

11  
29



# Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Estudios Profesionales "ZARAGOZA"

ESTUDIO BACTERIOLOGICO DE LOS GENEROS  
Salmonella Y Shigella EN LA LAGUNA DE  
ESTABILIZACION EN SANTO TOMAS ATZINGO,  
EDO. DE MEXICO, DURANTE UN PERIODO  
DE VERANO - INVIERNO

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G O  
P R E S E N T A  
NOEMI FARFAN NUÑEZ

MEXICO, D. F.

1990

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN





Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. GENERALIDADES	
1. Agua	7
2. Lagunas de Estabilización	9
3. Características Generales	12
4. Características de los géneros <u>Salmonella</u> , <u>Shigella</u> y <u>Proteus</u>	12
5. Características de la zona de estudio	16
IV. OBJETIVOS	22
V. METODOS	
1.- Trabajo de campo	23
1.1 Muestreo Bacteriológico	23
1.2 Muestreo para análisis físico y químico	23
2.- Laboratorio	24
2.1 Parámetros físico y químicos	24
2.2 Bacteriológico	25
VI. RESULTADOS	31
VII. DISCUSION DE RESULTADOS	47
VIII. CONCLUSIONES	53
IX. SUGERENCIAS	55
ANEXO I Abreviaturas y Símbolos	56
ANEXO II Medios de Cultivo, Colorantes y Soluciones	57
X. BIBLIOGRAFIA	64

## I. RESUMEN

El presente estudio se realizó en las lagunas de estabilización de Santo Tomás Atzingo, Estado de México, de junio a diciembre de 1981.

Se realizaron 12 muestreos con un total de 66 muestras analizadas. En este trabajo se utilizaron métodos de aislamiento, purificación y determinación de los géneros Salmonella y Shigella utilizando además medios de enriquecimiento, selectivos y diferenciales. La determinación se logró al observar la morfología macroscópica y microscópica, así como las comprobaciones bioquímicas correspondientes. Paralelamente se llevo a cabo el análisis de parámetros físicos y químicos.

Se estableció la relación existente entre los parámetros físicos y químicos y la frecuencia de aparición de los géneros Salmonella y Shigella, encontrándose que son más afectados por los factores biológicos (competencia de nutrientes y depredación).

El funcionamiento de las lagunas se evaluó en base a la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno al quinto día ( $DBO_5$ ) y otros parámetros físicos y químicos ( pH, temperatura, oxígeno disuelto, bióxido de carbono, nitritos y nitratos).

El resultado de estos parámetros mostraron que las lagunas trabajaron anaerobicamente, debido a la alta carga orgánica y el oxígeno disuelto no fue suficiente para degradarla completamente, por lo que no se detecto este elemento en ningún muestreo. Este factor no fue una limitante para el desarrollo y crecimiento de estos géneros ya que son anaerobios facultativos, además utilizan

los nitratos como aceptores de electrones y participan, en la degradación de la materia orgánica, por lo que la mayor frecuencia de estos microorganismos se encontró en las zonas donde había mayor acumulación de materia orgánica.

## II. INTRODUCCION

El agua es el líquido más abundante de la Tierra y constituye un requisito para la vida en todos sus aspectos, ya sea que se utilice en procesos metabólicos, como disolvente de minerales o para eliminación de desechos. Es difícil citar un fenómeno natural en el que el agua no participe en una u otra forma.

El deterioro en la calidad de los diferentes cuerpos de agua es consecuencia directa del vertido sin previo tratamiento de las aguas residuales, que contienen grandes cantidades de sustancias contaminantes. La naturaleza y efecto sobre los cuerpos de agua varían de acuerdo al origen del cuerpo de las aguas residuales a las concentraciones de las sustancias contaminantes, y a los volúmenes de descarga a las características propias de los cuerpos de agua (AWW-APHA-APCF, 1975).

La naturaleza ha previsto medios para la conservación de este líquido dándole una capacidad considerable para eliminar por sí mismo, sustancias que lo contaminen es decir que se autopurifique. Este líquido puede moverse en corrientes o estar relativamente estático, como sucede en lagos o estanques, pero los procesos naturales son similares. Se ha aprovechado esta autopurificación, para utilizarla como etapa final en el tratamiento de las aguas negras y desechos industriales.

En muchos casos el agua contaminada se hace biológicamente menos dañina y sirve una vez más a la naturaleza en una u otra forma. Esta purificación se logra por combinación de factores

físicos, químicos y biológicos. Los factores físicos intervienen en la separación de los sólidos suspendidos, las reacciones químicas transforman los desechos inestables en productos inofensivos y los seres vivos contribuyen a la estabilización de la corriente realizando fenómenos tanto físicos como químicos. Este último factor es el más activo y el más importante para lograr el equilibrio de una corriente.

Las lagunas de estabilización son estructuras sencillas de tierra abiertas a los recursos naturales como son el sol y el aire los cuales ayudan a lograr la purificación de las aguas. Estas lagunas reciben aguas residuales, esto es, aguas de tipo doméstico y aguas provenientes de la industria. Los métodos y el tratamiento de este tipo de lagunas es de bajo costo (Fair, Geyer, Okum, 1976).

El proceso de descomposición de la materia orgánica presente en las aguas negras es desintegrada primero por los organismos aerobios con formación de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) el cual lo utilizan las algas en la fotosíntesis y en presencia de luz solar. En este proceso el oxígeno ( $\text{O}_2$ ) del bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) es liberado y se disuelve en donde crecen las algas. Los sólidos que son descargados en el estado putrefacto suben y forman material celular muy estable, el cual puede descargarse en las algas (Manual de tratamiento de aguas negras, 1976).

Las lagunas de estabilización que se construyen en México se emplean como sistemas de tratamiento secundario de aguas residuales. Sin embargo, no se ha dado la importancia a los mecanismos físico-químicos y biológicos que participan en la

degradación de la materia orgánica. Algunos de los microorganismos que se encuentran en las aguas negras que se vierten en las lagunas de estabilización son patógenas, de estos microorganismos se puede mencionar a los géneros Salmonella y Shigella, que diseminan enfermedades a través del agua en la vía fecal-oral.

El género Proteus se encuentra con cierta frecuencia en heces normales y a menudo aumenta durante ataques de diarrea causados por otros microorganismos o inmediatamente después. Es una de las bacterias más comunes en suelos y aguas que contienen desechos de materia orgánica de origen animal y suelen abundar en aguas de albañal, se le identifica como la bacteria de putrefacción. A Proteus se ha encontrado asociado con diversas enfermedades y comprobado muy virulento. Además de su patogenicidad independiente se le asocia con otros microorganismos, con frecuencia es el agente causal de afecciones de vía digestivas.

Las principales enfermedades hídricas en la zona tórrida son las causadas por los géneros Salmonella y Shigella como son la fiebre tifoidea, la paratifoidea (salmonellosis) y la disentería bacilar (shigellosis). El hombre comparte algunas especies paratíficas, con los animales domésticos, cerdos, aves, perros y puede haber contaminación del agua originada por ellos o por el hombre mismo.

La materia orgánica que se vierte en la laguna se utiliza como fuente de energía, por estos géneros debido a que atacan a los carbohidratos haciéndolo fermentar, reducen los nitratos a nitritos, porque son bacterias quimiolitotrofas.

Los géneros Salmonella, Shigella y Proteus son de importancia médica ya que son microorganismos patógenos que producen enfermedades intestinales. El género Salmonella produce la fiebre tifoidea, la fiebre paratifoidea y gastroenteritis, el género Shigella produce la disentería bacilar. Las fuentes de contaminación son, alimentos, bebidas que han sido contaminadas con los géneros ya mencionados. Y las fuentes de contaminación entre otras son: la leche y sus derivados, mariscos, las carne y sus productos y el agua contaminada. El género Proteus es causal de las diarreas de verano de niños e infecciones de los hospitales (Jawtz, et al., 1979).

## II. GENERALIDADES

### 1. EL AGUA

El agua es uno de los bienes más preciados tanto para el hombre como para animales y vegetales, por lo que es necesario que se tengan abastecimientos hídricos limpios y seguros (Walter y Macbec, 1976). Por lo tanto, debe encontrarse libre de organismos patógenos, de sustancias venenosas o fisiológicamente indeseables; por otra parte debe ser atractiva a los sentidos.

El agua circula continuamente a través del interminable ciclo hidrológico de precipitación, escurrimiento, filtración, retención o almacenamiento, evaporación y precipitación y así sucesivamente. La fuente de abastecimiento de agua es aquel punto o fase del ciclo natural del cual se desvía o aparta del agua temporalmente para ser usada, regresando finalmente a la naturaleza. Esta agua puede o no volver a la fuente original; esto depende de la forma en que se disponga de las aguas residuales. Para el abastecimiento público del agua se usa comúnmente tanto los recursos superficiales como los subterráneos (Manual de Tratamiento de agua, 1976).

Debido a que los núcleos de población y centros industriales han crecido por la continua migración de las áreas rurales a las urbanas, la calidad del medio ambiente en las últimas décadas se ha visto afectada por las grandes cantidades de desechos y por su inadecuado manejo. Por lo cual, el control de las aguas residuales irá siendo cada vez más difícil; debido a esto el problema tiene dos aspectos, el suministro de agua como vehículo

de transporte y eliminación con las suficientes garantías de los residuos de una comunidad que dispone de un adecuado abastecimiento de agua (Protección y Mejoramiento SARH, 1977).

Las actividades humanas dan lugar a una amplia gama de productos residuales, muchos de los cuales pasan al agua, que actúa como vehículo de transporte; por lo que; debe ser cuidadosamente tratada antes de ser eliminada. Estas aguas residuales pueden contener deyecciones humanas, residuos domésticos, descargas industriales, escorrentías procedentes de la agricultura y escorrentías urbanas de agua pluviales. Todos estos residuos, individual o colectivamente, pueden contaminar el medio ambiente (Gloyne, 1976).

El deterioro en la calidad de los diferentes cuerpos de agua es consecuencia directa del vertido sin previo tratamiento de las aguas municipales, agrícolas e industriales, que contienen grandes cantidades de contaminantes. La naturaleza y efecto sobre los cuerpos de agua varían de acuerdo al origen de las aguas residuales, a las concentraciones de las sustancias contaminantes, a los volúmenes de descarga y a las características propias de los cuerpos de agua (AWWA-APHA-APCF, 1976).

Las aguas que llevan mezclada gran cantidad de materia orgánica que la imputabilizan sobre su recorrido puede sufrir una purificación natural debido a la acción metabólica aerobia o anaerobia de los microorganismos que la transforman en bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Así el agua corriente que recibe los desechos de las ciudades se vuelve potable debido a la

purificación natural que efectúan los microorganismos (Monitoreo SARH. 1980)

Es por demás subrayar el estado crítico tanto en la degradación como en escasez que sufren ya algunos de los recursos hidráulicos más importantes del país. Una de las formas más flexibles del control de las aguas residuales es el establecimiento de distritos regionales que se encargen de coleccionar, conducir y tratar dichas aguas en forma comunal. Este tipo de solución es una de las más atractivas desde el punto de vista económica y social, tanto a nivel individual como regional y nacional (Protección y Mejoramiento SARH, 1977).

## 2. LAGUNAS DE ESTABILIZACION

El tratamiento biológico en alguna de sus formas es la solución más económica al tratamiento de las aguas domésticas y la mayoría de las aguas residuales industriales. Las lagunas de estabilización, son la modalidad de tratamiento biológico más adecuada ya que son estructuras sencillas donde el suelo no es caro (Gloyne, 1976), son abiertas al sol y al aire y contienen bacterias, protozoarios y algas las cuales constituyen los recursos naturales a que sirven para que se dé la purificación de las aguas (Fair, Geyer, Okum, 1976). Este tipo de solución es uno de los más atractivos desde el punto de vista económica y social, tanto a nivel individual como regional y nacional (Protección y Mejoramiento SARH, 1977).

