Pseudomonas alcaligenes	-	98%	-
Pseudomonas pseudoalcaligenes	98%	13%	+(-)

[Cerrar](#)

[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

### Apéndice 13. Resultados APIweb™ de cepa 2.3



REFERENCIA: 2.3  
FECHA: 13-10-2016

COMENTARIO: Filtro Percolador Fase I

MUY BUENA IDENTIFICACION			
Galería	API 20 NE V7.0		
Perfil	1 1 5 4 5 7 5		
Nota			
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Pseudomonas aeruginosa	99.5	1.0	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Burkholderia pseudomallei	0.3	0.53	MNEa 99% PACa 94%

[Cerrar](#)

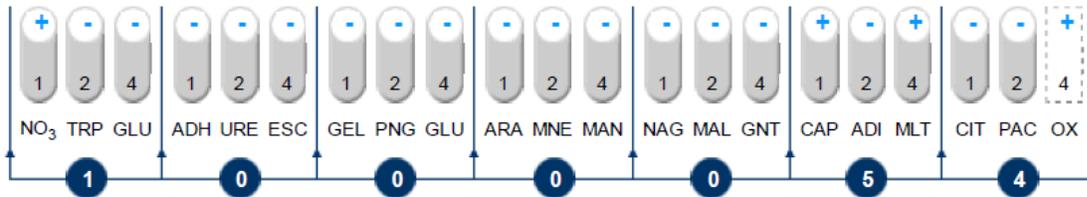
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 14. Resultados APIweb™ de cepa 2.4



### API 20 NE V7.0



REFERENCIA      FECHA  
2.4                      09-02-2017

COMENTARIO  
Filtro Percolador Fase I

### BUENA IDENTIFICACION

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	1 0 0 0 5 4
Nota	ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Ps.pseudoalc.

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes	98.2	1.0	

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Shewanella putrefaciens group	0.7	0.53	GEL 95% NAGa 95%

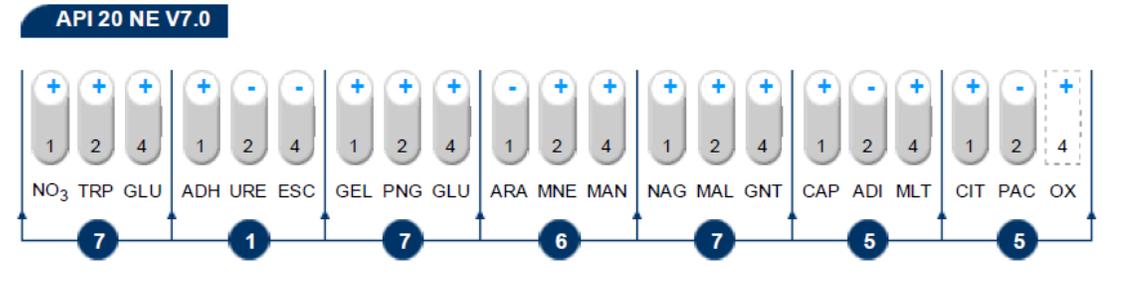
Pruebas complementarias(s)	42°C	Tween 80	FRUCTOSAas
Comamonas testosteroni	+(-)	98%	-
Pseudomonas alcaligenes	-	98%	-
Pseudomonas pseudoalcaligenes	98%	13%	+(-)

⏪ Cerrar

🖨 Imprimir

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 15. Resultados APIweb™ de cepa 3.2



REFERENCIA 3.2  
 FECHA 13-10-2016  
 COMENTARIO Filtro Percolador Fase II

MUY BUENA IDENTIFICACION	
Galeria	API 20 NE V7.0
Perfil	7 1 7 6 7 5 5
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Aeromonas sobria	99.2	1.0	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Aeromonas hydrophila/caviae	0.7	0.72	ESC 89% ARAa 80%

[Cerrar](#)

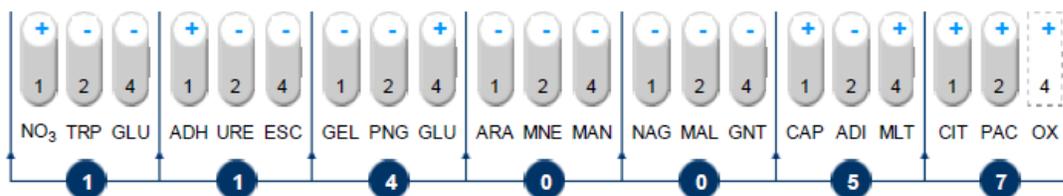
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 16. Resultados APIweb™ de cepa 3.3



### API 20 NE V7.0



REFERENCIA 3.3  
FECHA 13-10-2016  
COMENTARIO Filtro Percolador Fase II

#### IDENTIFICACION NO VALIDA

Galería API 20 NE V7.0  
Perfil 1 1 4 0 0 5 7  
Nota ¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !  
ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Ps.pseudoalc.

