

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

***Clostridium perfringens* COMO INDICADOR
MICROBIOLÓGICO EN AGUAS RESIDUALES**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN
RECURSOS NATURALES**

PRESENTA

NORMA PATRICIA ADAN BANTE

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	i
ÍNDICE GENERAL.....	ii
ÍNDICE DE TABLAS, CUADROS Y FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	vi
I. INTRODUCCIÓN	
1.1 Antecedentes	1
1.2 Planteamiento del problema	4
1.3 Justificación	5
1.4 Objetivo	5
1.5 Hipótesis.....	6
II. FUNDAMENTACIÓN	
2.1 Agua residual municipal	7
2.1.1 Importancia de la regeneración de agua residual	7
2.1.2 Uso actual del agua residual municipal	9
2.1.2.1 Reuso en la agricultura	9
2.1.2.2 Riego de zona verde	10
2.1.2.3 Acuicultura	10
2.1.3 Posibilidades de ampliar el uso del agua residual.....	12
2.1.4 Generación de aguas residuales en universidades.....	12
2.1.5 Composición del agua residual	13
2.1.6 Características de las aguas residuales domésticas.....	13
2.1.7 Riesgos en la salud por el uso de aguas residuales domésticas	16
2.2 Calidad del agua residual doméstica	17
2.2.1 Guía de calidad del agua residual.....	17
2.2.2 Aplicación de las Normas Oficiales Mexicanas	18
2.2.2.1 Diferencias entre los criterios de México y E.U.....	18
2.2.3 Evaluación de los aspectos físicoquímicos	20
2.2.3.1 Características físicas.....	21

2.2.3.2 Características químicas.....	22
2.2.4 Evaluación de los aspectos microbiológicos	22
2.2.4.1 Tipos de microorganismos.....	23
2.2.4.2 Mecanismo de transmisión de enfermedades	26
2.2.4.3 Microorganismos patógenos.....	27
2.3 Indicadores microbiológicos	28
2.3.1 Indicadores.....	28
2.3.2 Elección de los organismos indicadores	29
2.3.3 Indicadores microbiológicos de calidad del agua	30
2.3.4 Principales características de los indicadores	32
2.3.4.1 Coliformes	32
2.3.4.2 <i>Clostridium perfringens</i>	33
 III. MÉTODO	
3.1 Descripción del área de estudio	37
3.2 Localización de la zona de estudio	37
3.3 Muestreos.....	38
3.3.1 Método de muestreo	38
3.3.2 Selección de la hora y frecuencia de muestreo	38
3.3.3 Volumen de muestra	39
3.3.4 Conservación y transportación de muestras	41
3.4 Técnicas de análisis	41
3.4.1 Análisis físicos: pH y temperatura	41
3.4.2 Análisis microbiológicos	41
3.4.2.1 Determinación de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	41
3.4.2.2 Determinación de <i>Clostridium perfringens</i>	43
3.5 Análisis de los resultados	44
 IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Planta tratadora sur (PTS): influente y efluente	46
4.1.1 Análisis de temperatura y pH	46
4.1.2 Análisis microbiológico	48
4.1.2.1 Determinación de coliformes totales	48

4.1.2.2 Determinación de <i>Escherichia coli</i>	50
4.1.2.3 Determinación de <i>Clostridium perfringens</i>	51
4.2 Colector general del ITSON Unidad Náinari	54
4.2.1 Análisis de temperatura y pH	54
4.2.2 Análisis microbiológico	55
4.2.2.1 Determinación de coliformes totales	55
4.2.2.2 Determinación de <i>Escherichia coli</i>	56
4.2.2.3 Determinación de <i>Clostridium perfringens</i>	57
4.3 Análisis del influente, efluente y unidad Náinari en función de temperatura y pH	57
4.4 Análisis del comportamiento de <i>Clostridium perfringens</i>	58
4.4.1 En función de temperatura y pH	58
4.4.2 Por efecto del día de muestreo	59
4.4.3 En función de los coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> del influente, efluente y unidad Náinari	60
V. CONCLUSIONES	63
BIBLIOGRAFÍA	65

DEDICATORIA

A Dios por permitirme seguir adelante en compañía de mis seres queridos y darte gracias por cada una de las personas que haz puesto en mi camino.

A ti Danilo por tu apoyo en todo momento, ello me recuerda una estrofa de Mario Benedetti que representa todo lo que tú eres para mí y dice:

*Si te quiero es porque sos
mi amor mi cómplice y todo
y en la calle codo a codo
somos mucho más que dos*

A Daniela, Brenda y Manuelito por el tiempo que deje de compartir con ustedes.

A mi padres Celia y Emilio porque siempre están muy cerca de mí a pesar de la distancia que nos separa.

A mis hermanas Alicia y Edith porque somos una familia.

A mi abuela Enriqueta porque admiro su fuerza de voluntad para vivir.

A Claudia porque compartimos momentos inolvidables y por tener un corazón de oro.

A Jorge Robles, Jorge Cabrera y Ramses porque son mis mejores amigos y por su incondicional ayuda.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico de Sonora :

*Por ser un centro de enseñanza que basándose en educación
y cultura lleva a cabo la formación de
profesionistas de calidad.*

A la Dirección de Investigación y Estudios de Postgrado:

Por las facilidades brindadas todo este tiempo.

Al M. en C. Pablo Gortáres Moroyoqui:

*Por ser mi asesor, mi guía y por todo la paciencia brindada
durante la realización de este proyecto.*

A mi comité revisor:

M. en C. Luciano Castro Espinoza y M. en C. María Guadalupe Aguilar Apodaca

Por su valioso apoyo y tiempo incondicional.

Al M. en C. Francisco Enrique Montaña Salas:

Por las facilidades que siempre me ha brindado.

Al Ing. Alberto Torres Garza

*Por las facilidades otorgadas para el desarrollo del
presente trabajo.*

INDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICAS

1. Variación de la población de los alumnos asistiendo a clases en la Unidad Náinari del ITSON.....	39
2. Variación de la temperatura y pH en función de los muestreos procedentes del influente de la PTS	47
3. Variación de la temperatura y pH en función de los muestreos procedentes del efluente de la PTS.....	48
4. Comportamiento de los coliformes totales procedentes del influente y efluente de la PTS.....	49
5. Comportamiento de <i>Clostridium perfringens</i> en aguas residuales procedentes del influente y efluente de la PTS.....	52
6. Variación de la temperatura y pH en función de los muestreos procedentes del ITSON Unidad Náinari.....	55
7. Comportamiento de la concentración de los coniformes totales y <i>Escherichia coli</i> en aguas residuales procedentes de la unidad Náinari	56
8. Comportamiento de <i>Clostridium perfringens</i> en aguas residuales procedentes del ITSON Unidad Náinari.....	57
9. Comportamiento del tipo de agua residual en función de la temperatura.....	58
10. Comportamiento de <i>Clostridium perfringens</i> por efecto del día de muestreo	60

ÍNDICE DE TABLAS, CUADROS Y FIGURAS

TABLAS

1. Características físicas, químicas y biológicas del agua residual y sus procedencias	15
2. Valores guías para la calidad del agua residual	19
3. Contaminantes de importancia en el tratamiento del agua residual	21
4. Principales organismos patógenos y sus enfermedades.....	24
5. Concentraciones de microorganismos presentes en un agua residual doméstica	27
6. Indicadores de calidad del agua residual y su potencial uso	30
7. Rango normal de conversión (RNC) del método SimPlate.....	43
8. Remoción de patógenos y microorganismos indicadores en aguas residuales.....	54