Durante los últimos años se ha desarrollado un sistema de tratamiento de aguas negras que se basa en el uso de lagunas especialmente preparadas, a las cuales se les llama lagunas de

estabilización. Estos estanques se usan primero en zonas en las que prevalece los climas calurosos y los días soleados; pero también operan con resultados satisfactorios en los climas más fríos y muy nublados. Las lagunas se pueden usar prácticamente en cualquier parte variando la eficacia a que puedan operar con temperatura, la energía luminosa y otras condiciones locales.

Un sistema de lagunas se proyecta usualmente para recibir aguas domésticas o industriales sin un tratamiento previo, pero también puede preverse para tratar afluentes primarios o secundarios de fábricas, fangos activados en exceso o fango diluido de pozos negros. Las lagunas pueden utilizarse para pretratamiento de aguas residuales, para reducir la mayor parte de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) así como reducir la concentración de los agentes patógenos (Gloyne, 1976). De acuerdo al nivel de oxígeno, las lagunas pueden estar incluidas en uno de estos grupos.

---Lagunas anaerobias de pretratamiento, no requiere de oxígeno disuelto ya que las bacterias anaerobias llevan a cabo partición de moléculas orgánicas complejas.

---Lagunas aerobias de estabilización de aguas residuales, la descomposición de la materia orgánica se mantiene aerobia en toda la laguna por medio de la actividad fotosintética de las algas.

---Lagunas facultativas de estabilización de aguas residuales; la concentración de oxígeno disuelto se encuentra estratificado una zona superior aerobia y una anaerobia cerca del fondo.

---Laguna de estabilización de aguas residuales con aereación mecánica; donde aereadores mecánicos ayudan o sustituyen a las algas como generadoras de oxígeno. Dependiendo de las

características del afluente de la laguna, son, primarios, secundarios o terciarios (Limón, 1979).

El proceso de descomposición del material orgánico se empieza a degradar, tanto aerobia como anaerobiamente mediante procesos bioquímicos de oxidación. El material orgánico en suspensión de mayor densidad que el agua, se precipita al fondo donde es primeramente hidrogenada para posteriormente ser degradada biológicamente bajo condiciones aerobias principalmente. El material orgánico soluble es degradado aerobicamente en un proceso biológico en que intervienen tanto algas como bacterias que interactúan simbióticamente. Las bacterias utilizan la materia orgánica soluble, la cual la transforman en protoplasma microbiana y en productos finales del metabolismo bacteriano que consiste primordialmente en compuestos estables, bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y los compuestos orgánicos se aprovechan por las algas las cuales utilizan la energía solar para sintetizar compuestos y producir material orgánico en forma de protoplasma biológico y oxígeno ( $\text{O}_2$ ). Ambos productos son usados para las bacterias para continuar la degradación de los desechos bajo condiciones aerobias (Monitoreo SARH, 1978).

Las lagunas de estabilización pueden usarse como un tratamiento completo cuando reciben aguas negras crudas, como un tratamiento secundario para aguas negras sedimentadas o también como tratamiento adicional para afluentes de procesos secundarios. Se han usado más generalmente como tratamiento secundario de afluentes primarios.

Estos estanques son de construcción barata y requieren de un

minimo de operación. En uso se limita a las poblaciones pequeñas donde pueda disponerse de terreno ya que se requieren grandes superficies y estanques aislados (Gloyna, 1976; Fair, 1976 Desarrollo Urbano, SARH 1976, Monitoreo 1980).

### 3.- Características Generales de las Bacterias

Las bacterias son microorganismos que tienen la habilidad de desdoblar o metabolizar y utilizar muchas sustancias orgánicas complejas (Pikes, 1973). Además son más pequeñas que otros protistas, por su gran coeficiente superficie-volumen presentan una mayor capacidad para el intercambio de nutrientes con el fluido circundante (Facultad Ingeniería UNAM, 1966).

Al grupo de la familia Enterobacteriaceae se le ha dado un interés especial, pues tiene géneros que son patógenos tanto para el hombre como para algunos animales (Buchanan, 1974; Brook, 1978; Jawetz, 1979).

### 4.- Características de la familia Enterobacteriaceae

Son bacilos pequeños, gram-negativo, son móviles por medio de flagelos peritriticos o inmóviles, pueden presentar cápsula o no, son aerobios o anaerobios facultativos, crecen rápidamente en extracto de carne, algunos miembros presentan requisitos especiales para su crecimiento. Son quimiorganotrofos, producen ácido a partir de la fermentación de la glucosa y otros carbohidratos, normalmente son anaerógenicos, pero hay grupos aerogénicos. Su catalasa es positiva con excepción de un serotipo de Shigella. su oxidasa es negativa, reducen los nitritos a nitratos (Buchanan, 1974; Bailey, 1974; Broock, 1978).

#### 4.1- Género Salmonella

Los miembros de este género, no forman esporas, se

desarrollan con facilidad en los medios comunes, son bacilos normalmente móviles por medio de flagelos peritriticos, algunos no lo son (Salmonella gallinaurum y Salmonella pollurum) utilizan citrato como fuente de carbono, fermentan la glucosa con producción de gas y ácido con excepción de Salmonella typhi. Son fuentes adecuadas de nitrógeno y carbono, la temperatura óptima es de 37°C, son aerobios desarrollandose igualmente en condiciones anaerobias facultativas. Su estructura antigénica es compleja presentan tres antígenos; antígeno O somático de grupo; antígeno H o flagelar presente y antígeno Vi ó de virulencia, producen ácido sulfhídrico, no utilizan lactosa ni salicina, no licuan la gelatina ni utilizan indol (Broock, 1977; Bryan, 1984).

#### Patogenicidad

Los bacilos del grupo Salmonella son patógenos en mayor o menor grado. Los hospederos naturales de estos géneros, son el hombre y los animales.

La naturaleza infecciosa de la fiebre tifoidea fue descrita por William en 1856; este autor, con base en los datos epidemiológico sugirió que el padecimiento era transmitido por el agua contaminada con desechos, y que la fuente del agente infeccioso eran las heces humanas (Burrow, 1976).

Salmonella es un parásito obligado, se encuentra dentro del hospedero animal (S. typhi, S. paratyphi A y generalmente S. paratyphi B) son parásitos obligados del hombre, al que pueden causar enfermedades o que se transforma en portador. Las aves se infectan incluyendo pollos, pavos, y patos, el cerdo es el que se infecta más frecuentemente.

La infección por Salmonella se adquiere por ingestión de los microorganismos generalmente con agua, leche o alimentos contaminados (Burrow, 1976). En el hombre pueden producir dos modelos de infección. La infección generalizada con fiebre continua cuya característica es la fiebre entérica, tipo fiebre tifoidea, producida por S. typhi y un reducido grupo de serotipos e infecciones localizadas en el tubo digestivo o enteritis febriles, tipo gastroenteritis o enterocolitis por toxoinfección alimentaria, que pueden ser producidas por la mayoría de los serotipos.

En el hombre se presenta un estado de portador, generalmente transitorio excepto en casos crónicos por S. typhi y hay descarga de microorganismos con las heces. La infección puede ser adquirida de esos portadores, pero probablemente la mayor parte de las infecciones humanas son por animales o sea contaminación de alimentos con heces de roedores o de huevos íntegros y desecados por gallinas infectadas (Burrow, 1976; Pumarola, 1984; Carpenter, 1979; Jawetz, 1979).

#### 4.2- Género Shigella

Los miembros de este género presentan las siguientes características. Son bacilos gram-negativos, no forman esporas, fermentan carbohidratos con producción de ácido pero no de gas, no son móviles, son aerobios y anaerobios facultativos, su temperatura óptima de desarrollo es de 37°C, crecen en extracto de carne de res, fermentan la glucosa, no fermentan la lactosa, no producen sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), producen catalasa con ciertas excepciones. Dentro del género se pueden diferenciar

cuatro especies que a su vez se dividen en serotipos, la fermentación del manitol es variable (positivo para S. flexneri, S. boydii y S. sonnei negativa para S. dysenteriae (Buchanan, 1974; Pumarola, 1984; Burrow, 1976; Jawetz, 1979). presentan dos antígenos: antígeno O, constituido por uno o varios factores antígenos responsables de la especificidad; el antígeno cápsular K, termolábil que solo la presentan algunos serotipos y es responsable de la O-inaglutinabilidad (Pumarola, 1984, Burrow, 1976; Jawetz, 1979).

#### Patogenicidad

La disenteria bacilar es una enfermedad relativamente frecuente en el hombre, sobre todo en climas cálidos y tiende a asociarse con las condiciones que favorecen la diseminación de los reservorios humanos (Burrow, 1976).

Las shigellas ingresan por vía digestiva, es una primera fase, los gérmenes se desarrollan en el intestino delgado, su hábitat natural es el intestino grueso del hombre (Jawetz, 1979). Los bacilos se encuentran a veces en cantidades enormes en las heces (Pumarola, 1984; Jawetz, 1979).

La diseminación de los bacilos se debe al paso más o menos directo del bacilo específico del intestino infectado a los más digestivos de un individuo susceptible. El agua contaminada puede participar en algunos brotes. La eliminación inadecuada de excreta, que permite la diseminación por moscas y la contaminación de alimentos por el manejo de portadores crónicos y convalecientes son portadores de la disenteria bacilar (Burrow, 1976).

#### 4.3- Género Proteus

Son bacilos gram-negativo, son móviles por medio de flagelos peritriticos, no forman cápsula o esporas, licúan la gelatina, fermentan la glucosa con producción de ácido y gas fermentan otros carbohidratos, son lactosa negativa y urea positiva, son aerobios y anaerobios facultativos. La mayoría llevan vida libre en el agua, en el suelo, y en las aguas negras. Las especies móviles contienen antígeno H, O sómico (Burrow, 1976; Carpenter, 1979; Jawetz, 1979).

#### Patogenidad

Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, aguas residuales, suelo, plantas y materia orgánica en descomposición, forma parte de la flora intestinal del hombre y de los animales, y puede intervenir en infecciones humanas como patógeno oportunista (Pumarola, 1984), se encuentra con frecuencia en la heces normales y a menudo aumenta durante ataques de diarrea causados por otros microorganismos o inmediatamente después.

La acción patógena en el tracto urinario es la más importante y está asociada con la presencia de Proteus mirabilis.

El género Proteus se ha encontrado asociado con diversas enfermedades, entre ellas se encuentran infecciones de ojo y oído, peritonitis, así como abscesos en muchas partes del cuerpo.

#### 5. CARACTERISTICAS DE LA ZONA DE ESTUDIO

Las lagunas de estabilización se encuentran en el ejido de Santo Tomás Atzingo, perteneciente al municipio de Tlalmanalco de Velázquez, Estado de México.

El ejido se encuentra geográficamente situado entre las cas de verano, el verano es fresco con temperatura media del mes más caliente menor a 22xC (C(w) (b)g. La precipitación total anual es de 960 mm

La temperatura media anual es de 14.1xC. La temperatura máxima al interperie a lo largo del año fue de 29xC y la mínima de -3xC.

A lo largo del año se registraron 122 días con lluvias y 150 días despejados, 23 días con heladas, la primera es en el mes de octubre y la última en el meas de verano, el verano es fresco c temperatura media del mes más caliente menor a 22xC (C(w) (b)g. La precipitación total anual es de 960 mm

La temperatura media anual es de 14.1xC. La temperatura máxima al interperie a lo largo del año fue de 29xC y la mínima de -3xC.

A lo largo del año se registraron 122 días con lluvias y 150 días despejados, 23 días con heladas, la primera es en el mes de octubre y la última en el mes de enero.

La evaporación fue de 1278.9 mm, un día con granizo y 43 con tempestad eléctrica, 17 días con niebla y 10 con rocío.

Durante el año predominaron dos tipos de vientos; vientos débiles variables y vientos moderados variables, registrandose principalmente los primeros.

Desde 1970, el poblado cuenta con agua potable, teniendo como fuente de abastecimiento el Sistema Morelos. Tienen además tomas domiciliarias y sistema de alcantarillado. En 1980 el número de habitantes fue de 1200.

Datos proporcionados por la Secretaria de Programación y Presupuesto en el departamento que corresponde al censo y por la Presidencia Municipal del Municipio de Tlalmanalco de Velázquez.

Los estanques de estabilización están ubicados en las afueras del poblado . Cada uno de los estanque presenta las siguientes dimensiones.