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Pseudomonas putida</i>	76.7	0.48	NO3 3% GNTa 97%
<i>Pseudomonas mendocina</i>	13.8	0.22	GNTa 99% PACa 0%
<i>Comamonas testosteroni</i> / <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	5.0	0.35	ADH 6% GLUa 11% PACa 3%
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	2.3	0.15	ADH 1% GNTa 100% ADIa 94%
<i>Ralstonia pickettii</i>	1.2	0.18	ADH 1% GNTa 99% PACa 16%

Pruebas complementarias(s)	XILOSAac	Tween 80	FRUCTOSAas	42°C
<i>Pseudomonas mendocina</i>	80%	98%	+	98%
<i>Pseudomonas putida</i>	98%	9%	+(-)	4%
<i>Comamonas testosteroni</i>	2%	98%	-	+(-)
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	2%	98%	-	-
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	2%	13%	+(-)	98%
<i>Ralstonia pickettii</i>	98%	98%	+	56%
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	98%	2%	-(+)	62%

[Cerrar](#)

[Imprimir](#)

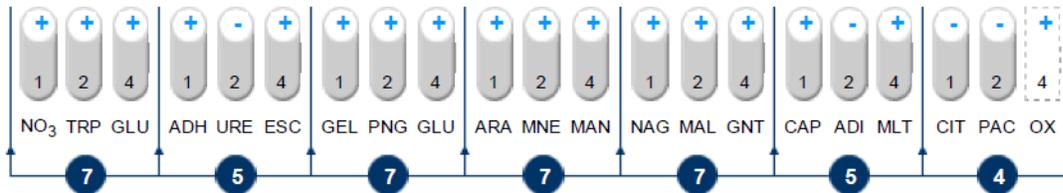
Fuente: elaboración propia.



Apéndice 18. Resultados APIweb™ de cepa 5.1



API 20 NE V7.0



REFERENCIA 5.1  
 FECHA 13-10-2016  
 COMENTARIO Sedimentador Secundario

EXCELENTE IDENTIFICACION

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	7 5 7 7 5 4
Nota	POSIBILIDAD DE <i>Vibrio fluvialis</i>

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	99.9	1.0	

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Aeromonas sobria</i>	0.1	0.43	ESC 1% ARAa 12% CITa 81%

Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA <sub>g</sub>	O/129 R
<i>Aeromonas caviae</i>	2%	+
<i>Vibrio fluvialis</i>	0%	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	94%	+

[Cerrar](#)

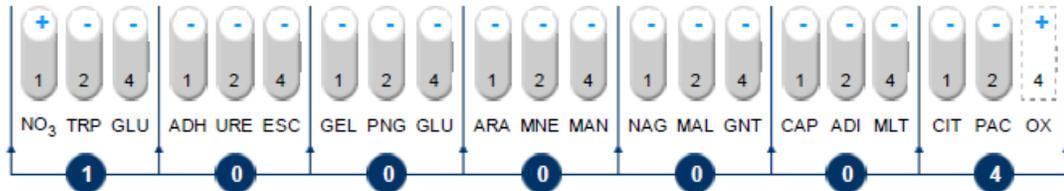
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 19. Resultados APIweb™ de cepa 5.2



### API 20 NE V7.0



REFERENCIA 5.2  
 FECHA 12/02/2017  
 COMENTARIO Sedimentador Secundario

#### BAJA DISCRIMINACION

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	1 0 0 0 0 4
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN ! ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Eik.corrodens POSIBILIDAD DE Brucella spp O B.diminuta/INCUBAR 48H

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Pasteurella spp	47.9	1.0	
Moraxella spp	25.6	0.95	
Mannheimia haemolytica/Pasteurella trehalosi	12.1	0.88	PNPG 85%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Aeromonas salmonicida masoucida/achromogenes	4.1	0.95	