CUADROS

1. Frecuencia de muestreos correspondientes a la planta tratadora sur y al ITSON Unidad Náinari	40
2. Concentración de <i>Escherichia coli</i> y <i>Clostridium perfringens</i> del influente y efluente de la PTS.....	50
3. Remoción de coniforme totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Clostridium perfringens</i> del influente y efluente	53
4. Análisis estadísticos de temperatura procedentes del influente, efluente y unidad Náinari	59
5. Análisis estadísticos de pH procedentes del influente, efluente y unidad Náinari.....	59
6. Análisis estadísticos de <i>Clostridium perfringens</i> procedente del influente, efluente y unidad Náinari	61

FIGURAS

1. Coloración en los pozos positivos para la diferenciación de coliformes	42
2. Técnica de <i>Clostridium perfringens</i>	44

RESUMEN

El reuso de aguas residuales para la agricultura, riego de zonas verdes, plantea el problema de la posible presencia de organismos patógenos. Algunas veces no pueden estos organismos ser eliminados por tratamientos biológicos que incluyen desinfección. Su sobrevivencia a condiciones adversas al medio ambiente ponen en riesgo la salud de la comunidad. Se requiere entonces, para el control de estos organismos, otros indicadores de calidad que aseguren la ausencia de estos patógenos.

A pesar de que las Normas Oficiales Mexicanas establecen el uso de coliformes totales, fecales y huevos de helminto; se han presentando en los últimos años brotes de enfermedades provocados por distintos organismos a los coliformes, por lo cual es conveniente considerar el empleo de otros indicadores que también manifiesten la calidad microbiológica del agua residual.

En este estudio se presenta la alternativa del empleo de *Clostridium perfringens* como indicador microbiológico en aguas residuales. El objetivo fue evaluar la posibilidad de emplear a este organismo como un indicador de contaminación microbiológica en aguas residuales y determinar la relación que hay entre coliformes totales y *Escherichia coli*. Para ello se emplearon aguas residuales provenientes de la planta tratadora sur, tanto del influente como efluente, así como también aguas residuales provenientes del Instituto Tecnológico de Sonora Unidad Náinari en Ciudad Obregón Sonora. Los resultados de esta investigación indicaron que la presencia de coliformes totales y *Escherichia coli* son sensibles a los tratamientos biológicos y que incluyen desinfección, ya que presentaron una remoción del 97% y 99% respectivamente, mientras que la presencia de *Clostridium perfringens* presentó una remoción del 33%, mostrando que su sobrevivencia y resistencia a condiciones adversas del medio ambiente son mayores que al grupo coliforme. Asimismo no se encontró relación entre *Clostridium perfringens*, coliformes totales y *Escherichia coli*.

Es importante también mencionar que las aguas residuales analizadas se encontraron dentro de las Normas Oficiales Mexicanas, pero ello, no asegura la ausencia de patógenos emergentes.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Se define agua residual, al residuo líquido recogido mediante la red de alcantarillado, se compone de agua residual doméstica, agua residual industrial y agua de escorrentía. El agua residual doméstica o municipal proviene de diversos usos, tanto en vivienda, edificios comerciales, industrias pequeñas dentro del casco urbano, centros comerciales y escuelas de educación en todos los niveles. El agua residual industrial, es aquella que proviene de las instalaciones de manufacturado y procesos de transformación de materia prima. El agua residual de escorrentía es aquella generada durante los periodos de lluvia. Es enviada al sistema de alcantarillado o descargada directamente a los cuerpos de agua (ríos, canales, lagos, etc.) (Pettygrove y Asano, 1990).

Generalmente, las aguas residuales son sometidas a tratamientos con el fin de mejorar su calidad, física, química y biológica, de tal forma que pueda cumplir con los requisitos implementados por la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (hoy SEMARNAT) y la Comisión Nacional de Agua (CNA), para disponer de ellas en cuerpos

de agua y suelos sin contaminar el ambiente, o bien, para darle uso en otras actividades tales como riego de suelos de cultivo, áreas recreativas, procesos industriales, etc., ahorrando así agua y aprovechando al máximo los recursos que se tienen.

Actualmente, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) ha constituido el Comité Consultivo Nacional de Normalización para la protección Ambiental integrado por dependencias del sector público, industrial y académico. Ha emitido para ello Normas Oficiales Mexicanas (NOM), como la NOM-001-ECOL-1996 (SEMARNAT, 1997), que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales y la NOM-002-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal (SEMARNAT, 1998). Con estas normas se pretende mejorar la calidad del agua residual que llega a los cuerpos receptores, empleando para ello parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.

En los parámetros fisicoquímicos se consideran generalmente, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la materia en suspensión (MES) y la demanda química de oxígeno (DQO), para utilizarla en riego agrícola o de jardinería, es necesario considerar otros aspectos, tales como: metales pesados, potencial de hidrógeno (pH), nitrógeno, fósforo, potasio, conductividad eléctrica, cloro residual, para que estos no afecten el crecimiento de la planta y la permeabilidad del suelo (Pettygrove y Asano, 1990). Además es importante la detección de microorganismos patógenos, tales como bacterias, virus, protozoos y gusanos parásitos, los cuales habitualmente crecen en el tracto intestinal y abandonan el cuerpo a través de las heces.

El uso directo o un mal tratamiento de las aguas residuales, da como resultado una fuente potencial de enfermedades como fiebre tifoidea, disentería bacilar, hepatitis, shigelosis, amebiasis (Madigan *et al*, 1999). Cifuentes *et al*, (1993) relacionan los problemas de salud pública con el uso de aguas residuales en la agricultura. Ellos reportan la presencia de *Ascaris lumbricoides*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, así como enfermedades diarreicas e infecciones intestinales en un grupo de la población expuesta directa e indirectamente al empleo de aguas residuales. También se han reportado a otros microorganismos patógenos como son las especies *Vibrio*,

Mycobacterium, *Leptospira*, *Yersenia*, *Campilobacter jejuni*, *Cryptosporidium parvum*, *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli* (ETEC) como importantes agentes etiológicos de diarreas , infecciones intestinales y brotes de intoxicación (Pettygrove y Asano, 1990).

Las pruebas epidemiológicas, de las que forman parte muchos estudios recientes, han indicado que muchas enfermedades pueden guardar relación con el aprovechamiento de aguas residuales y en particular en estado crudo. La mayoría de las enfermedades son causadas por agentes patógenos, que no pueden ser detectados con las técnicas empleadas en la vigilancia microbiológica convencional de la calidad de las aguas residuales, ni se eliminan con procesos de tratamiento biológico y desinfección (OMS, 1989). Para ello, se emplea los organismos coliformes como indicador de contaminación, puesto que su presencia es más numerosa y fácil de comprobar, sin embargo, la ausencia de coliformes no necesariamente indica ausencia de patógenos. En consecuencia se ha sugerido el uso de otros indicadores como *Streptococci fecal*, *Pseudomonas euroginosas*, identificación de bacterias gram negativos por el método cuenta en placa de heterótrofos (CPH), *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* como indicadores de contaminación para agua potable, agua de recreación y aguas residuales, (Forrest y Gushulak,1997).

Las N001EC96 y N002EC96 establecen los límites máximos permisibles de coliformes totales y fecales para las descargas de aguas residuales, tanto a cuerpos de agua como a suelo (uso en riego agrícola) el cual es de 1,000 y 2,000 como número más probable (NMP) por cada 100 ml, para el promedio mensual y diario, respectivamente. Otro indicador empleado es el huevos de helminto, cuyo límite máximo permisible para las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola) es de un huevo de helminto por litro para riego restringido y de cinco huevos por litro para riego no restringido (SEMARNAT, 1997). Cabelli (1978) sugiere la utilización de indicadores para la calidad del agua dependiendo de la fuente de abastecimiento y el uso al que esté destinada. Para el caso de agua residual, se recomienda *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* como indicadores ideales para la presencia de heces humanas y posibles fuentes cercanas de contaminación de las mismas.