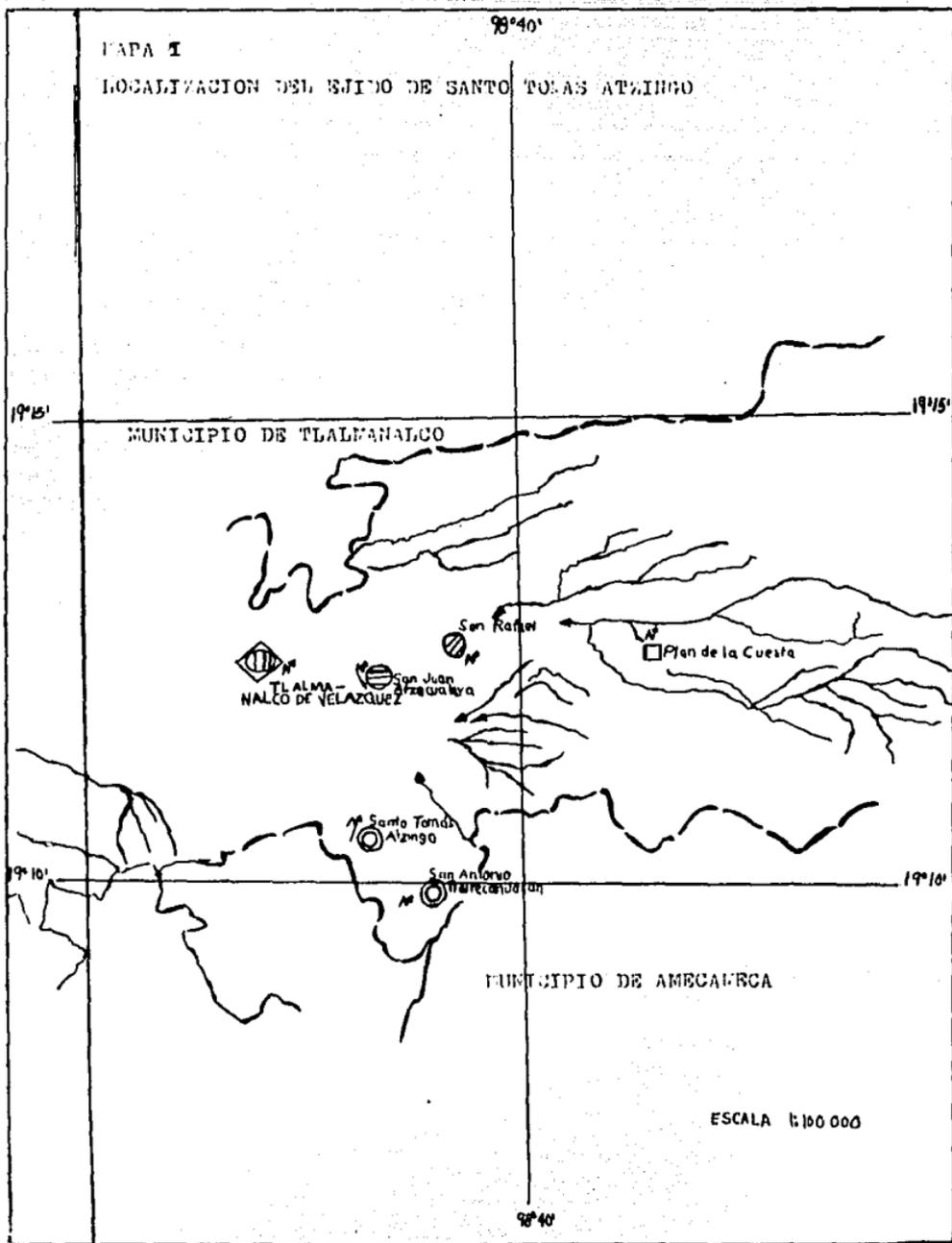
Largo - 41.80 m  
Ancho - 14.60 m  
Profundidad - 1.50 m

Son dos estanques en paralelo (ver fig. 1) que están conectados entre sí, por medio de cinco conecciones de aproximadamente 15cm de los cuales sólo uno estaba en funcionamiento durante el presente estudio. El Área que comprende estos estanque esta rodeada por una cerca de alambre la cual tiene una puerta que normalmente esta cerrada.

Las aguas de desecho doméstico llegan a las lagunas través del alcantarillado para ser tratadas.

MAPA I

LOCALIZACION DEL EJIDO DE SANTO TOLAS ATZINGO



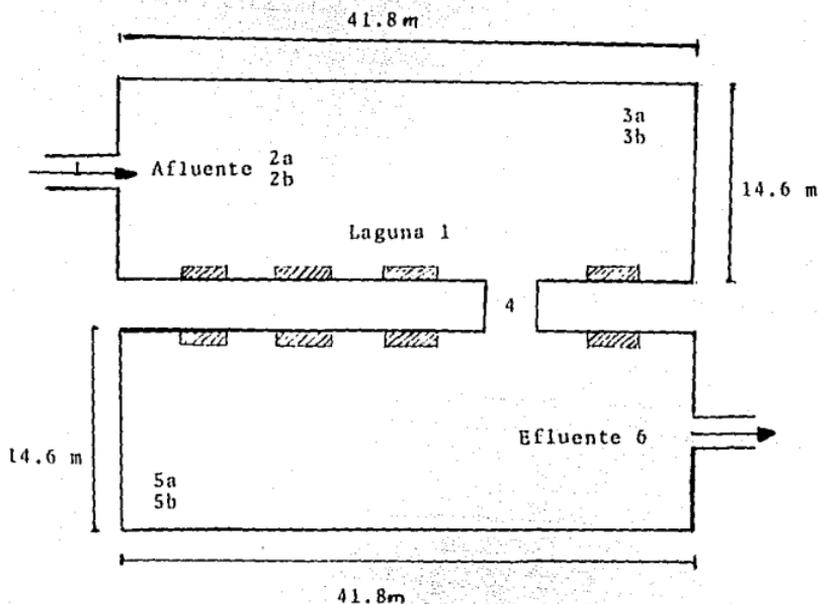
Mapa 2

Localización del poblado de Santo Tomás Atzingo



fig 1

Localización de las estaciones de muestreo en la laguna de Estabilización



1. Afluente
- 2a. Centro superficie primera laguna superficial (5cm ±)
- 2b. Centro primera laguna profundidad media (50 cm ±)
- 3a. Esquina primera laguna profundidad media (5 cm ±)
- 3b. Esquina primera laguna profundidad media (50 cm ±)
4. Conexión de la primera laguna con la segunda
- 5a. Esquina segunda laguna superficial (5 cm ±)
- 5b. Esquina segunda laguna profundidad media (50 cm ±)
6. Efluente

#### IV. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

ESTUDIAR LAS BACTERIAS DE LOS GENEROS Salmonella y Shigella, EN UNA LAGUNA DE ESTABILIZACION EN SANTO TOMAS ATZINGO, ESTADO DE MEXICO, EN EL PERIODO COMPRENDIDO DEL MES DE JUNIO AL MES DE DICEMBRE DE 1981.

##### OBJETIVOS PARTICULARES.

a) Aislar y determinar los microorganismos de los géneros Salmonella y Shigella en una laguna de estabilización facultativa.

b) Relacionar algunos parámetros físicos y químicos con la incidencia de los microorganismos de los géneros Salmonella y Shigella en una laguna de estabilización facultativa.

c) Determinar la actividad funcional de los microorganismos de los géneros Salmonella y Shigella, en una laguna de estabilización facultativa.

## V. METODOS

Los métodos se dividen en dos fases: Método de campo y Método de Laboratorio.

Se realizaron dos muestreos cada mes, de junio a diciembre, a fin de abarcar las estaciones de verano, otoño y parte de invierno. Los muestreos siempre se realizaron entre las 9:00 y 11:00 a.m.. Las estaciones de muestreo que se encuentran señaladas en la figura 1 fueron seleccionadas para abarcar las zonas importantes de este sistema de lagunas facultativas.

### 1. Trabajo de Campo

#### 1.1 Muestreo Bacteriológico.

Las muestras se tomaron con botellas Naussen (frascos de vidrio transparentes con tapón esmerilado de 125 ml), las cuales se esterilizaron previamente a 15 lb de presión, durante 15 min. Para tomar las muestras los frascos se introdujeron en el agua a contra corriente a dos profundidades, una superficial y la segunda a 50 cm, respectivamente, excepto en el afluente, conexión y el efluente ver (fig 1).

Una vez recolectadas, las muestras se mantuvieron en hielo hasta su análisis. El intervalo que transcurrió entre la recolección y el análisis no excedió de 4 hrs.

#### 1.2 Muestreo para Análisis Físicos y Químico.

Posteriores a cada muestra bacteriológica en la estación de muestreo correspondiente se tomaron las muestras para los parámetros físicos y químicos, para obtener una correlación de ambos datos.

Para las muestras de bióxido de carbono se utilizó el método tritimétrico (Standar Methods, 1980; Manual del curso técnicas de muestreo, 1978) con hidróxido de sodio (NaOH) estos se procesaron inmediatamente en el campo. La temperatura se tomó con un termómetro de mercurio (Hg) de inmersión (-10 a 110°C). El pH con un potenciómetro de campo.

Las muestras para OD y DBO se tomaron con botellas para "DBO" con ayuda de la botella Van Dorn utilizando el método de Winkler modificado (Standar Methods, 1980).

A las muestras para análisis de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  se les agrego en el campo 40 mg de HCl/l como conservador y se transportaron en hielo para su análisis en el laboratorio.

## 2. Trabajo de Laboratorio

### 2.1 Parámetros Físico- Químicos

Los parámetros que se realizaron en el laboratorio fueron demanda bioquímica de oxígeno al quinto día ( $\text{DBO}_5$ ), nitrógeno amoniacal, nitrógeno de nitritos, nitrógeno de nitratos, sólidos totales y suspendidos. los reactivos que se utilizaron y las técnicas se tomaron del Manual Estandar para el análisis de aguas y de desechos 1980.

La determinación de la demanda bioquímica de oxígeno al quinto día se realizó por el método de titulación de Winkler, los nitritos por el método de ácido sulfanílico y los nitratos por el método de la brucina. Estas determinaciones así como las de los sólidos disueltos, sólidos suspendidos y gasto se realizaron utilizando los métodos descritos en el Manual Estandar del Agua de desechos (Manual Estandar para el análisis de aguas y de desechos 1980.)

## 2.2. Bacteriológico.

### Aislamiento.

De las botellas Naussen que contienen las muestras para los análisis bacteriológicos, se inocularon en condiciones asépticas, 10 ml de la muestra en tubos que contienen Caldo Selenito de Sodio (medio de enriquecimiento) ver Anexo II, los tubos se incubaron a 37 xC durante 24 hrs.

Después de la incubación, se tomaron inoculos del medio de enriquecimiento y se sembraron por el método de estrias cruzadas (Bailey et al., 1974) sobre cajas de petri conteniendo medios selectivos (Bioxon, 1975; BBL, 1974, Vassilisidis, 1978) Agar Salmonella y Shigella, Agar Verde Brillante y Agar Sulfito de Bismuto (ver Anexo II).

Se incubaron durante 24 hrs a 37 xC y posteriormente a las colonias que presentaron características morfológicas de los géneros Salmonella, Shigella y Proteus (Buchanan, 1974 Bioxon) se les realizaron lecturas macroscópicas y microscópicas por medio de la tinción Gram.

Posteriormente se tomaron inoculos de las características de los géneros ya mencionadas y se sembraron por el método de estria cruzada en cajas de petri que contenían los métodos diferenciales: Agar Nutritivo o Agar Soya Trypticaseina (ver Anexo II).

Las cajas se incubaron a 37xC durante 24 hrs y se les realizaron lecturas macroscópicas y microscópicas (Tinción de Gram) Las que presentaron las características esperadas se

resembraron en tubos inclinados que contenían Agar Infusión Cerebro- Corazón (ver Anexo II). Los tubos se incubaron a 37°C, durante 48 hrs.

De estos últimos se tomaron inoculos para realizar las pruebas bioquímicas para la identificación de los microorganismos pertenecientes a los géneros Salmonella, Shigella y Proteus.