Pruebas complementarias(s)	MAC CONKEY	MALTOSAac	OF/O	SUCROSAac
Moraxella lacunata	-	NT	0%	NT
Moraxella nonliquefaciens	-	NT	0%	NT
Moraxella osloensis	35%	NT	0%	NT
Mannheimia haemolytica/Pasteurella trehalosi	+	+	-(+)	+
Pasteurella multocida	v	3%	23%	+
CDC group EF-4 (Pasteurella)	98%	0%	91%	NT
Eikenella corrodens	-	0%	NT	-

⌵ Cerrar

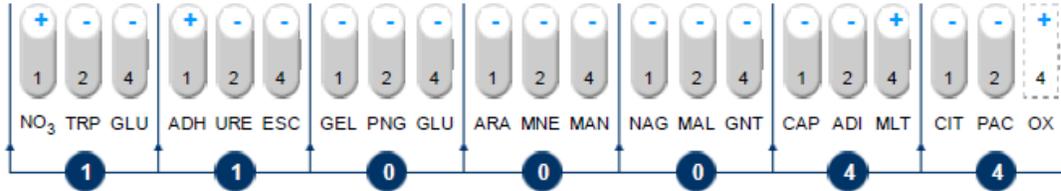
🖨 Imprimir

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 20. Resultados APIweb™ de cepa 6.7



API 20 NE V7.0



REFERENCIA 6.7  
 FECHA 23-02-2017  
 COMENTARIO Sedimentador Primario

**BAJA DISCRIMINACION**

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	1 1 0 0 0 4 4
Nota	ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Eik.corrodens ID.NO VALIDA ANTES 48H/POSIBILIDAD DE Ps.pseudoalc.

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra		
Comamonas testosteroni/Pseudomonas alcaligenes	58.5	0.79	ADH	6%	
Pasteurella spp	29.7	0.59	ADH	2%	MLTa 13%
Photobacterium damsela	11.1	0.53	GLU	94%	URE 99%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
Methylobacterium mesophilicum	0.2	0.32	NO3	21%	ADH	0% URE 76%

Pruebas complementarias(s)	MOT	MALTOSAac	NaCl 4%	MAC CONKEY
Comamonas testosteroni	100%	NT	0%	85%
Pseudomonas alcaligenes	98%	NT	0%	85%
Pseudomonas pseudoalcaligenes	91%	NT	0%	98%
Pasteurella multocida	0%	3%	NT	v
CDC group EF-4 (Pasteurella)	0%	0%	NT	98%
Eikenella corrodens	-	0%	NT	-
Photobacterium damsela	24%	100%	100%	98%

[Cerrar](#)

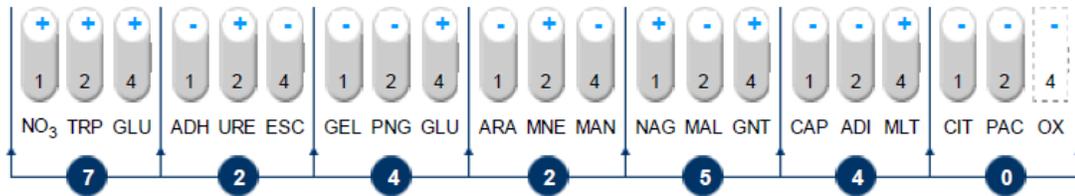
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 21. Resultados APIweb™ de cepa 7.2



### API 20 NE V7.0



REFERENCIA: 7.2  
 FECHA: 27-10-2016  
 COMENTARIO: Filtro Percolador Fase I

### PERFIL INACEPTABLE

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	7 2 4 2 5 4 0
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra							
Pasteurella aerogenes			TRP	0%	PNPG	100%	ARAA	75%	MALa	99%
			OX	77%						
Grimontia hollisae			URE	0%	GLUa	10%	NAGa	24%	OX	100%
Pasteurella pneumotropica			PNPG	83%	GLUa	6%	MNEa	6%	NAGa	6%
			GNTa	6%	MLTa	6%	OX	84%		
Vibrio alginolyticus			URE	0%	GEL	91%	MNEa	18%	MANa	75%
			OX	99%						

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra							
Plesiomonas shigelloides			ADH	98%	URE	0%	PNPG	86%	MNEa	12%
			MALa	98%	CAPa	77%	OX	99%		

[Cerrar](#)