Las principales características de *Clostridium perfringens* son: resistencia a la presencia de desinfectantes, formación de esporas, poseé motilidad, su hábitat natural es el suelo o el conducto intestinal de animales y humanos donde viven como saprofitos. Las esporas son muy resistentes (75°C por 15 minutos), persisten por largos períodos en el medio ambiente. La principal característica de *Escherichia coli* es la fermentación de lactosa con producción de ácido y gas a 44.5°C en un período de incubación de 24 horas, para su determinación existen diferentes técnicas que facilitan su identificación. Estos microorganismos (*Clostridium perfringens* y *Escherichia coli*) pueden ser empleados como un indicador de remoción de parásitos protozoarios o virus en aguas potables y tratamientos de aguas residuales (Payment y Franco, 1993).

1.2 Planteamiento del problema

El empleo de normas microbiológicas para las aguas residuales tratadas, está regulado por las Normas Oficiales Mexicanas, considerando entre sus parámetros a los coliformes fecales. La interpretación de coliformes como indicadores de contaminación fecal tiende a restringirse a casos de contaminación muy acentuada y reciente por heces humanas y de ciertos animales de sangre caliente.

En tal caso, el significado de los coliformes debe ser ése, ya que la *Escherichia coli* exhibe una proporción significativamente mayor entre las bacterias capaces de fermentar lactosa con producción de gas a 44.5°C; por el contrario, cuando la contaminación es mínima y también el número de *Escherichia coli*, otras bacterias entéricas formadoras de gas pueden multiplicarse hasta alterar la relación estadística de coliformes fecales; esto explica el hallazgo del 24% de especies de *Enterobacter* productoras de gas a 44.5°C, otro ejemplo es una bacteria cromógena de aguas termales (no expuesta a contaminación por desechos) que daba positiva la prueba de coliformes fecales en caldo EC a 44.5°C. Los hallazgos mencionados subrayan la necesidad de manejar con cautela los resultados de los análisis microbiológicos en una muestra (Fernández, 1988), por ello, la ausencia o presencia a niveles permisibles de estos microorganismos, no asegura que se encuentren libres de microorganismos patógenos (Naranjo *et al*, 1990).

Las recomendaciones realizadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1989, sugieren determinar el contenido de quistes de protozoarios, huevos de helminto, coliformes fecales y el empleo de *Clostridium*, como indicadores de contaminación por su capacidad de resistencia a los tratamientos biológicos secundarios seguidos de cloración (OMS, 1989). Además sugiere el empleo de esporas de *Clostridium perfringens* como un indicador para aguas residuales, por su capacidad de resistencia a condiciones adversas de crecimiento, sobrevivencia a temperaturas de hasta 75°C por un periodo de 15 minutos y estar relacionado con la presencia de materia fecal (Maier *et al*, 2000). Con lo anteriormente expuesto, nos lleva a la siguiente pregunta: ¿*Clostridium perfringens*, puede ser utilizado como un buen indicador microbiológico que garantice la ausencia de microorganismos patógenos en aguas residuales?.

1.3 Justificación

Los indicadores utilizados actualmente dentro de las Normas Oficiales Mexicanas NOM – 001-ECOL- 1996 y NOM – 002 –ECOL -1996, como coliformes fecales y huevos de helminto no indican adecuadamente que su ausencia represente, que un agua este libre de organismos patógenos como bacterias, enterovirus y protozoarios. Por lo que para asegurar la ausencia de organismos patógenos, se hace necesario implementar nuevos indicadores para que se correlacionen más adecuadamente con los organismos patógenos.

1.4 Objetivo

- ◆ Evaluar a *Clostridium perfringens* como un indicador de contaminación microbiológica en aguas residuales.
- ◆ Determinar la relación que hay entre *Clostridium perfringens*, coliformes totales y *Escherichia coli* en el análisis de aguas residuales.

1.5 Hipótesis

- ◆ *Clostridium perfringens* tiene características adecuadas para ser usado como un organismo indicador de contaminación biológica en aguas residuales.
- ◆ Existe alguna relación importante entre la presencia de *Clostridium perfringens* y los coliformes fecales en aguas residuales.

II. FUNDAMENTACIÓN

2.1 Agua residual municipal

2.1.1 Importancia de la regeneración de agua residual

En la actualidad uno de los problemas que se presentan es la disminución de los recursos naturales. Entre ellos se encuentra el agua, cuya demanda aumenta para uso agrícola, industrial y urbano con un aumento de aguas residuales. Por un lado el interés de ahorrar agua se iguala a la necesidad de resolver problemas muy serios, como son la contaminación de mares, ríos, canales, etc., ello conlleva a la implementación de plantas tratadoras que de estas se obtengan aguas residuales con una calidad aceptable para ser reutilizada.

Hoy en día existe un sinnúmero de programas de uso de aguas residuales, dirigiéndose principalmente a la agricultura. Por ejemplo, en la India hay varios centenares de sistemas de riego con aguas residuales, que cubren una superficie de cerca de 73 000 ha. En los Estados Unidos de América, se han puesto en práctica diversos sistemas de riego con aguas residuales, cuyo número aumenta con rapidez (más de 3400 proyectos en 1980),

en Israel se tiene programado reciclar el 80% del agua. En México 150 000 hectáreas dependen del riego con agua residual. Sin embargo, sólo un número relativamente pequeño de sistemas de riego en el mundo se ha diseñado y realizado de tal forma que confiera la debida protección de la salud de los trabajadores y consumidores. En la mayoría se emplean aguas residuales en estado crudo o sometida a tratamiento mínimo y se hace poco o nada por proteger la salud (Cifuentes *et al*, 1993).

Utilizar el agua residual tratada representa un significativo factor de ahorro de agua potable ya que el agua tratada puede ser aprovechada en diferentes actividades y tiene gran relevancia tanto en los aspectos sociales, económicos, políticos y ambientales, algunos de sus beneficios según Servín (2000) son:

- ◆ Permite que se obtengan grandes cosechas en extensiones considerables de tierras semiáridas e improductivas.
- ◆ Sus cualidades como fertilizante agrícola hacen posibles altos rendimientos por unidad de superficie cultivable.
- ◆ Genera empleo en áreas de alta migración como son las zonas rurales áridas, y su aplicación planeada en tierras agrícolas evita que se realicen descargas de drenajes en los cuerpos de agua superficiales, con lo que se reduce la contaminación de este vital recurso.
- ◆ Riego de áreas verdes municipales e industriales, empleo en servicios sanitarios y de limpieza.
- ◆ Reuso en empresas industriales y de construcción, las cuales podrán adquirir a menor costo volúmenes importantes de agua que no serán destinados para consumo humano en actividades como: enfriamiento, producción de vapor y en algunos procesos transformativos.
- ◆ Después de un tratamiento adicional, puede ser empleada para recarga de acuíferos subterráneos.

El tratamiento de las aguas residuales contribuye al saneamiento ambiental de cada ciudad, ya que con esto se protege a la población de los riesgos de salud ocasionados por la exposición de las aguas negras a cielo abierto, evita malos olores y mejora el aspecto

de la ciudad. Sin embargo, también existen riesgos para la salud pública y deterioro en la calidad del ambiente, que requieren de una evaluación permanente; esto debe contribuir a que el agua residual se utilice de manera racional y segura en la producción agrícola o para otros fines a los que se destine (Pettygrove y Asano, 1990).