-Tinción Gram (Standard Method, 1980).

Colocar una gota de agua destilada sobre la superficie limpia del porta-objetos, colocar inmediatamente el inóculo del cultivo, extendiendolo bien en la superficie, secar al aire.

Fijar el frotis a la flama, pasando cerca de esta en forma rápida.

Cubrir con cristal violeta-oxalato de amonio durante un minuto .

Lavar con agua hasta quitar el colorante. Cubrir con lugol durante 4 minutos.

Lavar con agua hasta quitar el lugol. Decolorar con alcohol-cetona, durante 10 segundos.

Tefir con safranina, durante 30 segundos. Lavar con agua y quitar el exceso de esta, dejar secar.

Se observa al microscopio. La descripción de las soluciones se refieren en el anexo II.

- Características Coloniales (Gloyna, 1975).

La identificación morfológica de las colonias se realizó observando las siguientes características. (Rodina, 1972).

Borde: puede ser liso, ondulado, filamentoso, estriado, rugoso, etc.

Color: es variable dependiendo del medio de cultivo y de la especie que se trate

Consistencia: puede ser blanda, dura, viscosa, butirosa, etc.

Elevación: plana, convexa, en forma de gota, en forma de cráter, etc

Forma puede ser circular, punteada, filamentosa.

Luz: pueden ser opacas o translúcidas.

Superficie: lisa, radiada, estriada, rugosa, ondulada, etc.

Pruebas Bioquímicas (Mc Faddin, 1980).

Las pruebas bioquímicas se realizaron sembrando inoculos de las bacterias aisladas de los tubos con Agar. Infusión Cerebro-Corazón (ver Anexo II) a medios específicos.

- Catalasa depositar 2 gotas de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 3% (ver Anexo II) sobre una colonia aislada la prueba es positiva si hay burbujeo (gas).

- Citrato inocular por estria y punción hasta el fondo en los tubos que contienen medio de citrato de Simmon (ver anexo II) Incubar a  $37^\circ C$  durante 24 hrs. La prueba es positiva si después de la incubación hay un vire verde a azul, o cuando hay crecimiento sobre el medio.

- Indol se inocularon en tubos con medio SIM (ver anexo II) por punción hasta el fondo, se incubaron a  $37^\circ C$ , durante 24 hrs. Agregar 0.5 ml de reactivo de Kovac (ver anexo II). La prueba se considera positiva cuando el reactivo vira a un color rojo cereza.

- Producción de sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ), los tubos con medio SIM (ver anexo II) se inocularon por punción hasta el fondo, se incubaron a  $37^\circ C$ , durante 24 hrs. La prueba se considera positiva si en el medio aparece un color negro.

- Rojo de Metilo se inocularon por suspensión, tubos con medio

Voges Proskaver - Rojo de Metilo (ver anexo II), se incubaron a 37°C durante 24 hrs. La prueba es positiva si al agregar unas gotas de rojo de metilo, aparece un color rojo; si el color es amarillo, la prueba es negativa.

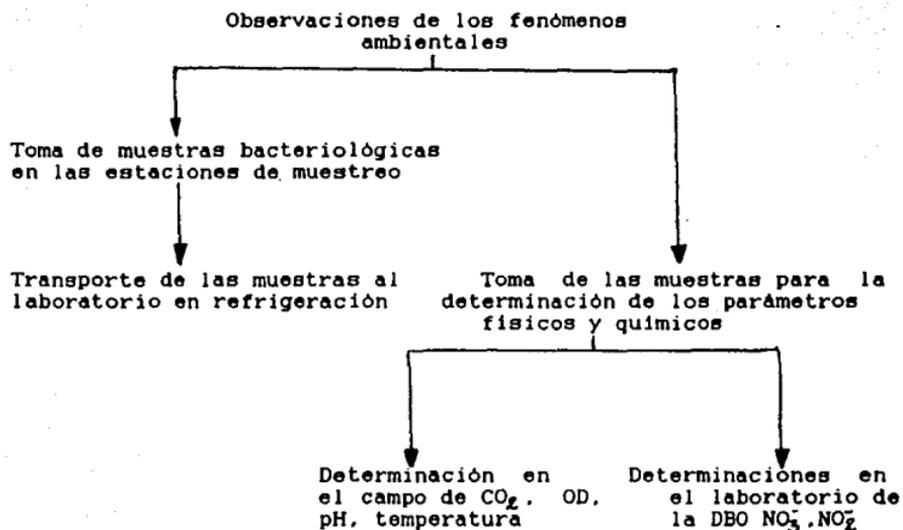
- Urea, se inocularon por suspensión tubos con caldo urea, se incubaron a 37°C durante 24 hrs. La prueba es positiva cuando el medio cambia a rosa intenso.

- Voges-Proskauer: el medio utilizado es el mismo para la prueba del rojo de metilo. Después de la inoculación se agregan al medio cuatro gotas de la solución de hidróxido de potasio (KOH) al 40% y 0.5 ml de solución de alfa-naftol al 5 %. La prueba es positiva cuando aparece un color rojo.

- Relación de nitratos y nitritos: En medios líquidos para la reducción de nitratos (ver anexo II) se siembran dos inoculos del microorganismo aislado y se incubaron en las mismas condiciones que las pruebas anteriores. Después de la inoculación se vierten unas gotas del medio en un vidrio de reloj y se agregan dos gotas de reactivo de Greiss y dos gotas del reactivo de Greiss II (ver anexo II). Los nitritos se valoran al agregar ácido sulfanílico y alfa-naftilamina. La prueba es positiva si se observa un color rosa o rojo intenso.

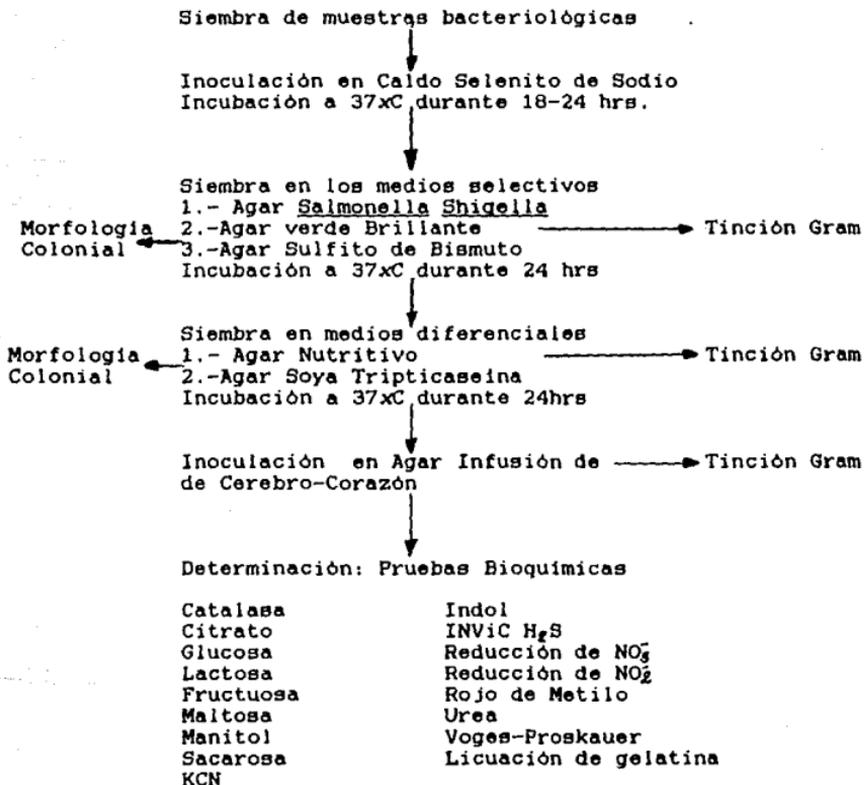
# ESQUEMA 1

## METODOLOGIA DE CAMPO



ESQUEMA 2

Diagrama de aislamiento y determinación de los géneros Salmonella, Shigella y Proteus



## VI. RESULTADOS

Se realizaron 12 muestreos, en las lagunas de estabilización en los cuales el total del número de muestras analizadas durante el estudio bacteriológico fue de 66 para el aislamiento y determinación de los géneros Salmonella, Shigella y Proteus, y la determinación de los parámetros físicos y químicos. El estudio bacteriológico (tablas 1, 2 y 3 y gráficas 1, 2 y 3) y los parámetros físicos y químicos (tablas 5, 6, 7, y 8) se realizaron en dos etapas. En la primera etapa se realizó el estudio de la primera laguna, en la cual se realizaron los cinco primeros muestreos y correspondieron a las estaciones 1, 2a, 2b, 3a, 3b y 4; en la segunda etapa se estudio la segunda laguna, modificandose las estaciones de muestreo. se siguió tomando muestras del afluente, conexión y las estaciones de la segunda laguna fueron 5a, 5b y 6 (fig 1).

Las observaciones ambientales prevaletientes durante los muestreos se pueden observar en la tabla 9. Se encontró que la mayoría de los muestreos se detectó el cielo despejado, solo en tres muestreos (3,7,11) estuvo el cielo nublado, los valores de la temperatura ambiental, no presentaron cambios drásticos, fluctuando entre 16°C y 19°C, lo mismo sucedió con el viento (vientos débiles en su mayor parte), tormenta y lluvia no se detectaron, en cuanto a la niebla sólo se registro en el quinto muestreo y el rocío se detectó en cuatro muestreos (5,7,8,9).

Lo valores de los parámetros físicos y químicos determinados

a lo largo de los doce muestreos (tabla 5). En ella se puede observar que los valores de pH, que no tuvieron gran variación, y en general fueron ligeramente alcalinos en las dos lagunas, excepto en el tercer muestreo, estación 2b de la primera laguna que el pH fue ligeramente ácido (6).

La temperatura del agua registró variaciones estacionales, registrándose la máxima temperatura en el mes de junio y la mínima en el mes de diciembre. Los valores del CO<sub>2</sub> fueron altos en todos los muestreos, teniendo un aumento en la segunda laguna. No se detectó oxígeno disuelto en el agua con el método empleado. La transparencia fue mayor en la segunda laguna que en la primera.

Las concentraciones de los nitritos y los nitratos (tabla 6) fueron bajas, en contraste con las concentraciones de amonio. La demanda bioquímica de oxígeno fue alta en todos los muestreos, aún en el efluente, los sólidos totales y sólidos suspendidos también lo fueron (tabla 7).

En las graficas 1,2,3 y las tablas 1,2,3, se observan los resultados de la frecuencia y la presencia de los géneros Salmonella, Shigella y Proteus en las diferentes estaciones de muestreo.

De las 66 muestras que se analizaron se observó que la aparición de los géneros Salmonella, Shigella y Proteus son bajas en relación a otros microorganismos como Pseudomonas que se determinó en un estudio colateral principalmente.

De estas 66 muestras en las diferentes estaciones de muestreo se aislaron 17 veces Salmonella, 27 veces Shigella y 44 veces Proteus

Estación	<u>Salmonella</u>	<u>Shigella</u>	<u>Proteus</u>
1	4(33.3%)*	6(50%)*	10(83.3%)*
2a	2(40%)	2(40%)	4(80%)
2b	1(20%)	4(80%)	5(100%)
3a	3(60%)	1(20%)	4(80%)
3b	3(60%)	3(60%)	4(80%)
4	4(33.3%)*	5(41.7%)*	9(75%)*
5a	**	3(42.9%)	4(57.1%)
5b	**	2(28.6%)	2(28.6%)
6	**	1(14.3%)	2(28.6%)

\* Se encontraron en estas estaciones durante los 12 muestreos.

\*\* No se detectaron en estas estaciones.

Nota: Los porcentajes se obtuvieron en base a la relación: número de muestreos que se realizaron (100%) por etapa con el número de veces con que aparecieron los microorganismos de los géneros ya citados respectivamente, el porcentaje de las estaciones 1 y 4 fueron el base de los doce muestreos, pues correspondieron a las dos etapas; las estaciones 2a, 2b, 3a y 3b, correspondieron a la primera etapa ( 5 muestreos), y las estaciones 5a, 5b y 6 correspondieron a la segunda etapa (7 muestreos) ver fig 1 tabla 1, 2, 3 y las graficas 1, 2, 3.