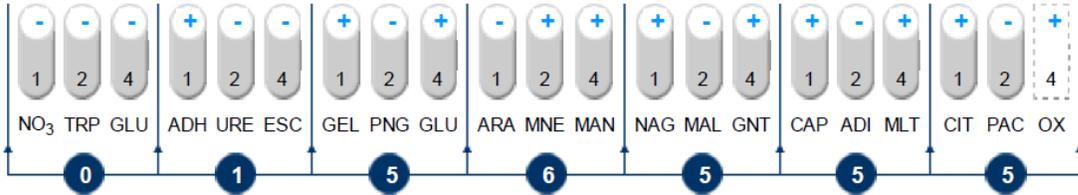
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 22. Resultados APIweb™ de cepa 7.5



### API 20 NE V7.0



REFERENCIA: 7.5  
FECHA: 27-10-2016

COMENTARIO:  
Filtro Percolador Fase I

### MUY BUENA IDENTIFICACION

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	0 1 5 6 5 5 5
Nota	

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99.8	0.9	

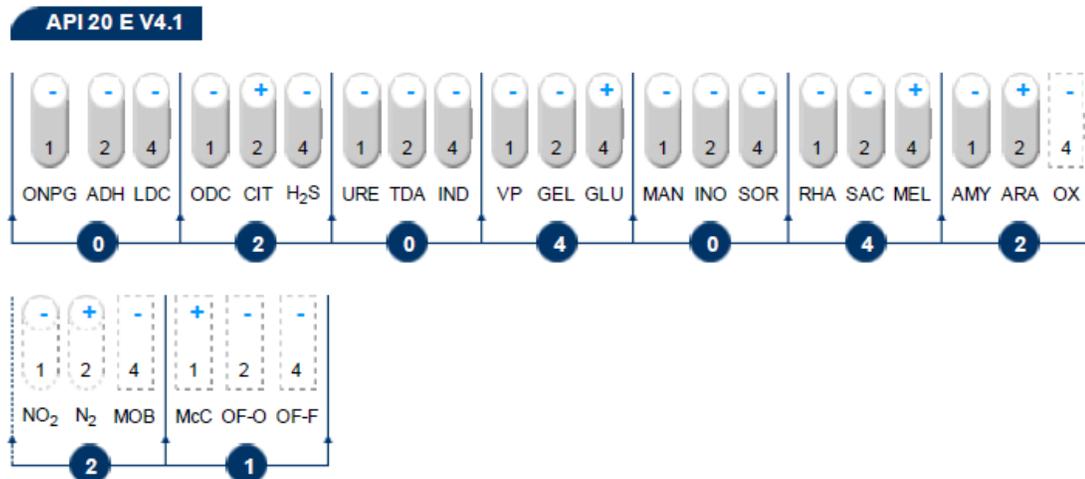
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.1	0.3	NO <sub>3</sub> 96% MNEa 1% ADIa 91%

[Cerrar](#)

[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 23. Resultados APIweb™ de cepa 9.2



REFERENCIA 9.2  
FECHA 27-10-2016  
COMENTARIO Filtro Percolador Fase III

PERFIL DUDOSO	
Galería	API 20 E V4.1
Perfil	0 2 0 4 0 4 2 2 1
Nota	
Taxón significativo	% ID T Pruebas en contra
Acinetobacter baumannii/calcoaceticus	99.9 0.25 N2 0% OF/O 98%
Taxón siguiente	% ID T Pruebas en contra
Pseudomonas aeruginosa	0.1 0.0 ADH 89% GEL 75% MEL 10% ARA 25% OX 97% MOB 97% OF/O 98%
Pruebas complementarias(s)	42°C
Acinetobacter baumannii	+
Acinetobacter calcoaceticus	-

[Cerrar](#)