2.1.2 Uso actual del agua residual municipal

El uso de aguas residuales, surgió con la introducción del alcantarillado a las zonas urbanas y puede ser empleado en agricultura, riego de zonas verdes y acuicultura, principalmente (OMS, 1989).

2.1.2.1 Reuso en la agricultura

En la agricultura, la principal razón del aprovechamiento de aguas residuales es la urgente necesidad de ampliar la producción agrícola, la escasez de agua fresca y el deseo de economizar en la compra de fertilizantes minerales. El aprovechamiento de aguas residuales tratadas o parcialmente tratadas, se emplea con éxito tanto en el ámbito internacional como nacional. El poblado de Ica, Perú, cuyas aguas negras se tratan sólo parcialmente, el reuso de agua es utilizado únicamente para ciertos cultivos, se emplea para regar unas 400 ha. de algodón, maíz y uvas. No se permite el cultivo de tuberosas ni de verduras que crezcan cerca del suelo o que se consuman crudas. El gobierno de Túnez, emplea las aguas residuales tratadas parcialmente, para regar varios millares de hectáreas de árboles de frutas cítricas que constituyen cultivos comerciales (Cifuentes *et al*, 1994; OMS, 1989).

El aprovechamiento total de las aguas residuales en agricultura es una política nacional declarada sobre el uso de recursos hídricos en Israel, donde se han ejecutado unos 250 proyectos de riego para los que se ha utilizado más del 70 % del volumen total de aguas residuales del sector urbano, para producir sólo algodón y forrajes. Se ha comprobado que el uso de depósitos profundos de aguas residuales entre una estación y otra es una forma eficaz de incrementar la disponibilidad de agua de riego durante los meses de

verano y reducir la contaminación ambiental en la estación en que no se necesita (Cifuentes *et al*, 1993).

En México, el uso de aguas residuales se restringe a ciertos cultivos, como por ejemplo, la mayor parte de las aguas negras de la Ciudad de México se emplean en el distrito de desarrollo rural N° 063 en el Valle de Mezquital, Estado de Hidalgo. Las aguas residuales se usan para regar 80 000 ha, sobre todo para la producción de alfalfa, maíz, cebada y avena, lo que convierte este plan de aprovechamiento de aguas residuales en el mayor del mundo. Los cultivos cuya producción se prohíbe son lechugas, repollo, remolacha, cilantro, rábano, zanahoria, espinaca y perejil, pero la autoridad de control permite tener pequeñas parcelas de tomates y chiles, por considerarlos inocuos ya que sus frutos crecen a cierta distancia del suelo, la restricción de cultivos y disposición cuyo cumplimiento es obligatorio, es la única medida de protección de la salud. Aunque sigue habiendo incertidumbre respecto del grado de protección de la salud de los trabajadores agrícolas con ese sistema, se considera que la salud de los consumidores queda debidamente protegida con la restricción impuesta (Cifuentes *et al*, 1994).

2.1.2.2. Riego de zona verde

En muchos países donde se ha adoptado, el riego de zonas verdes con aguas residuales tratadas han tomado como modelo las normas de calidad de los efluentes del Departamento de Salud Pública del Estado de California. Esta ha sido la práctica en Omán, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes Unidos (OMS, 1989).

En la Ciudad de México, las aguas residuales sometidas a tratamiento parcial se emplean para regar los parques públicos y las zonas verdes a lo largo de las carreteras con un sistema de redes de tubería y camiones cisterna (Cifuentes *et al*, 1994).

2.1.2.3 Acuicultura

El cultivo de peces y plantas acuáticas en estanques fertilizados con aguas residuales es

una práctica común, sobre todo en Asia. En la India hay más de 130 sistemas de piscicultura en estanques alimentados con aguas residuales en una zona de unas 12 000 ha; la mayoría se encuentra en Bengala Occidental (Cifuentes *et al*,1994).

Calcuta tiene el sistema de acuicultura alimentado con aguas residuales más extenso del mundo. Aquí, las aguas residuales sin tratar y las aguas de lluvia provenientes de la ciudad se encauzan hacia las zonas húmedas del oriente por medio de dos canales principales, de donde pasa a un complejo sistema. De estos, se hacen pasar cantidades reguladas por puertas sencillas conducentes a un extenso sistema de estanques con una superficie de 4400 ha, en los que se producen especies como carpa y *Tilapia*, que son importantes en la India y de 5 a 6 meses alcanzan su tamaño comercial. Los rendimientos medios anuales son de más de 1 000 kg/ha y los estanques suministran empleo a la población local en proporción de 7.5 personas/ha. Los peces se capturan en redes al amanecer y a las 7 horas ya se han vendido en el mercado; representan de 10 a 20 % del pescado consumido en la zona metropolitana de Calcuta. Se dice que la reducción de bacterias coliformes totales en los estanques de peces es considerable y eso, junto con el hecho de que el pescado se cocina bien antes del consumo, indica que es limitado el riesgo potencial para la salud (Cifuentes *et al*,1994).

Cerca del 25 % de las aguas residuales asentadas (es decir, de las que se ha retirado la mayoría de los sólidos sedimentables) de la ciudad de Munich, en la República Federal de Alemania, se trata en un complejo de estanques de peces de 233 ha de extensión, que consta de 30 estanques de gran tamaño manejados en forma paralela, cada uno de los cuales tiene un tiempo de retención de unas 40 horas. La carpa común es la principal especie cultivada y se alimenta de invertebrados que viven en el fondo de los estanques pero también de zooplancton y da rendimientos anuales de 500 kg/ha. Las aguas residuales son sometidas a aeración y luego se diluyen con agua de río en proporción de 1:4 o más. Dos semanas antes de la captura, se agrega agua fresca a los estanques para depurar los peces (retirar cualquier impureza de su organismo). Estos se cultivan sólo de abril a octubre por causa de las bajas temperaturas del invierno y los estanques se mantienen vacíos de diciembre a marzo. Este proceso consolida el lodo de tal manera que en 30 años de funcionamiento, no ha sido necesario retirarlo (OMS, 1989).

2.1.3 Posibilidades de ampliar el uso del agua residual

La limitación del agua, es hoy en día un problema de interés tanto internacional como nacional, las estrategias de recuperación del líquido vital, se dan en las zonas costeras y en aquellas otras en las que el agua residual se pierde, al ser vertida al océano o a otras masas de agua.

Las posibilidades de aumentar las actividades de regeneración y de reutilización intencional es muy reducido en México, siendo que la Comisión Nacional del Agua, implantó el Programa Agua Limpia pero no hay prohibición para las tratadas. Por otra parte, las NOM 003 es la que actualmente rige, que entre otras cosas, canceló las concesiones de riego agrícola con aguas residuales crudas quedando como alternativa el uso para jardinería (González, 1994).

2.1.4 Generación de aguas residuales en universidades

Las universidades, al igual que otras instituciones de servicio en una comunidad, generan grandes volúmenes de aguas residuales producto de las actividades que en ella se realizan. Metcalf y Eddy (1996), indican que pueden requerirse entre 40 a 110 litros de agua por persona por día, para satisfacer las necesidades en función de usos diversos como: consumo, sanitario, laboratorios, cafetería, gimnasios, regaderas, etc. En el ITSON, Unidad Nainari en particular se desarrollan por completo las actividades citadas anteriormente y se espera que sea implementada una planta tratadora, para lo cual, la institución tiene proyectado un programa de investigación para la caracterización del agua residual y el diseño de los requerimientos de la planta. La finalidad primordial de la institución es en primer término, evitar la incorporación de las diversas sustancias contaminantes y que son vertidas al drenaje, para cumplir con las Normas Oficiales Mexicanas referentes a la calidad del agua residual vertidas al alcantarillado municipal; en segundo término para el desarrollo de prácticas docentes; cursos, tesis, etc., pero sobre todo para transmitir al alumnado la necesidad de tener en todo momento una actitud de protección al ambiente y sus recursos más valiosos.