Por lo que se observa, el género Salmonella tuvo su mayor frecuencia de aparición en las estaciones 3a y 3b con un número 3 veces (60%) y la menor a las estaciones 2b y 2a con una y dos veces (20% y 40% respectivamente), en las estaciones 5a, 5b y 6 no se aisló. En lo que respecta al género Shigella, la mayor frecuencia de aparición correspondió a las estaciones 2b, 1, 3b, con un número de veces de 4(80%), 6(50%) y 3(60%); y la menor a las estaciones 3a y 6 con una vez (20% y 14.6% respectivamente).

respecto al género Proteus la mayor incidencia correspondio a las estaciones 1,4,2b, con un número de veces de 10(83.3%), 9(75%) y 5(100%) y la menor a las estaciones 5b y 6 con dos veces (28.6%).

En la tabla 4, se presentan las características de las pruebas bioquímicas que se realizaron para determinar los géneros Salmonella, Shigella y Proteus.

Tabla 1. PRESENCIA Y AUSENCIA DEL MICROORGANISMO Salmonella EN LAS DIFERENTES ESTACIONES DE MUESTREO

MUESTREO ESTACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2a	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2b	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3a	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3b	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
5a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = presencia

- = ausencia

Tabla 2. PRESENCIA Y AUSENCIA DEL MICROORGANISMO Shigella EN LAS DIFERENTES ESTACIONES

MUESTRO ESTACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
2a	-	-	-	+	+							
2b	+	+	+	-	+							
3a	-	+	-	-	-							
3b	+	+	-	+	-							
4	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
5a						+	+	-	-	-	+	-
5b						+	-	-	-	-	+	-
6						+	-	-	-	-	-	-

+ = presencia

- = ausencia

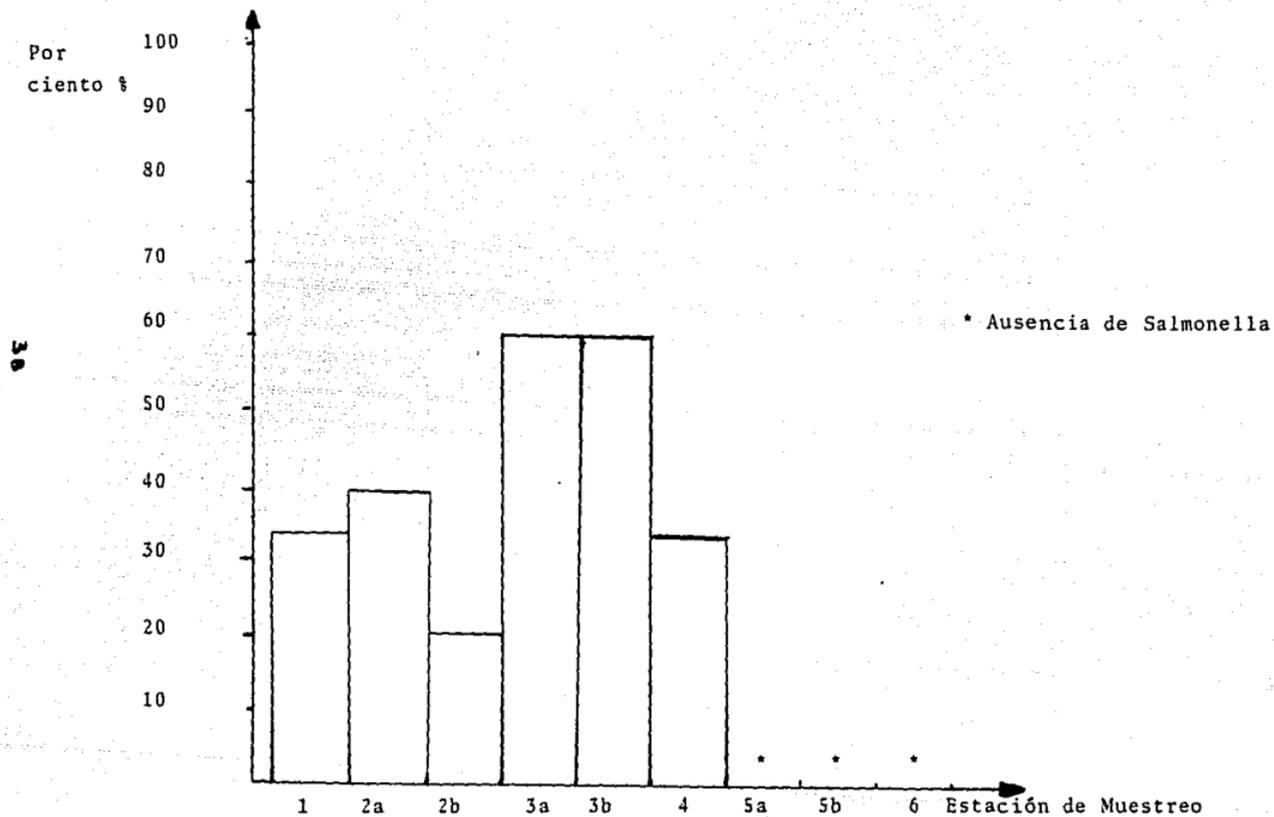
Tabla 3. PRESENCIA Y AUSENCIA DEL MICROORGANISMO Proteus EN LAS DIFERENTES ESTACIONES DE MUESTREO

MUESTREO ESTACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2a	+	-	+	+	+							
2b	+	+	+	+	+							
3a	+	+	-	+	+							
3b	-	+	+	+	+							
4	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
5a						+	+	-	-	+	-	+
5b						+	+	-	-	-	-	-
6						+	+	-	-	-	-	-

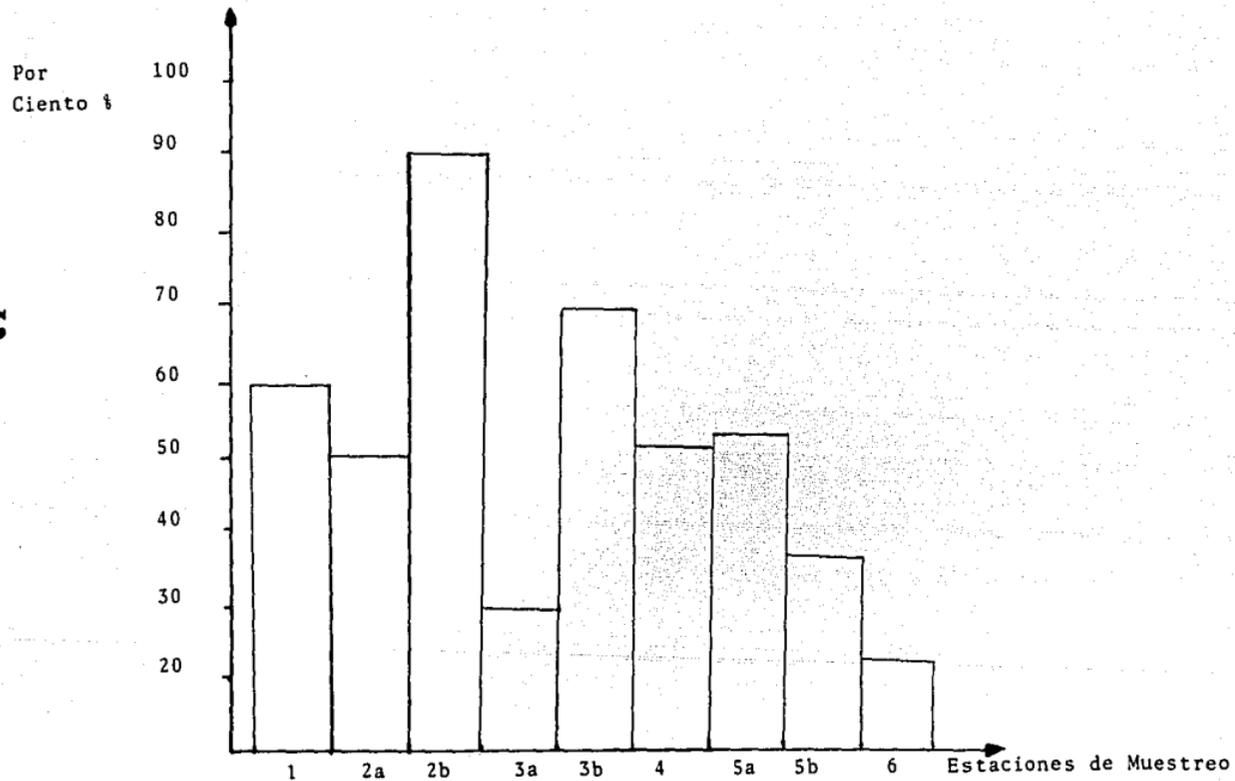
+ = presencia

- = ausencia

Gráfica 1  
Frecuencia de aparición de Salmonella en las estaciones de muestreo



Gráfica 2  
Frecuencia de aparición de Shigella en las estaciones de muestreo



Gráfica 3

Frecuencia de aparición de Proteus en las estaciones de muestreo

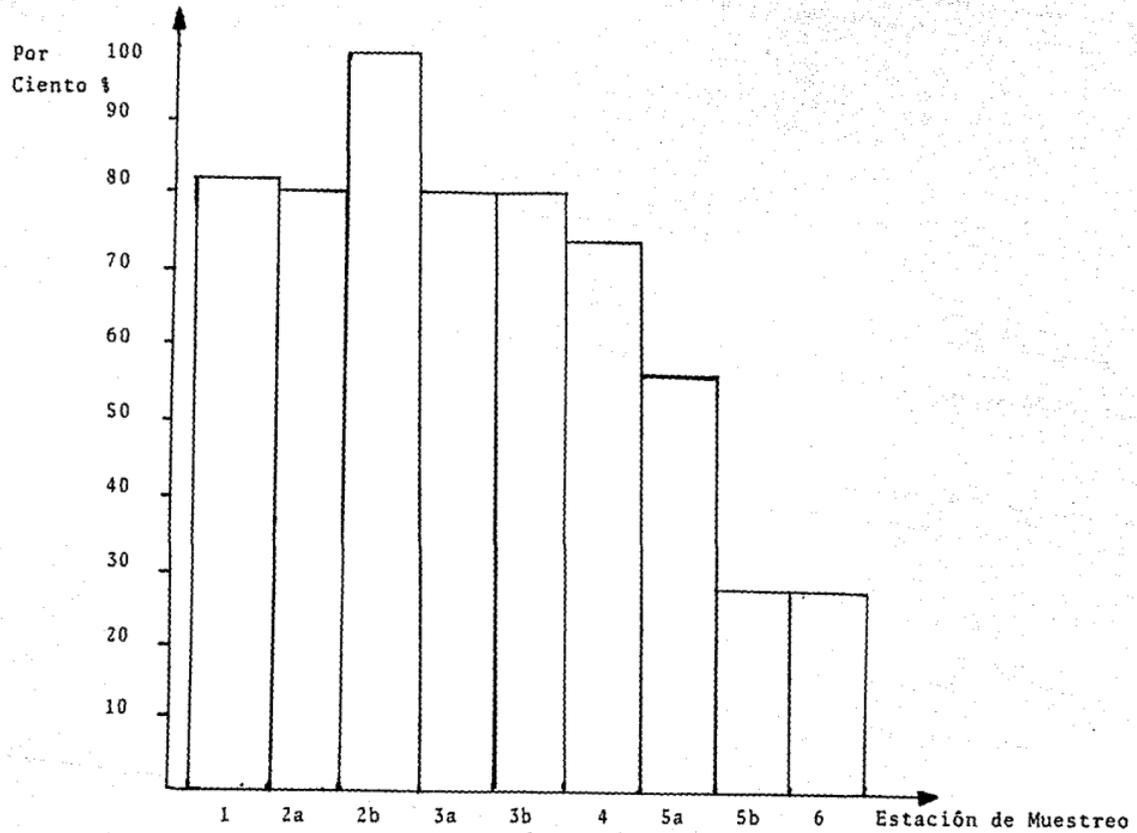


TABLA 4

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LOS GENEROS  
Salmonella, Shigella y Proteus

PRUEBA	TSI H2S	Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Maltosa	Anitol	Fructuosa	Indol	Reduc. de Nitritos	Rojo de Metilo	Urea	Voges Proskaver	Novilidad	Licuaación de Gelatina	KCM	Catalosa
<u>Salmonella</u>	P	P A	N	N	N	P A	N	N	P	P	N	V	P	N	N	V
<u>Shigella</u>	N	P A	N	N	N	N	N	V	P	P	N	N	N	N	N	V
<u>Proteus</u>	P	P A	N	N	N	N	P	N	P	P	V	P	P	P	P	P

NOTA: P= POSITIVA; N= NEGATIVA; V= VARIABLE; A= ACIDO; G= GAS.