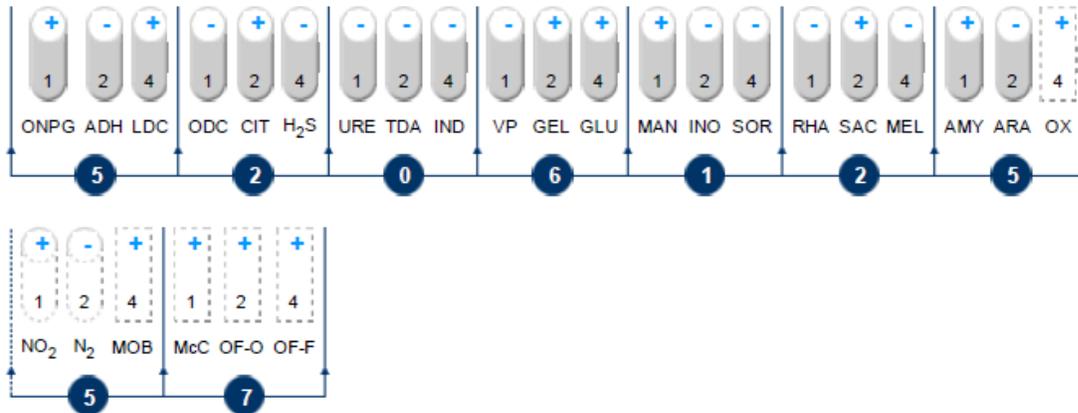
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 24. Resultados APIweb™ de cepa 11.5



**API 20 E V4.1**



REFERENCIA 11.5  
FECHA 16-11-2016  
COMENTARIO Sedimentador Primario

BUENA IDENTIFICACION EN EL GENERO	
Galería	API 20 E V4.1
Perfil	5 2 0 6 1 2 5 5 7
Nota	POSIBILIDAD DE <i>Vibrio fluvialis</i>

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 2	73.1	0.55	ADH 97%	IND 85%	VP 80%	
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	24.3	0.49	ADH 90%	LDC 25%	CIT 25%	IND 85%
			ARA 75%			

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Vibrio cholerae</i>	2.0	0.25	ODC 97%	IND 99%	AMY 5%	

Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA <sub>g</sub>	ESC (HYD.)	O/129 R	RM/MR
<i>Aeromonas caviae</i>	-	+	+	+
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	86%
<i>Vibrio fluvialis</i>	0%	NT	-	NT
<i>Aeromonas sobria</i>	+	-	+	-

[Cerrar](#)

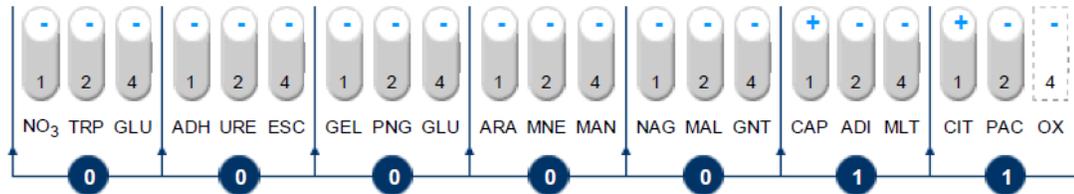
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 25. Resultados APIweb™ de cepa 12.1



API 20 NE V7.0



REFERENCIA 12.1  
 FECHA 23-02-2017  
 COMENTARIO Filtro Percolador Fase I

**BUENA IDENTIFICACION**

Galeria	API 20 NE V7.0
Perfil	0 0 0 0 0 1 1
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Acinetobacter junii/johnsonii	91.3	0.8	MLTa 95%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Acinetobacter lwoffii	6.0	0.67	CITa 1%

Pruebas complementarias(s)	42°C
Acinetobacter johnsonii	-
Acinetobacter junii	+(-)

[Cerrar](#)

[Imprimir](#)

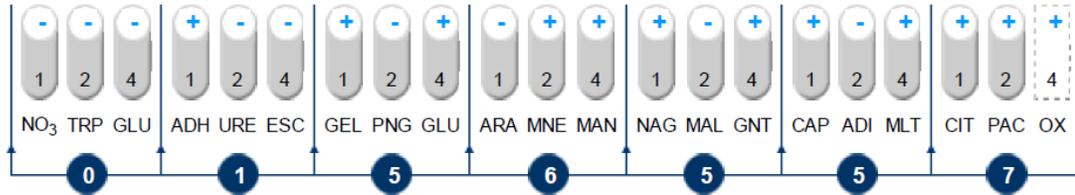
Fuente: elaboración propia.