2.1.5 Composición del agua residual

Metcalf y Eddy (1996), definen la composición de las aguas residuales de una comunidad, en los siguientes puntos:

- ◆ Agua residual doméstica o sanitaria: procedentes de zonas residenciales o instalaciones comerciales, públicas y similares. El uso doméstico comprende el agua abastecida a zonas residenciales, comercios, instituciones y espacios de recreación. Los usos a los que se destinen incluyen el agua que se bebe, la usada para limpieza, higiene, fines culinarios, evacuaciones de residuos, y regado de jardines y zonas verdes particulares.
- ◆ Agua residual industrial: agua residual en la cual predominan vertidos industriales y la composición dependerá del proceso de producción y del producto final, como por ejemplo; las refinerías, las químicas, las de producción de alimentos y bebidas, cada una eliminará diferentes sustancias, así como la concentración de los componentes eliminados. Las aguas residuales industriales, generalmente no son vertidas con las de uso doméstico y en lo posible son tratadas en el mismo lugar de la industria o son enviadas a una planta tratadora exclusiva para las industrias.
- ◆ Infiltración y aportaciones incontroladas: son aguas que entran tanto de manera directa como indirecta en la red de alcantarillado. La infiltración hace referencia al agua que penetra en el sistema a través de juntas defectuosas, fracturas y grietas o paredes porosas. Las aportaciones incontroladas corresponden a aguas pluviales que se descargan a la red por medio de alcantarillas pluviales, drenes de cimentaciones, bajantes de edificios y tapas de pozos de registro.
- ◆ Aguas pluviales: aguas resultantes de la escorrentía superficial.

2.1.6 Características de las aguas residuales domésticas

Las propiedades físicas y los componentes químicos y biológicos del agua residual son parámetros importantes para un proyecto, instalación y mantenimiento de una planta tratadora de aguas residuales. La composición de un agua residual viene definida por las

cantidades reales de los componentes físicos, químicos y biológicos presentes en ella. La composición tanto del agua residual sin tratar (influyente) como tratada (efluente), depende de la composición del agua de abastecimiento público, del número y tipo de establecimientos comerciales, institucionales e industriales y de la naturaleza de la población residente. Por ello, la composición del agua residual muestra con frecuencia un amplio margen de variación entre diferentes poblaciones, debido a las diferentes actividades económicas, al tamaño de la población (Pettygrove y Asano, 1990). La tabla 1 muestra las principales propiedades físicas del agua así como sus principales constituyentes químicos y biológicos. Es conveniente observar que muchos de los parámetros que aparecen en la tabla están relacionados entre ellos.

Tabla 1. Características físicas, químicas y biológicas del agua residual y sus procedencias.

Características	Procedencia
Propiedades físicas	
Color	Aguas residuales domésticas e industriales, degradación natural de materia orgánica.
Olor	Agua residual en descomposición, residuos industriales.
Sólidos	Agua de suministro; aguas residuales domésticas, e industriales, erosión del suelo, infiltración y conexiones incontroladas.
Temperatura	Aguas residuales domésticas e industriales.
Constituyentes químicos	
Orgánicos:	
Carbohidratos	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Grasas animales, aceites y grasa	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Pesticidas	Residuos agrícolas.
Fenoles	Vertidos industriales.
Proteínas	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Contaminantes prioritarios	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Agentes tenso activos	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Compuestos orgánicos volátiles	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Otros	Degradación natural de materia orgánica.
Inorgánicos	
Alcalinidad	Aguas residuales domésticas, agua de suministro, infiltración de agua subterránea.
Cloruros	Aguas residuales domésticas, agua de suministro, infiltración de agua subterránea.
Metales pesados	Vertidos industriales.
Nitrógeno	Residuos agrícolas y aguas residuales domésticas.
PH	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Fósforo	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales; aguas de escorrentía.
Contaminantes prioritarios	Aguas residuales domésticas, industriales y comerciales.
Azufre	Agua de suministro; aguas residuales domésticas, comerciales e industriales
Gases:	
Sulfuro de hidrógeno	Descomposición de residuos domésticos
Metano	Descomposición de residuos domésticos
Oxígeno	Agua de suministro; infiltración de agua superficial.
Constituyentes biológicos:	
Animales	Cursos de agua y plantas de tratamiento.
Plantas	Cursos de agua y plantas de tratamiento.
Protistas	
Eubacterias	Aguas residuales domésticas, infiltración de agua superficial, plantas de tratamiento.
Arqueobacterias	Aguas residuales domésticas, infiltración de agua superficial, plantas de tratamiento.
Virus	Aguas residuales domésticas.

Fuente: Metcalf y Eddy, 1996

2.1.7 Riesgos en la salud por el uso de aguas residuales domésticas

Un agua residual municipal tratada conlleva un riesgo sanitario, ya que la exposición a microorganismos patógenos y sustancias tóxicas es mayor en estos casos que cuando se utilizan aguas no contaminadas, por otro lado, el uso frecuente de las aguas residuales y la carencia de información epidemiológica sobre los riesgos reales para los trabajadores o cualquier persona que tengan contacto con ella, así como los productos de consumo regados con este tipo de agua, requiere de supervisión y aplicación de estándares o criterios de calidad para ser utilizados.

Existen estudios que señalan con claridad los estándares o criterios de calidad para el uso del agua residual. Hasta principios de la década de los ochenta los criterios sobre la calidad y uso de agua residual regenerada para uso agrícola exigía niveles de pureza equivalentes al agua para beber; con esta idea se formularon los estándares de California, que posteriormente fueron tomados como guía internacional por muchos países en desarrollo, que posteriormente fue modificado por lo riguroso de sus parámetros (Cifuentes *et al*, 1993).

A mediados de los ochenta, las diversas organizaciones internacionales como el Banco Mundial (BM) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), revisaron diversos aspectos sobre la utilización del agua residual, entre los que se destaca; los microbiológicos, epidemiológicos, técnicos y sociales. Como resultado de estas reuniones, se propuso un modelo que describe los riesgos de la salud relacionados con el empleo de estas aguas, especialmente en área agrícola y acuícola.

La poca información epidemiológica y el modelo propuesto por el BM y la OMS, sugieren que el riesgo por el uso de agua residual sin tratar, se asocia con las infecciones por nematodos intestinales, tanto en productos de consumo como en trabajadores expuestos a estas aguas; las infecciones bacterianas y virales constituyen, en orden descendente, riesgos adicionales. A finales de la década de los ochenta la OMS resumió la información epidemiológica y microbiológica, y planteó que el riesgo por el uso de agua residual tratada no aumenta las infecciones por nematodos (OMS, 1989).

Como resultado a lo anterior expuesto, la necesidad de contar con criterios que aseguren la calidad del agua residual, incluye en ellas el recuento de nematodos, también menciona un monitoreo del conteo de coliformes totales y coliformes fecales, pero los cambios ambientales, obligaron a incluir nuevos indicadores, como parámetros de calidad (Estados Unidos y la Unión Europea), sin embargo México no ha incluido estos nuevos controles (OMS, 1989).

2.2 Calidad del agua residual doméstica

Las aguas residuales procedentes de las diversas actividades del hombre, trae como consecuencia la acumulación de mayores contaminantes al medio ambiente, para prever mayores riesgos, se han establecido normas oficiales mexicanas que regulan la calidad tanto fisicoquímica como microbiológica del agua residual y las posibilidades de ser reutilizada.