Tabla 5. VALORES DE LOS PARAMETROS FISICOS Y QUIMICOS DETERMINADOS EN EL CAMPO

1er. MUESTRO (JUNIO 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 4					
PARAMETRO ESTACION	TEMP. ( C)	pH	O. D. (ppm)	CO (ppm)	TRANSPARENCIA (cm)
1	17	8.0	0	29.04	-
2a	19	7.0	0	47.35	5
2b	19	7.0	0	32.91	-
3a	19	8.0	0	-	5
3b	19	8.0	0	33.88	-
4	18	8.0	0	61.95	-
2o MUESTRO (JUNIO 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 18 cC					
1	19	7.0	0	26.4	-
2a	19	7.0	0	30.8	5
2b	19	7.0	0	20.4	-
3a	19	7.0	0	30.8	3
3b	19	7.0	0	35.2	-
4	19	7.0	0	25.5	-
3er MUESTRO (JULIO 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 19 cC					
1	18	8.0	0	8.8	-
2a	18	7.0	0	15.64	3.5
2b	18	6.0	0	11.44	-
3a	19	7.0	0	17.6	3.5
3b	19	7.0	0	22.0	-
4	18	7.0	0	13.2	-
4o MUESTRO (AGOSTO 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 18 cC					
1	17	8.0	0	11.44	-
2a	17	7.0	0	24.32	3
2b	17	7.0	0	33.44	-
3a	17	7.0	0	30.40	3
3b	17	7.0	0	29.04	-
4	17	7.0	0	27.28	-
5o MUESTRO (AGOSTO 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 4					
1	16	8.0	0	26.40	-
2a	16	7.0	0	24.64	3.5
2b	16	7.0	0	31.68	-
4	16	7.0	0	36.05	-
6	16	8.0	0	36.05	-

Tabla 5. (continuacion) VALORES DE LOS PARAMETROS FISICOS Y QUIMICOS DETERMINADOS EN EL CAMPO

6o MUESTRO (SEPT 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 16 oC					
1	*	9.0	0	*	-
4	*	8.0	0	*	-
5a	*	8.0	0	31.68	4.5
5b	*	8.0	0	59.84	-
6	*	8.0	0	66.88	-
7o MUESTRO (SEPT 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 16 oC					
1	16	7.0	0	26.40	-
4	16	7.0	0	35.20	-
5a	17	6.0	0	44.0	3.5
5b	16	6.0	0	35.20	-
6	16	7.0	0	33.44	-
8o MUESTRO (OCT 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 16 oC					
1	16	*	0	*	-
4	17	*	0	72.16	-
5a	24	*	0	72.16	5
5b	19	*	0	42.24	-
6	15	*	0	35.20	-
9o MUESTRO (OCT 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 16 oC					
1	16	8.0	0	44.00	-
4	16	*	0	70.40	-
5a	14	*	0	48.40	5
5b	16	*	0	44.00	-
6	17	8.0	0	44.00	-
10o MUESTRO (NOV 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 14 oC					
1	14	8.0	0	33.44	-
4	14	8.0	0	88.00	-
5a	14	8.0	0	47.52	5
5b	14	8.0	0	49.88	-
6	16	8.0	0	79.20	-
11o MUESTRO (NOV 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 8 oC					
1	14	9.0	0	52.80	-
4	12	8.0	0	79.20	-
5a	12	8.0	0	80.00	5
5b	12	8.0	0	86.00	-
6	12	7.0	0	88.00	-
12o MUESTRO (DIC 81). TEMPERATURA AMBIENTE: 10 oC					
1	14	8.0	0	58.88	-
4	10	7.0	0	35.20	-
5a	12	8.0	0	63.36	5
5b	11	8.0	0	61.60	-
6	10	8.0	0	36.96	-

\* NO SE DETERMINO

Tabla 6. VALORES MINIMO, MAXIMO Y PROMEDIO DE  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$ .

Estacion de Muestreo	NITRATOS (mg/l)			NITRITOS (mg/l)		
	Valor minimo	Valor maximo	Promedio	Valor minimo	Valor maximo	Promedio
1	0.05	2.44	0.604	0.46	0.56	0.523
2a	0	1.00	0.307	0.33	0.73	0.497
2b	0.12	1.60	0.526	0.30	0.83	0.564
5a	0.10	1.55	0.713	0.067	0.12	0.093
5b	0.13	0.76	0.480	0.57	0.97	0.745
6	0.10	1.68	0.535	0.28	0.70	0.477

Tabla 7. VALORES PROMEDIO DE GASTO. SOLIDOS TOTALES  
SOLIDOS SUSPENDIDOS.

Parametro Estacion	Gasto (l/seg)	Solidos totales (mg/l)	Solidos suspendidos (mg/l)
1	0.85	1174.5	383.5
4	-	984.5	281.5
6	0.625	895.0	275.0

Tabla 8. VALORES PROMEDIO MINIMO Y MAXIMO DE LA DBO5

Estacion de muestreo	Valor minimo (ppm)	Valor maximo (ppm)	Promedio
1 (afluente)	245.0	583.0	397.0
6 (efluente)	60.0	288.0	181.4

Tabla 9. CARACTERISTICAS AMBIENTALES DURANTE EL MUESTREO

Muestras Climatologicas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Temperatura ambiental	20 C	18 C	19 C	18 C	18 C	19 C	16 C	18.5 C	16 C	14 C	8 C	10 C
Lluvia	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Tormenta	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Viento												
Baja Temperatura	*	*	*	*		*	*	*	*	*	*	*
Condensacion	*	*	*	*		*				*	*	*
Visibilidad												

cielo despejado ○  
 cielo medio nublado ◐  
 cielo nublado ●

vientos debiles   
 vientos moderados   
 vientos fuertes 

niebla   
 rocío 

\* NO SE DETERMINO

## VII. DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio se registrarón los resultados y la determinación de los géneros Salmonella y Shigella, como se especifica en el título y los objetivos de este estudio; pero además se determinó la presencia del género Proteus, pues en el empleo de los medios selectivos (ver anexo II) para la determinación de los géneros antes mencionados, se encontró Proteus, es decir estos medios permitieron el desarrollo de estos microorganismos (tabla 3), por lo cual se tomo en cuenta su presencia a partir de la metodología de laboratorio (esquema 2) y se reportó su presencia durante los doce muestreos.

Como se observa los valores de  $DBO_5$  (tabla 8) son muy altos, porque esto es la carga orgánica que entró por hectárea por día era muy elevada. Esto se debió, a que además de las descargas del drenaje doméstico, la laguna recibía desechos de matanza de animales y queserías. Y había una gran cantidad de animales que entraban a pastar (vacas, caballos y borregos), que dejaban en la periferia de las lagunas sus excretas, y por medio del viento (la mayoría de las ocasiones) y la lluvia (con menor frecuencia), algunas de ellas se incorporaban al agua de las lagunas. Aunado a esto se observaron prácticamente en todos los muestreos, restos de animales muertos (ratas) flotando en el agua. Este hecho implicaba que no se detectara oxígeno disponible para llevar a cabo la mayoría de las reacciones de degradación, de las sustancias orgánicas por medio de los microorganismos aerobios.

Pero existió una aportación de oxígeno por la acción del viento que en la mayoría de los muestreos fue débil (tabla 9) pero representó una fuente principal pues inmediatamente fue utilizado por los microorganismos, ayudo también al arrastre de algunos sólidos suspendidos y a la mezcla del agua.

Debido a la escasez de oxígeno disuelto y la alta carga de materia orgánica, se observó que las concentraciones de bióxido de carbono ( $CO_2$ ), fueron muy altas (tabla 5), aumentando en los meses de octubre, noviembre y diciembre (muestreos 8,10,11,12) pues disminuye el período de luz diurna, por lo tanto también el crecimiento de algas, las concentraciones aumentaron en la segunda laguna. Esto es a que en el  $CO_2$ , que se produce en la descomposición de la materia orgánica no es utilizado apreciablemente por las algas, las cuales por la gran cantidad de esta y por la poca penetración de la luz solar, no se desarrollaron en gran proporción durante la realización de este estudio, aunque en los últimos muestreos empezaron a aparecer en forma importante. El hecho de no haber una degradación completa de la materia orgánica, implica que el tiempo de retención para la cual fue diseñado la laguna no era suficiente.

La materia orgánica que no pudo ser degradada, permaneció en forma de sólidos suspendidos y sedimentables en altas concentraciones (tabla 7), esto impidió la penetración de la luz, por lo que la transparencia fue mínima, aumentando un poco (5 cm) en los últimos muestreos, en las segunda lagunas (tabla 6). La luz ultravioleta (Carpenter, 1979) es un factor que contribuye a la destrucción bacteriana, pero de importancia secundaria (Standar Methods, 1980), durante la mayoría de los muestreos se

registraron días luminosos y soleados, es decir, existió buena visibilidad (tabla 6), durante los días del verano la exposición solar es mayor, que durante las estaciones de otoño e invierno.

La temperatura es de gran importancia, porque afecta a la velocidad de la degradación bioquímica de la materia orgánica, pues las bacterias son muy sensibles al calor, las bacterias patógenas de este estudio requieren una temperatura de 37°C que es la temperatura del hospedero como se muestra en la tabla 6 la temperatura osciló entre los 19°C y 10°C (verano e invierno), esto no es un factor que pueda inhibir la presencia de estos microorganismos pues son mesófilos, esto quiere decir que se desarrollan entre el intervalo de temperatura 10°C a 40°C. Por lo general las bacterias sobreviven más tiempo a temperaturas bajas, pero estas temperaturas no permiten el desarrollo rápido y tienden a conservar bajo el número de bacterias.

Los valores de pH, durante los muestreos variaron entre 7 y 8, lo cual no fue un impedimento para que se desarrollaran los microorganismos de Salmonella, Shigella y Proteus. Estas bacterias patógenas intestinales toleran cierta acidez y alcalinidad que otros parásitos, su pH se acerca a la neutralidad o es algo menor incluso en el tercer muestreo se registró un pH 6 (acidez) en la estación 2b, y ahí se detectó la presencia de los géneros Shigella y Proteus (tablas 2,3,6), siendo que Shigella es sensible al pH ácido (Finegol, Scott, 1978; Bailey, 1976).

La ausencia de oxígeno disuelto en las lagunas de estabilización no fue una limitante para la presencia de estos microorganismos, Salmonella, Shigella y Proteus, porque son

aerobios pero en ausencia de oxígeno se comportan como anaerobios facultativos (Bailey, 1974; Buchanan, 1974; Jawtz, 1979; Pumarola, 1984). pueden utilizar a los  $\text{NO}_3^-$  como aceptores de electrones en la oxidación de sustratos orgánicos, formando como producto final  $\text{NO}_2^-$  compuesto accesible para otros microorganismos.

La concentración promedio de  $\text{NO}_2^-$ , en general fue ligeramente menor que la de  $\text{NO}_3^-$ , a excepción de la 1.5a y 6 donde se observó un ligero aumento en los valores promedio (tabla 7).

Estas concentraciones bajas probablemente se debieron, al que no encontrarse  $\text{O}_2$  disuelto los microorganismos utilicen compuestos que contengan en su molécula  $\text{O}_2$ , y estos son  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  como aceptores de electrones, utilizando el  $\text{O}_2$  de su molécula para realizar sus reacciones.