## Apéndice 27. Resultados APIweb™ de cepa 13.1



### API 20 NE V7.0



REFERENCIA 13.1  
FECHA 23-02-2017

COMENTARIO  
Filtro Percolador Fase II

#### BUENA IDENTIFICACION

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	0 1 5 6 5 5 7
Nota	

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	97.2	0.79	PACa 16%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	2.5	0.38	NO3 100% ADIa 99%

[Cerrar](#)

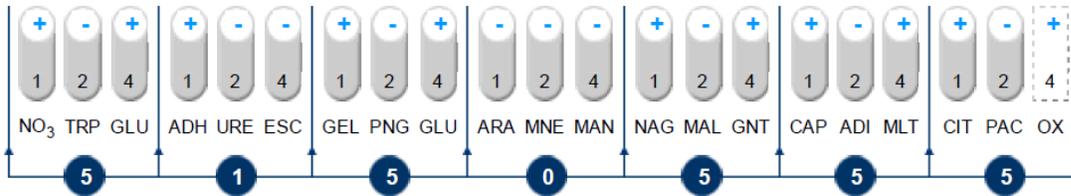
[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 28. Resultados APIweb™ de cepa 14.3



### API 20 NE V7.0



**REFERENCIA**  
14.3

**FECHA**  
23-02-2017

**COMENTARIO**  
Filtro Percolador Fase III

### EXCELENTE IDENTIFICACION

Galería	API 20 NE V7.0
Perfil	5 1 5 0 5 5 5
Nota	

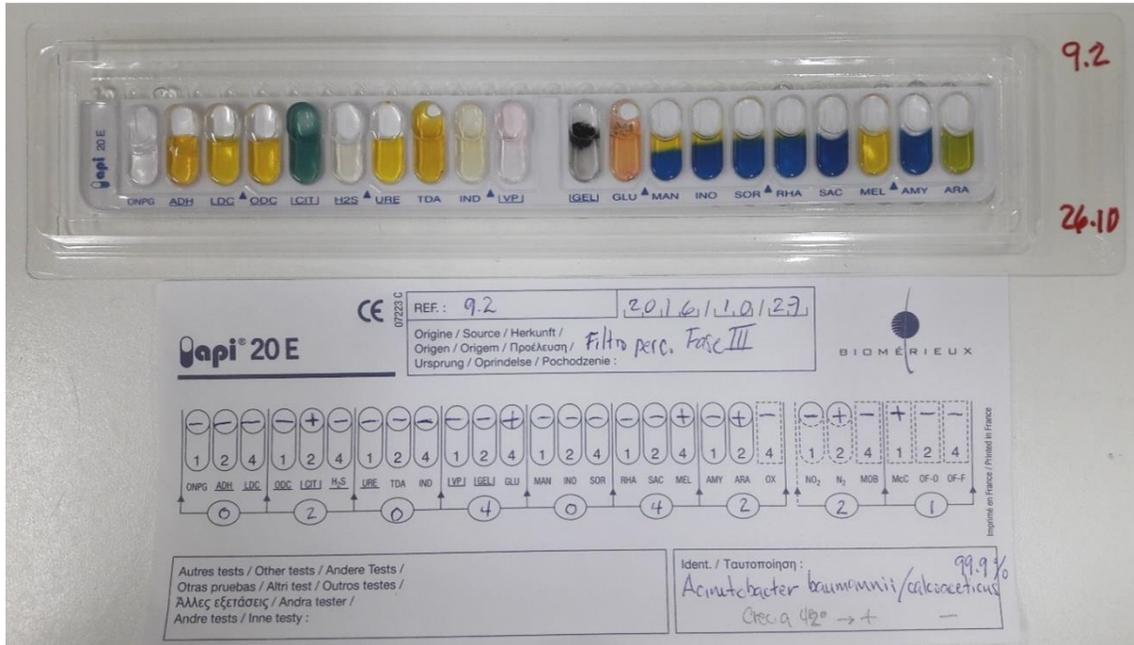
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra					
Chromobacterium violaceum	99.9	0.91						
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra					
Pseudomonas aeruginosa	0.1	0.19	GLU	0%	MANa	89%	ADla	91%

[Cerrar](#)

[Imprimir](#)

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 29. **API® de muestra 9.2. Se observa la identificación de *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus***