2.2.1 Guía de calidad del agua residual

La naturaleza de las aguas residuales dependerá de las concentraciones de las sustancias contaminantes y los volúmenes descargados. Por otra parte el agua generada es vertida la mayoría de las veces al alcantarillado de la red municipal, sin recibir ningún tratamiento, causando con ello incremento de la contaminación al medio ambiente y en algunos casos daños a la infraestructura del sistema de alcantarillado (Pettygrove y Asano, 1990). Con el fin de reducir lo anterior, en nuestro país se ha emitido la normatividad que permite el control de la calidad del agua descargada, mediante las Normas Oficiales Mexicanas que son: la NOM-ECOL-001, (SEMARNAT, 1997) y la NOM-ECOL-002 (SEMARNAT, 1998). Con ello, las aguas son evaluadas en diferentes aspectos tanto fisicoquímicos como microbiológicos, con base en los fundamentos técnicos y científicos de las normas internacionales como APHA (1998).

2.2.2 Aplicación de las Normas Oficiales Mexicanas

Las normas establecidas por el gobierno mexicano, que rige los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales son:

- ◆ Norma Oficial Mexicana NOM –001–ECOL–1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- ◆ Norma Oficial Mexicana NOM –002–ECOL–1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado, urbano o municipal.
- ◆ La NOM 001 y 002, establece los parámetros físicos, químicos y biológicos, para este caso particular, solo se tomará referencias del potencial de hidrógeno (pH), temperatura expresada en grados Celsius (°C), contaminantes patógenos y parasitarios. Los valores guías relacionados con los puntos antes mencionados, se representan en la tabla 2.

2.2.2.1 Diferencias entre los criterios de México y Estados Unidos

En los Estados Unidos, la legislación de los criterios de calidad, se ha limitado generalmente a las zonas con escasez de agua, en particular en el Oeste y el Suroeste. Además de California, algunos estados han desarrollado de forma independiente, o están en proceso de desarrollar, normas de calidad para la reutilización de agua residual con fines que requieran el riego, el almacenamiento y la recarga de acuíferos (Pettygrove y Asano, 1990). Por citar algunos, en California los límites permisibles de coliformes fecales para agua de riego son 2.2 coliformes/100 ml, mientras que para riego de jardinería es de 23 coliformes/100 ml. El estado de Texas no tiene una reglamentación global sobre la regeneración del agua residual, pero se permite 200 coliformes fecales /100 ml en riego de jardinería.

El reglamento propuesto en Florida establece que el agua regenerada utilizada para regar

forrajes, viveros de césped y áreas similares, en las que el acceso de los públicos es restringido, debe ser sometida a un tratamiento secundario y desinfectado. Los límites permisibles de coliformes fecales para riego de jardinería, es de 200 coliformes fecales /100 ml; los límites permisibles de coliformes fecales para riego de campo de golf, cementerios, parques y de otras zonas ajardinadas accesibles al público, deben estar por debajo del nivel de detección de coliformes fecales.

Tabla 2. Valores guías para la calidad del agua residual.

Aplicación de la NOM	Organismos	Unidad	Limites permisibles
NOM – 001			
Aguas y bienes nacionales	Coliformes Fecales	NMP/100 ml	1000
	Huevos de Helminto	Huevos de helminto / Lt	
Descarga en suelo (uso en riego agrícola)	Coliformes Fecales	NMP/100 m	2000
	Huevos de Helminto	Huevos de helminto / Lt	1 (riego restringido)
			5 (riego no restringido)
NOM – 002	Coliformes Totales	NMP/100 m	No se ha establecido
Descargas a los alcantarillados	Coliformes Fecales	NMP/100 m	No se ha establecido
	Huevos de Helminto	N Huevos de helminto / Lt	No se ha establecido

Fuente: SEMARNAT, 1997, 1998

El estado de Arizona ha propuesto una reglamentación que no exige procesos de tratamientos específicos, aunque establece límites de calidad para varios tipos de riego. La normatividad aplicada al riego de jardinería requiere que la concentración de coliformes fecales en el efluente no sobrepase una media geométrica de 25 unidades

formadoras de colonia (UFC) por 100 ml, siendo la concentración máxima de 75 UFC/100 ml; el reglamento considera una concentración de virus máximo de 125 UFC/40 litros; para el riego de cultivo comestible que no sean sometidos a procesos de elaboración, los coliformes fecales deben ser menor a 2.2 UFC/100 ml o un valor máximo de 25 UFC/100 ml (Pettygrove y Asano, 1990).

Los criterios de calidad para aguas residuales tratadas son más estrictos en los Estados Unidos (EU) en comparación a México. Los valores establecidos para coliformes fecales por parte de los EU, se encuentran entre 2.2 y menores a las concentraciones detectables, mientras que la NOM determinan un máximo permisible de 2 000 coliformes fecales en 100 ml, sin considerar que Arizona incluye la detección de virus (SEMARNAT, 1997; Pettygrove y Asano, 1990).

2.2.3 Evaluación de los aspectos fisicoquímicos

Las normas que regulan la calidad del agua residual, dependiendo del destino final (vertidas a ríos, mares, reutilización para fines agrícolas, jardinería, etc.), incluyen en ellas, el control de la eliminación de nutrientes y contaminantes prioritarios. Para ello se cuenta con métodos de análisis cuantitativos para la determinación precisa de la composición química residual, así como también análisis cualitativos para el conocimiento de las características físicas.

Para la determinación tanto de las características químicas, existen diferentes métodos tales como: gravimétricos, volumétricos o fisicoquímicos, mientras que las características físicas incluyen métodos instrumentales como la turbidimetría, colorimetría, potenciometría, polarigrafía, espectrofotometría de adsorción, fluorometría, espectroscopia y radiación nuclear. Estas determinaciones están basadas en los métodos oficiales publicados en el Standard Methods, que constituye la referencia más empleada y aceptada en el ámbito internacional. La tabla 3 muestra los contaminantes de importancia.

2.2.3.1 Características físicas

Las características físicas más importantes del agua residual son el contenido total de sólidos, término que engloba la materia en suspensión, la materia sedimentable, la materia coloidal y la materia disuelta. Otras características físicas importantes son el olor, la temperatura, la densidad, el color y la turbiedad (Metcalf y Eddy, 1996).

Tabla 3. Contaminantes de importancia en el tratamiento del agua residual.

Contaminantes	Razón de la Importancia
Sólidos en suspensión	Los sólidos en suspensión pueden dar lugar al desarrollo de depósitos de fango y de condiciones anaerobias cuando se vierte agua residual sin tratar al entorno acuático.
Materia orgánica biodegradable	Compuesta principalmente por proteínas, carbohidratos, grasas animales, la materia orgánica biodegradable se mide, en la mayoría de las ocasiones, en función de la DBO (demanda bioquímica de oxígeno) y de la DQO (demanda química de oxígeno). Si se descarga al entorno sin tratar su estabilización biológica puede llevar en el agotamiento de los recursos naturales de oxígeno y al desarrollo de condiciones sépticas.
Patógenos	Pueden transmitirse enfermedades contagiosas por medio de los organismos patógenos presentes en el agua residual.
Nutrientes	Tanto el nitrógeno como el fósforo, junto con el carbono, son nutrientes esenciales para el crecimiento. Cuando se vierten al entorno acuático, estos nutrientes tiene a favorecer el crecimiento de una vida acuática no deseada. Cuando se vierten al terreno en cantidades excesivas, también puede provocar la contaminación del agua subterránea.
Contaminantes prioritarios	Son compuestos orgánicos o inorgánicos determinados sobre la base de su carcinogenicidad, mutagenicidad, teratogenicidad o toxicidad conocida o sospechada. Muchos de estos compuestos se hallan presentes en el agua residual.
Materia orgánica refractaria	Esta materia orgánica tiende a resistir los métodos convencionales de tratamiento. Ejemplos típicos son los agentes tenso activos, los fenoles y los pesticidas agrícolas.
Metales pesados	Los metales pesados son, frecuentemente, añadidos al agua residual en el curso de ciertas actividades comerciales e industriales, y pueden ser necesarios eliminarlos si se pretende reutilizar el agua residual.
Sólidos inorgánicos disueltos	Los constituyentes inorgánicos tales como el calcio, sodio y los sulfatos de añaden al agua de suministro como consecuencia del uso del agua, y es posible que se deban eliminar si se va a reutilizar el agua residual.