La alta concentración de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{DBO}_5$ , la ausencia de  $\text{O}_2$  disuelto, las concentraciones de  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ , pH, temperatura, los sólidos disueltos y suspendidos, los vientos débiles, es decir las condiciones físico y químicas, prevalecientes en las lagunas dio como consecuencia que la primera laguna trabajara anaerobicamente y la segunda laguna como anaerobia facultativa. Estas condiciones que prevalecieron en las lagunas no fueron impedimento para que los microorganismos de los géneros Salmonella, Shigella y Proteus estuvieron presentes, esto es comprensible tomando en cuenta que estos microorganismos son, aerobios y anaerobios facultativos, son mesófilos, quimiorganotrofos, producen acidez de la fermentación, normalmente son anaerogénicos, utilizan la materia orgánica como fuente de carbono, son fuentes adecuadas de nitrógeno y carbono.

Los géneros Salmonella y Proteus producen  $H_2S$ . Proteus hidroliza la urea (Buchana,1974; Burrow,1976; Jawets, 1979, Bailey,1974;Mac Fadin, 1976).

Además de los factores físicos y químicos, se deben considerar los factores biológicos, pues también afectan a los microorganismos. Dentro de los factores biológicos esta la depredación y competencia de nutrientes.

Al observar las tablas 1 y 2, donde se registró la aparición de los microorganismos de Salmonella y Shigella, encontramos que: En el caso de Salmonella se encontró con cierta frecuencia durante la primera etapa del estudio; en cambio en la segunda etapa casi es nula su presencia, especialmente no se detectó en el efluente. Los microorganismos de Shigella, se encontraron con mayor frecuencia en la primera etapa (esquema 1 y laguna 1), disminuyendo un poco en la segunda etapa (laguna 2), disminuyendo grandemente en en el efuente. La mayor incidencia de aparición de los microorganismos de Salmonella y Shigella, fue en las estaciones 1,2a,2b,3a y 4, esto es comprensible, porque se encontró la mayor cantidad de materia orgánica. En cambio los microorganismos del género Proteus, se encontraron en forma constante en la mayoría de las estaciones de muestreo disminuyendo su presencia en el efluente (tabla 3), durante las dos etapas que comprendio este estudio, y las condiciones físicas, químicas y biológicas prevalecientes en las lagunas no lo afectaron significativamente.

La interpretación de la disminución y eliminación de Salmonella y Shigella y en menor proporción Proteus, es la

intervención del factor biológico como la depredación y la competencia por nutrientes. Los principales depredadores de las bacterias son los protozoarios debido a que se alimentan de ellas, y los virus los cuales por lisis las destruyen, particularmente a las bacterias de las tifoideas y disenterias. Otro factor es el crecimiento y multiplicación más rápido de otros microorganismos como Pseudomonas que se adaptó a las condiciones ambientales y sustratos orgánicos ( se determinó en un estudio colateral). Este microorganismo se presentó desde el medio de enriquecimiento (caldo selenito de sodio), hasta los medios selectivos (Agar Verde Brillante y Agar Salmonella Shigella). (Diagrama 2) primero disminuyendo y posteriormente eliminando la presencia de Salmonella Shigella. En las gráficas (1, 2) se observa la decreción y desaparición de estos géneros. (Stand Methods, 1974; Rheinheiner, 1976; Khurshed, et al., 1976. Slijkhuis, et al., 1976; Gloyna, 1976). Estos procesos biológicos están controlados esencialmente por el tiempo de retención y temperatura.

## VIII. CONCLUSIONES

1. La metodología utilizada en este estudio fue adecuada para aislar y determinar los microorganismos de los géneros Salmonella, Shigella. El género Proteus se presentó en el aislamiento y se tomó en cuenta porque son organismos parásitos ocasionales en el hombre y además son saprofiticos.
2. Los parámetros físicos y químicos prevalecientes no fueron impedimento para la incidencia y desarrollo de estos microorganismos.
3. Las altas concentraciones de materia orgánica permitieron el crecimiento y desarrollo de estos géneros (Salmonella, Shigella y Proteus) pues son microorganismos quimiorganotrofos, que necesitan fuentes adecuadas de carbono y nitrógeno.
4. El tiempo de retención que prevaleció en las lagunas, permitió la eliminación de los microorganismos de los géneros Salmonella y Shigella por medio de los factores biológicos (depredación y competencia de nutrientes), pero no fue suficiente para permitir la mineralización completa de la materia orgánica.
5. La ausencia de los microorganismos de los géneros Salmonella

y Shigella en el efluente es importante, porque son organismos patógenos, y el agua que sale del efluente es utilizada en la agricultura.

6. Durante el presente estudio, las lagunas de estabilización trabajaron de forma predominantemente anaerobia.

## IX. SUGERENCIAS

1. Para que las lagunas de estabilización trabajen de forma facultativa.
  - a) Aumentar el tiempo de retención del agua para lograr una rápida y eficiente eliminación de microorganismos patógenos. Transformando estas lagunas, en lagunas en paralelo.
  - b) Agregar a esta lagunas una tercera de maduración, para recibir esas aguas y lograr una eficiente eliminación de los microorganismos patógenos, y que el uso de estas aguas sea más confiable para la agricultura.
  - c) Conservar las estaciones de muestreo con la finalidad de obtener estudios comparativos.
  - d) En los estudios posteriores darle importancia a los factores biológicos en las lagunas de estabilización.
  - e) Que en las lagunas exista algún tipo de personal para su mantenimiento y así evitar la proliferación de hierbas, entrada y defecación de animales.
  
2. Para la determinación de los microorganismos de los géneros Salmonella y Shigella, utilizar medios más (Caldo y Agar) enriquecidos para evitar la presencia de otros microorganismos.

## ANEXO I

### Abreviaturas y simbolos

Simbolo	Descripción
- p.p.m.	Partes por millón
- mg	Miligramos
- l	Litros
- T	Temperatura
- DBO5	Demanda bioquímica de oxígeno al quinto día
- xC	Grados centigrados o grados Celcius
- CO	Dióxido de carbono
- OD	Oxígeno disuelto
- pH	Potencial de hidrógeno
- NO	Nitritos
- NO	Nitratos
- m	Metro(s)
- cm	Centimetro(s)
- g	Gramos
- Ha	Hectarea
- hrs	Horas
- lb	libras
- m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
- ml	Mililitros
- min.	Minutos
- HCl	Acido Clorhidrico
- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Acido Sulfurico
- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de oxígeno
- H <sub>2</sub> S	Sulfito de hidrógeno

ANEXO II

2. MEDIOS DE CULTIVO, COLORANTES Y SOLUCIONES

2.1 MEDIOS DE CULTIVO

a) Agar Citrato de Simmons

Fosfato Dihidrogenado de Amonio	1.0 g
Fosfato Dipotásico	1.0 g
Cloruro de Sodio	5.0 g
Citrato de Sodio	2.0 g
Sulfato de Magnesio	0.20 g
Agar	15.0 g
Azul de Bromotimol	0.08 g
Agua Destilada	1000.0 ml

Se esteriliza a 15 lbs de presión durante 15 min. pH final 6.9 +- 0.2

b) Agar Infusión Cerebro Corazón

Infusión de Cerebro de Ternera	200.0 g
Infusión de Corazón de Res	250.0 g
Mezcla de Peptonas	10.0 g
Dextrosa	2.0 g
Cloruro de Sodio	5.0 g
Fosfato disódico	2.5 g
Agua destilada	1000.0 ml

Se esteriliza a 15 lbs de presión durante 15 min. pH final 7.2 +- 0.2

c) Agar Kligler de Hierro

Polipeptona	20.0 g
Lactosa	10.0 g
Dextrosa	1.0 g
Cloruro de Sodio	5.0 g
Citrato Ferroso de Amonio	0.5 g
Tiosulfato de sodio	0.5 g
Agar	15.0 g
Rojo Fenol	0.025 g
Agua destilada	1000.0 ml

d) Agar Nutritivo

Peptona de Gelatina	5.0 g
Extracto de carne de res	3.0 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

Esterilizar a 15 lbs de presión durante 15 min. pH final 6.8 +- 0.2

e) Agar Salmonella Shigella

Extracto de carne	3.0 g
Mezcla de peptonas	10.0 g
Lactosa	10.0 g
Mezcla de sales biliares	8.5 g
Citrato de Sodio	8.5 g
Tiosulfato de Sodio	8.5 g
Citrato ferrico	1.0 g
Agar	13.5 g
Rojo neutro	0.025 g
Verde brillante	0.330 g
Agua destilada	1000.0 ml
El medio no se esteriliza	

f) Agar SIM

Peptona decaseina	20.0 g
Peptona de carne	6.1 g
Sulfato ferroso de Amonio	0.2 g
Tiosulfato de Sodio	0.2 g
Agar	3.5 g
Agua destilada	1000.0 ml
Esterilizar a 15 lbs de presión durante 15 min. pH final 7.3 +- 0.2	

g) Agar Soya Tripticasa

Peptona de Caseina	15.0 g
Peptona de Soya	5.0 g
Cloruro de Sodio	5.0 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH final 7.3 + 0.1 Esterilizar a 15 lbs de presión durante 15 minutos.	

h) Agar TSI (Agar Triple Azúcar de Hierro)

Peptona	20.0 g
Sodio U.	5.0 g
Lactosa	10.0 g
Sacarosa	10.0 g
Destrosa	0.2 g
Sulfato de Amonio Ferrico	0.2 g
Tiosulfato de Sodio	0.2 g
Rojo de Fenol	0.025 g
Agar	13.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH final 7.2 +- 0.2 Esterilizar a 12 lbs de presión durante 15 minutos	

i) Agar Sulfato de Bismuto

Mazca de peptonas	10.0 g
Extracto de carne	5.0 g
Dextrosa	5.0 g
Fosfato disódico	4.0 g
Sulfato Terroso	0.3 g
Indicador de Sulfato de Bismuto	8.0 g

Verde brillante	0.025 g
Agar	20.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH final 7.5	
Esterilizar a 15 lbs de presión durante 15 minutos	
j) Agar Verde Brillante	
Extracto de carne	3.0 g
Mezcla de peptonas	10.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Lactosa	10.0 g
Sacarosa	10.0 g
Rojo fenol	0.08 mg
Agar	20.0 g
Verde brillante	12.5 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH final 6.9 +- 0.2	
Esterilizar a 15 lbs de presión durante 15 minutos	
k) Base de Caldo Rojo Fenol	
Peptona de caseína	10.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Rojo de fenol	0.018 mg
Agua destilada	1000.0 ml
pH final 7.4	
Esterilizar a 10 lbs de presión, durante 10 minutos	
l) Caldo Selenito de Sodio	
Selenito ácido de sodio	4.0 g
Mezcla de peptonas	5.0 g
Lactosa	4.0 g
Fosfato de sodio	10.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH final 7.0 +- 0.2	
Este medio no se esteriliza	
m) Caldo Urea	
Urea	20.0 g
Fosfato monopotásico	9.1 g
Fosfato de sodio	9.5 g
Extracto de levadura	0.1 g
Rojo de fenol	0.1 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH final 7.0 0.2	
n) Extracto de Carne	
Contenido neto	90.0 g
Humedad	4.0 %
Trasmitancia	18.0 %
Malla	98.0 %
Pasa malla	No.60
o) Gelatina al 7%	
Líquido triglicolato	1.32 g
Gelatina para microbiología	3.15 g

Agua destilada 1000.0 ml  
Esterilizar a 15 lbs de presión, durante 15 minutos

p) Medio Líquido Tioglicolato

Tripticosa peptona 15.0 g  
Cistina 0.5 g  
Dextrosa 5.0 g  
Extracto de carne 2.5 g  
Cloruro de sodio 0.5 g  
Tioglicolato de sodio 0.001 g  
Agar 0.75 g  
Agua destilada 1000.0 ml  
pH final 7.1 +- 0.1  
Esterilizar a 15 lbs de presión durante 15 minutos

q) Rojo de Metilo

Peptona especial 7.0 g  
D(+)-Glucosa 5.0 g  
di-Fosfato dihidrogenado de potasio 5.0 g  
Agua destilada 1000.0 ml  
pH final 6.9  
Esterilizar a 15 lbs de presión durante 15 minutos

## 2.2 COLORANTES

A. GRAM (Bailey, 1976)

1. Alcohol-Cetona

Alcohol etílico al 95% 10.0 ml  
Cetona 10.0 ml

2. Cristal violeta

Cristal violeta (90% contenido seco) 2.0 g  
Alcohol etílico (95%) 20.0 ml  
Oxalato de amonio mohidratado 0.8 g  
Agua destilada 80.0 ml

Se mezclan las soluciones y se dejan reposar por 24 h antes de usarse, se filtra a través de un frasco ambar

3. Lugol

Cristal de yodo (I) 1.0 g  
Yoduro de potasio (KI) 2.0 g  
Agua destilada 300.0 ml

4. Safranina

Safranina 2.5 g  
Alcohol etílico 95% 100.0 ml  
Agua destilada (H<sub>2</sub>O) 100.0 ml

Adicionar 10 ml de la solución alcohólica de safranina a 100 ml de agua destilada.