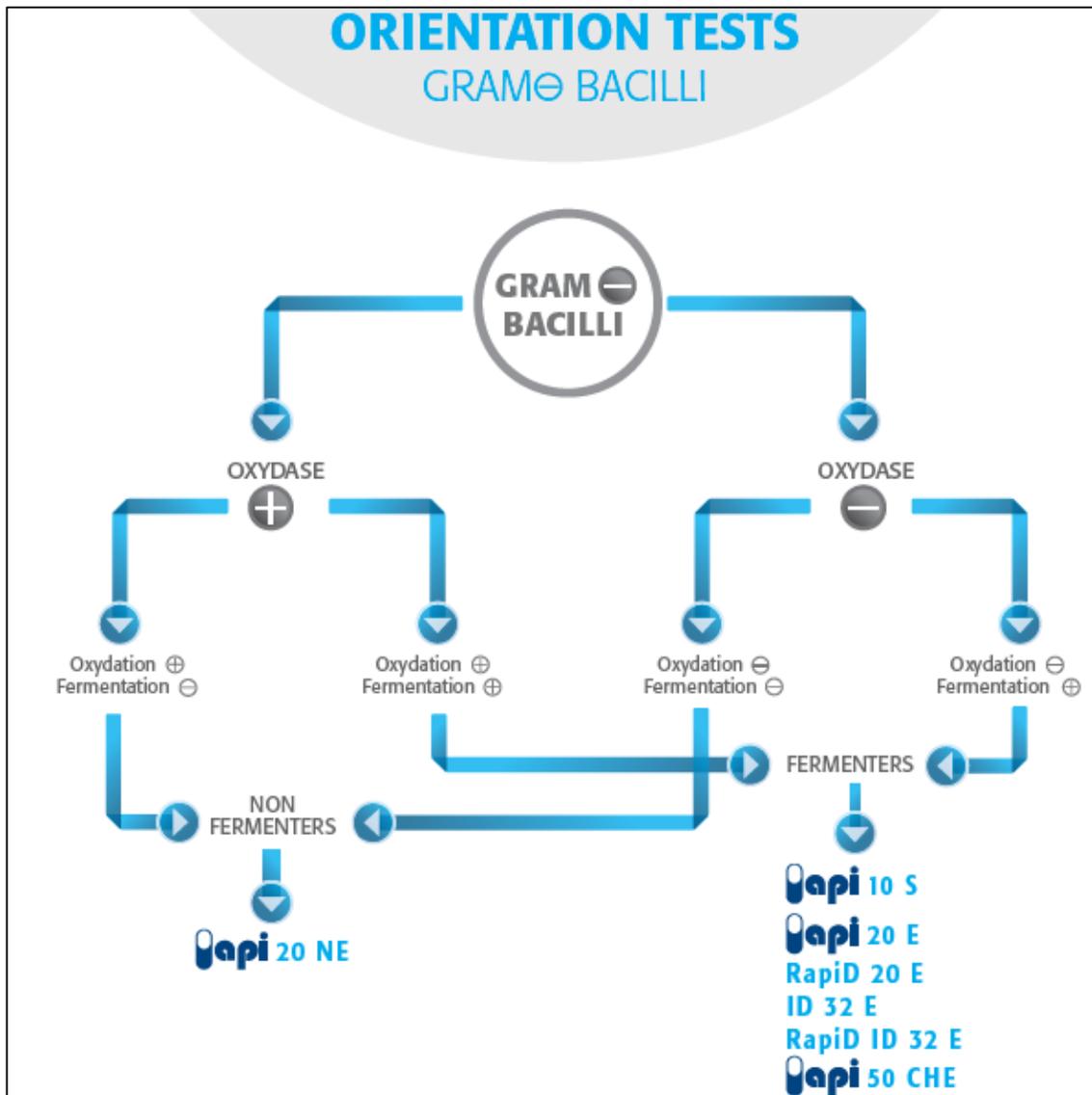


Fuente: Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR-.