Fuente: Metcalf y Eddy ,1996

2.2.3.2 Características químicas

Las características químicas de las aguas residuales son; la medición del contenido de materia inorgánica, la materia orgánica y los gases presentes en el agua residual. En términos generales la cantidad de materia orgánica, es determinada mediante la prueba analítica de la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua residual por medio de una población microbiana heterogénea, denominada Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) (Winkler, 2000). Esta prueba es un procedimiento de bioensayo que consiste en medir el oxígeno consumido por los organismos vivos (principalmente bacterias), entre mayor sea la demanda de oxígeno nos indica un mayor grado de contaminación para la materia orgánica, así como también un incremento de microflora presente en el agua (incluyendo microorganismos patógenos) (Metcalf y Eddy, 1996).

La demanda química de oxígeno (DQO) es otra manera de expresar, el contenido de materia orgánica en agua, sin embargo este parámetro. El método para evaluarlo determina la cantidad de oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica e inorgánica de un desecho, bajo condiciones específicas de un agente oxidante, condiciones ácidas y temperatura, transformándola en bióxido de carbono y agua. Existen otros análisis relacionados con la materia inorgánica tales como; pH, Cloruros, Alcalinidad, Nitrógeno, fósforo, azufre, compuestos tóxicos inorgánicos y metales pesados.

Los gases que con mayor frecuencia se encuentran en aguas residuales sin tratar son el Nitrógeno (N_2), el Oxígeno (O_2), el Dióxido de Carbono (CO_2), el Sulfuro de Hidrógeno, el Amoníaco (NH_3), y el Metano (CH_4). Los tres primeros gases son comunes en la atmósfera, mientras que los restantes son procedentes de la descomposición del agua residual (Metcalf y Eddy, 1996).

2.2.4 Evaluación de los aspectos microbiológicos

Las aguas residuales municipales contienen una gran diversidad de microorganismos incluyendo organismos patógenos, siendo una fuente potencial de contaminación. Para

disminuir los efectos negativos al medio ambiente, deben ser enviadas a las plantas tratadoras y posteriormente evaluar la presencia de microorganismos, permitiendo la presencia de una cantidad de ellos, que no ponga en riesgo a la salud y sobre todo la remoción de organismos patógenos al hombre y a los animales.

Las aguas residuales contienen tanto materia orgánica como inorgánica, y los microorganismos desempeñan un papel especialmente importante eliminando los compuestos orgánicos. Sin embargo una planta tratadora de aguas residuales no tiene una eficiencia del 100 % en la eliminación. Dependiendo del tipo de tratamiento está puede ser desde un 85 – 95 % (Metcalf y Eddy, 1996). Por lo que, la dificultad para asegurar una eliminación completa y continua de estos microorganismos hace que no pueda descartarse la posibilidad de transmisión de enfermedades a través de la reutilización del agua.

En general, los organismos patógenos responsables de las epidemias que se registran en el pasado siguen estando presentes en el agua residual actual, es por ello, que la utilización adecuada de las técnicas de ingeniería sanitaria, la correcta utilización y verificación de las normas de calidad del agua residual, tienen como finalidad la erradicación completa de estos microorganismos como su control dentro de ciertos niveles de seguridad (Pettygrove y Asano, 1990).

2.2.4.1 Tipos de microorganismos

Una planta moderna de tratamiento de agua residual, debidamente explotada, puede reducir las concentraciones de microorganismos patógenos en muchos ordenes de magnitud por debajo de su valor inicial. Durante las últimas décadas, el número de microorganismos patógenos presentes en el agua residual ha disminuido considerablemente debido a las mejoras alcanzadas en las condiciones de saneamiento y la utilización de antibióticos en la lucha contra las enfermedades infecciosas. No obstante el número de organismos patógenos presentes en el agua residual durante un brote epidémico aumenta apreciablemente, considerando que la concentración de patógenos en un agua residual tratada puede ser relativamente baja (Metcalf y Eddy, 1996). Los

principales agentes infecciosos para el hombre y los animales que pueden encontrarse en un agua residual cruda (sin tratar) se clasifica en tres grupos: las bacterias, los parásitos y los virus (Metcalf y Eddy, 1996). La tabla 4 resume los principales agentes infecciosos que pueden encontrarse en un agua residual doméstica cruda.

Tabla 4. Principales organismos patógenos y sus enfermedades.

Organismo	Enfermedad	Comentario
Bacteria		
<i>Escherichia coli</i> (enteropatógena)	Gastroenteritis	Diarrea
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis	Enfermedades respiratorias agudas
<i>Leptospira</i> (150 esp.)	Leptospirosis	Leptospirosis, fiebre (enfermedad de Weil)
<i>Salmonella Typha</i>	Fiebre tifoidea	Fiebre alta, diarrea, úlceras en el intestino delgado
<i>Salmonella</i> (~ 1.700 esp.)	Salmonelosis	Envenenamiento de alimentos
<i>Shigella</i> (4 esp.)	Shigelosis	Disentería bacilar
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Diarreas extremadamente fuertes, deshidratación
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Yersinosis	Diarrea
Virus		
<i>Adenovirus</i> (31 tipos)	Enfermedades respiratorias	
<i>Enterovirus</i> (67 tipos, p.e. polio, eco y virus Coxsackie)	Gastroenteritis	
<i>Hepatitis A</i>	Hepatitis infecciosas	Leptospirosis, fiebre
<i>Agente Norwalk</i>	Gastroenteritis	Vómitos
<i>Reovirus</i>	Gastroenteritis	
<i>Rotavirus</i>	Gastroenteritis	
Protozoos		
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiasis	Diarrea, disentería
<i>Cryptosporidium</i>	Criptosporidiosis	Diarrea
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebiasis (disentería amébrica)	Diarreas prolongadas con Sangre, abscesos en el hígado
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiasis	Diarrea, náuseas, indigestión
Helmintos		
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariasis	Infestación de gusanos
<i>Enterobius vericularis</i>	Enterobiasis	Gusanos
<i>Fasciola hepatica</i>	Fascioliasis	Gusanos (tercera)
<i>Hymenolepis nana</i>	Hymenlepiasis	Tenia enana
<i>Taenia saginata</i>	Teniasis	Tenia (buey)
<i>T. solium</i>	Teniasis	Tenia (cerdo)
<i>Trichuris trichiura</i>	Trichuriasis	Gusanos

Fuente: Metcalf y Eddy, 1996

A) Bacterias

Las bacterias patógenas más frecuentes en un agua residual municipal doméstica son las pertenecientes al género *Salmonella*, este comprende un gran número de especies capaces de producir enfermedades en las personas y animales, tales como: las fiebres entéricas, las septicemias y la gastroenteritis aguda. Otras bacterias también presentes son las especies *Vibrio*, *Mycobacterium*, *Leptosopira*, *Yersenia* y *Clostridium*. Aunque estos organismos pueden encontrarse en el agua residual, sus concentraciones son normalmente muy bajas para poder iniciar un brote epidemiológico. La frecuente declaración de casos de gastroenteritis de origen hídrico sin causas conocida ha hecho sospechar que el agente responsable sea de naturaleza bacteriana. Entre las posibles causas puede citarse a la *Escherichia coli* enteropatógenas y diversas cepas del género *Pseudomona* (Cifuentes *et al*, 1994).