## 2.3 SOLUCIONES.

### A. Pruebas bioquímicas

1. Fenol 5%  
Fenol 5.0 g  
Agua destilada 100.0 ml
2. Reactivo de Kovac  
Amylico puro o alcohol 150-amilico  
(puede ser sustituido por alcohol  
butilico) 150.0 ml  
  
P-dimetilaminobenzaldehido 10.0 g  
Acido clorhidrico concentrado(HCl) 50.0 ml
3. Rojo de Metilo  
Rojo de metilo 0.1 g  
Alcohol 95% 300.0 ml  
Agua destilada 500.0 ml
4. Hidróxido de Potasio 40%  
Potasio (K) 40.0 g  
Agua destilada 1000.0 ml
5. Reactivos para Nitritos
  - a) Griss I  
Acido sulfanilico 0.5 g  
Acido acético 30% 50.0 ml  
Calentar y añadir 150 ml de ácido acético al 30%
  - b) Griss II  
Naftil-Amina 0.5 ml  
Agua destilada 50.0 ml  
Calentar y añadir 150 ml de ácido acético al 30%
6. Peróxido de Hidrógeno(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 30%  
Peróxido dehidrógeno 3.0 ml  
Agua destilada 97.0 ml

### B. SOLUCIONES FISICAS Y QUIMICAS. (APHA-AWWA-WPCP, 1980)

1. Solución de Sulfato Manganoso  
MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 480.0 g  
MnSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 400.0 g  
MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 364.0 g  
Agua destilada 1000.0 ml
2. Reactivo de Alkali-Ioduro-Azida  
NaOH (o KOH, 700 g) 500.0 g  
NaI (o KI, 150 g) 135.0 g  
Agua destilada 1000.0 ml

3. Acido Sulfúrico concentrado 36N
4. Solución de Tiosulfato de Sodio (0.027N)  
 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  6.205 g  
 Tiosulfato (0.019N)  
 Agua destilada 1000.0 ml
5. Solución de almidón  
 Almidón 5.0 g  
 Cloroformo 5.0 g  
 Agua destilada 800.0 ml
6. Dióxido de Carbono  
 Solución de hidróxido de sodio (0.0227N)  
 Hidróxido de sodio 40.0 g  
 Agua destilada 800.0 ml
7. Fenolftaleína

C. DETERMINACION DE NITRATOS ( $\text{NO}_3^-$ ). METODO DE LA BRUCINA

1. Solución madre de nitratos 74.8 mg  
 Nitrato de potasio 74.8 mg  
 Agua destilada 1000.0 ml
2. Solución patrón de nitratos  
 Diluir 10 ml de la solución madre de nitratos a 1000 ml con agua destilada.  
 Se prepara inmediatamente antes de usarse.
3. Solución de Arsenito de Sodio  
 ( $\text{NaAsO}$ ) Arsenito de Sodio 5.0 g  
 Agua destilada 1000.0 ml
4. Solución de Brucina-Acido Sulfanílico  
 Sulfato de brucina 1.0 g  
 Acido sulfanílico 0.1 g  
 Disolver los reativos anteriores en 20 ml de agua destilada caliente. Añadir 3 ml de ácido clorhídrico concentrado enfriar y diluir a 100.0 ml
5. Solución de Acido Sulfúrico  
 Acido sulfúrico concentrado 500.0 ml  
 Agua destilada 125.0 ml
6. Solución de Cloruro de Sodio  
 Cloruro de Sodio ( $\text{NaCl}$ ) 300.0 g  
 Agua destilada 1000.0 ml

#### D. DETERMINACION DE NITRITOS ( $\text{NO}_2^-$ )

1. Reactivo de Sulfamida  
Disolver 5 g de sulfamida en una mezcla de 50 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl), y 300 ml de agua destilada. Diluir a 500 ml con agua destilada.
2. Solución de Clorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina  
Disolver 500 mg del clorhidrato en 500 ml de agua destilada
3. Acido Clorhídrico 1:3  
Acido Clorhídrico (HCl) 100.0 ml  
Agua destilada ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 300.0 ml
4. Solución madre de Nitritos  
Solución patrón de  $\text{KMnO}_4$  0.05 N  
 $\text{KMnO}_4$  1.6 g  
Agua destilada 1000.0 ml

#### E. DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO

1. Solución amortiguadora de fosfatos  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  8.5 g  
 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  21.75 g  
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot (7\text{H}_2\text{O})$  33.4 g  
 $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.7 g  
Agua destilada 500.0 ml
2. Solución de Sulfato de Magnesio  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  22.5 g  
Agua destilada 1000.0 ml
3. Solución de Cloruro de Calcio  
 $\text{CaCl}_2$  27.5 g  
Agua destilada 1000.0 ml
4. Solución Ferrica  
 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.25 g  
0.25 g  
Agua destilada 1000.0 ml

## X. BIBLIOGRAFIA

- Bailey, W.R and Scott, E.G. 1974. Diagnostic Microbiology. 4th Ed., The C.V. Mosby Company, Saint Louis.
- Brandy, R.D and Houton, L.L. 1973. Some Properties of Catalytic activities of Irnidazolglyurol phosphate dehydratohistidinal Phosphate, a Bifunctional Enzyme from Salmonella typhimurium. Journal Biological Chemistry. 248 (7): 2588-2592
- Brok, T.D. 1978. Microbiologia de los Microorganismos. 2a Ed. Edit. Omega, S.A. Barcelona. España.
- Buchanan, R.E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Ed. The Williams and Wilking Company, Baltimore, USA.
- Burrow, W. 1976. Tratado de Microbiologia. 20a. Ed. Interamericana México.
- Carpenter, L.P. 1979. Microbiologia. 4a Ed. Interamericana. México.
- Carpenter, K.P., Lapage, S.P., Late K.J., Steel. 1980. Biochemical Identification of Enterobacteriaceae. Central Public Health Laboratory, Colindale, London, N.W.9, England.
- Davis, D., Ginsberg, E. 1976. Tratado de Microbiologia. Ed. Salvat, S.A. Barcelona, España.
- Dodakundi, G.B and Rodgi, S.S. 1975. Waste stabilization ponds: a review. J. Karnatak Univ. Sci. 20:191-217.
- Fair, G., Okum. 1979. Purificación de aguas y tratamiento y remoción de aguas residuales. 3a Ed. Limusa: México.
- Finegold, S.M., Martin, W.J., Scott, E.G. 1978. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 5a Ed. C.V. Mosby Co. USA.
- Gibbs, R.M. 1978. Identification Methods for Microbiology. The society for Applied Bacteriology Technical Series No.1 USA.
- Gloyna, E.F. 1973. Estanques de Estabilización de Aguas Residuales Organización Mundial de la Salud Ginebra. Serie de Monografías.
- Gloyna, E.F. 1976. Waste Stabilization Ponds. 1st Ed. World Health Organization, Geneva, Swtserlan.
- Guinea, J; et al. 1979. Análisis Microbiológicos, aspectos aplicados. Ed. Omega S.A; Barcelona, España.
- Harvey, R.W.S., Prince, T.H. 1979. Principles of Salmonella Isolation

- Journal of Applied Bacteriology.46.27-56.
- Hillebor, H.E.1976. Manual de tratamiento de aguas negras.5a Ed. Limusa. México.
- Jawtz, E.,Melnick,L.J., Adelberg, A.E.1979. Microbiología Médica. 6a. Ed. El Manual Moderno.: México.
- Limón Macías, J.G.1979.Microbiología de Lagunas de Estabilización SARH.México.
- Mac Faddin, J.1980. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria 2nd. Ed.,Williams and Wilkins, Baltiore.
- Manual del curso.Análisis de Aguas y Aguas de Desecho. vol II. 1964. 4a. Ed.SARH. México.
- Manual de Diseño de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales.1977.Dirección General de Usos del Agua y Prevención de la Contaminación.SARH.México.
- Manual de Medios de Cultivo.1975. Bioxon, México.
- Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos BBL. 1974. 5a. Ed. Becton Dickinson de México S.A de C.V.
- Manual del curso. Técnicas de Muestreo y Análisis de Campo. 1978. Subsecretaría de Planeación de Usos de Aguas y Prevención de la Contaminación. SARH. V-I y V-II. México.
- Marzook, Y., Goyal, M.S., Gerba, P.C.1980. Relationship of Viruses and Indicator Bacteria in Water and Wastewater of Israel. Water Reseach.14. 1585-1590.
- Monitoreo de la calidad del agua de los canales de Xochimilco. 1980.Dirección General de Construcción y Operación Hidráulica.SARH.México.
- Norris, J.R., Ribbrom,D.W.1974. Methods in Microbiology.2a Ed. Academic Press London,England.
- Peleazar, M.J., Reid, R.D., Cham, E.C.S.1981. Microbiología. 4a Ed.Mac Graw Hill. España.
- Pikes, E.B.1973 Aerobic Bacteria in Ecological Aspects of used water tratament.Ed. for Curds, C.P.
- Procesos Bacteriológicos creados por la naturaleza contra la contaminación.1987.te bac. México. técnicas Bacteriológicas. Instituto Nacional de Investigaciones forestales. Centro de documentación Científica y Tecnológica.SARH.México.
- Protección y Mejoramiento de la calidad del Agua.SARH.1977.

- Pumarola, A., Rodriguez-Torres,A., Garcia Rodriguez,J.A., Piedrola,G.1984. 2a Ed. Salvat Editores.Barcelona España.
- Rheinheimer, G.1980. Aquatic Microbiology. University Park Press Baltimore Butterworth, London.
- Schwoerbel, J.1975. Metodos de Microbiologia.1a. Ed. Ediciones.H. Blume. Madrid.España.
- Slijkhuis, H., Betzer.N. Kott.Y.1976. Suvervial of Shigella flexnneri in an experimental oxidation ponds. Scientific Meeting in Israel and Abroad.12(7).
- Standard Methods fo The Examination of water and wastewater.1980. 15th Ed.APHA,AWWA,APCP,USA.
- Stolle, A.1980. Spreading of Salmonella during cattle slaughtering Applied Bacteriology.50,239-245.
- Vassiliadis, P., Trichopoulos,D., Kalandid,A., Xirouchaki.E. 1978. Islation of Salmonella fron sewage with a New Procedure of Enrichament.Appl. Bacteriology.44:233-239.
- Vdales Albarran.1979. Plantas de Tratamiento de Aguas Negras. Normas de Proyecto para Diseño.SARH.México.
- Walter, G.W., Mc Bee,H.R.1976. Microbiologia General.3a. Ed. Continental.C.E.C.S.A. México.
- Watson, D.C.1978.A Modification of Brilliant Green Agar for Improved Islation of Salmonella. Journal of Applied Bacteriology.45.195-204.
- Weaver, R.W., Clinton,N.A., Hidalgo,R.J.1981. Trasmission of Salmonella typhimurium among feedlot cattle after oral inoculation. Journal of Applied Bacteriology.50:149-155.
- Wiley, J.1979. Biological Indicadores of Water Quality. Ed.Wiley Inteercience Publication Grant Britain.
- Welber, G.C.1971. The biological aspects of water pollution. Second Priting. Publisher. Charlie C. Thomas. Florida. USA.