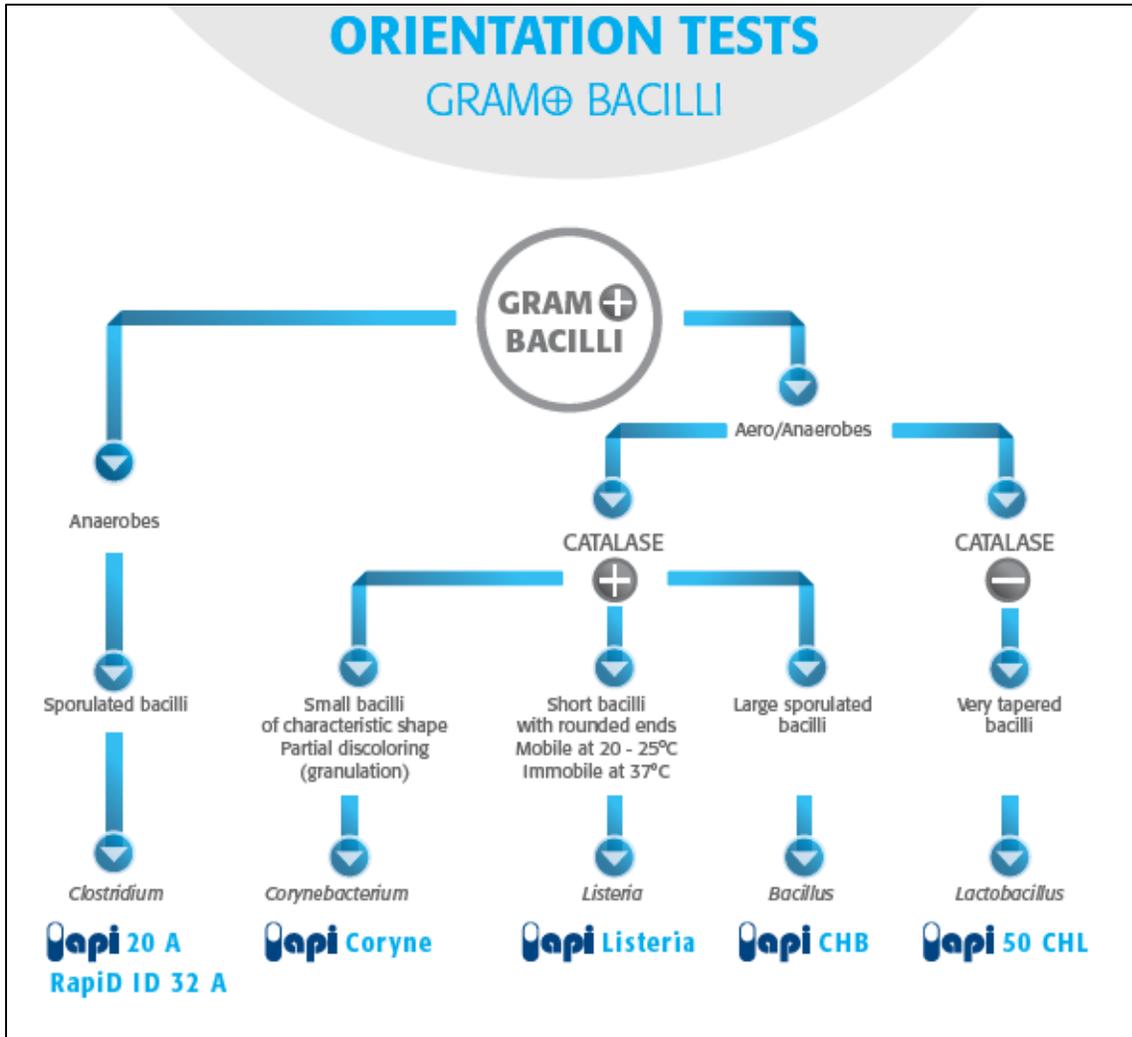
## ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de flujo para seleccionar API® para Bacilos Gram negativo



Fuente: API & ID 32 *Identification Databases*. BioMérieux. [www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com). Consulta: 20 de junio de 2016.

Anexo 2. Diagrama de flujo para seleccionar API® para Bacilos Gram positivo



Fuente: API & ID 32 *Identification Databases*. BioMérieux. [www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com). Consulta: 20 de junio de 2016.

### Anexo 3. Galería API® 20 E



Fuente: [http://www.biomerieux.com.mx/sites/subsidiary\\_mx/files/api\\_20\\_e\\_pos.jpg](http://www.biomerieux.com.mx/sites/subsidiary_mx/files/api_20_e_pos.jpg). Consulta: 5 de septiembre de 2016.

### Anexo 4. Boleta de registro de resultados en galería API® 20 E

07223 A

**api 20 E**

REF. : \_\_\_\_\_

Origine / Source / Herkunft / Origin / Prelevio : \_\_\_\_\_

**bioMérieux**

+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-															
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4														
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VPI	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	CIX	NO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	MOB	M/C	OF-O	OF-F								
5					1					4					4					5					7					2				

Autres tests / Other tests / Weitere Tests / Altri tests / Otros tests : \_\_\_\_\_

Ident. : ***Escherichia coli***  
excellent identification

Imprimé en France / Printed in France

Fuente: <http://www.rci.rutgers.edu/~microlab/CLASSINFO/IMAGESCI/Api%20score%20sheet.png>. Consulta: 5 de septiembre de 2016.