B) Parásitos

Los protozoos de importancia son los flagelados, las amebas, los ciliados fijos o libres. En estos grandes grupos se encuentran los parásitos importantes del ser humano, tales como; *Entamoeba histolytica*, agente responsable de la disentería amebiana y de la hepatitis amebiana; *Giardia lamblia*, es el agente causante de la enfermedad denominada giardiasis (Metcalf y Eddy, 1996).

El agua residual puede contener así mismo varios helmintos parásitos. Los más importantes de éstos son los gusanos intestinales, entre los que se encuentran *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichuria*, *Strongyloides stercoralis*, la *Taenia saginata* y los anquilostomas *Ancylostoma duodenales* y *Necator americanus*, tanto los huevos como las larvas son resistentes a las acciones medioambientales y pueden sobrevivir durante el proceso de desinfección del agua residual (Brooks *et al*, 1998).

C) Virus

Los virus excretados por los seres humanos pueden representar un importante peligro para la salud pública, entre los más importantes se encuentran los enterovirus (polio y Coxsackie), los rotavirus, los reovirus, los parvovirus, los adenovirus y el virus de la hepatitis A. La presencia de estos virus en las aguas residuales puede deberse a un inadecuado tratamiento (Pettygrove y Asano, 1990).

2.2.4.2 Mecanismo de transmisión de enfermedades

La transmisión de una enfermedad puede efectuarse bien directamente a través del contacto, la ingestión o la inhalación del agente infeccioso presente en el agua residual tratada, o bien indirectamente a través del contacto con objetos previamente contaminados por el agua regenerada (Brooks *et al*, 1998). La susceptibilidad para producir la enfermedad, varía enormemente de una persona a otra y depende tanto del estado de salud general del individuo como del organismo patógeno en cuestión. Los niños, ancianos y las personas que padecen otras enfermedades son más susceptibles que los adultos sanos (Cifuentes *et al*, 1993).

La dosis infectiva es la cantidad de organismos necesarios para causar o dar inicio a la enfermedad. La dosis varía en función del microorganismo (Pikes, 1978) como se puede notar en continuación:

- ◆ *Giardia lamblia* se requiere de igual o menos de 10 organismos.
- ◆ *Shigella dysenteriae* se requiere de 10 organismos
- ◆ *Vibrio cholerae* se requiere de 1,000 organismos
- ◆ *Salmonella typhi* se requiere de 10, 000 organismos
- ◆ Algunos organismos toxigénicos, tales como los enteropatógenos *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens*, pueden requerir dosis de 1×10^{10} organismos para producir infección.

Además Maier (2000), menciona que la dosis infectiva dependerá del tipo de muestra, por ejemplo; para la *Salmonella* presente en agua se requiere de 17 UFC por litro, para queso se requiere de 1×10^5 por 100g.

El estado de salud en general de la población generadora del agua residual, la existencia de portadores de la enfermedad entre la población y la capacidad de los agentes infecciosos de sobrevivir fuera de sus huéspedes bajo diversas condiciones ambientales determinan conjuntamente la posible presencia de organismos patógenos en una determinada agua residual, así como la concentración que cada uno de éstos puede llegar a alcanzar en ella.

Por consiguiente, es imposible predecir con exactitud el tipo de concentración de los microorganismos presentes en un agua residual cruda (López *et al*, 1989). La tabla 5 muestra un ejemplo de los niveles de concentración y los microorganismos presentes en un agua residual cruda.

Tabla 5. Concentraciones de microorganismos presentes en un agua residual doméstica.

Microorganismos	Concentración, número/ml
<i>Coliformes</i>	0.5-1.0 x 10 ⁶
<i>Streptococos fecales</i>	5-20 x 10 ³
<i>Shigella</i>	Presencia
<i>Salmonella</i>	4-12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	102
<i>Clostridium perfringens</i>	507
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Presencia
Quistes de protozoos	100
Huevos de helmitos	1
Virus entéricos	1-492

Fuente: Pettygrove y Asano, 1990

2.2.4.3 Microorganismos patógenos

Desde hace mucho tiempo se reconoce la importancia de las enfermedades transmitidas por el agua. Las causas principales de las enfermedades entéricas del hombre son los microorganismos patógenos, los cuales pueden estar presentes en heces de humanos o animales. Aunque es posible detectar la presencia de diferentes organismos patógenos en el agua residual, el aislamiento e identificación de muchos de ellos suelen ser extremadamente complicados y rara vez se logran resultados cuantitativos (González, 1994).

Por lo tanto, se utiliza un método indirecto para evaluar el riesgo asociado al agua residual contaminado por organismos enteropatógenos, tomando como base que la estimación de los grupos entéricos normales (organismos indicadores) señalará el nivel de contaminación fecal. De esta manera, la estimación de tales organismos brinda una indicación indirecta del riesgo que pueda provenir de organismos enteropatógenos transmitidos por el agua residual (Madigan *et al*, 1999).

2.3 Indicadores microbiológicos

2.3.1 Indicadores

El método ideal de analizar el agua residual respecto a la seguridad o sanidad bacteriológica incluye la búsqueda de patógenos transmitidos por el agua, la presencia de pocos patógenos por litro puede ser suficiente para poner en riesgo la salud de la comunidad, por ejemplo; si las excretas de una persona enferma por tifoidea (*Salmonella typhi*) se eliminan y llegan a sobrevivir en agua residual tratada, es posible que sea el punto de partida para un brote epidemiológico. Esto se debe a que los patógenos son pocos y están dispersos, siendo necesario examinar grandes volúmenes de muestras para observar un microorganismo patógeno. Aun más, las especies patógenas son ocultadas por la gran cantidad de bacterias intestinales normales inocuas que crecen fácilmente en los medios de cultivo tradicionales (González, 1994).

Se han empleado varios grupos de bacterias indicadoras que aparecen normalmente en el intestino del hombre o los animales para indicar el grado de contaminación. Los más usuales son los denominados estreptococos fecales, algunos anaerobios esporógenos y las bacterias coliformes (Carpenter, 1982).

- ◆ Los *Streptococos fecales* – *S. faecalis* y *S. faecium* – se han empleado para determinar la fuente de contaminación reciente de heces (humana o de animales de granja), sin embargo, con los procedimientos analíticos habituales no es posible diferenciar los verdaderos *estreptococos fecales*, de algunas de las variedades que se parecen a este grupo, por lo cual es difícil, emplearlo como un indicador de contaminación.
- ◆ Anaerobios esporógenos. El organismo indicador *Clostridium perfringens*, es útil, para evaluar el grado de contaminación después del proceso de desinfección en aguas residuales.
- ◆ Bacterias coliformes. Especies de organismos que pueden fermentar lactosa con generación de gases (o producen una colonia diferenciable en un periodo de incubación en un medio adecuado de 24 a 48) a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. El grupo de coliformes

incluyen cuatro géneros de la familia enterobacteriaceae, estos son: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*. Del grupo de organismos, el género *Escherichia* especie *coli*, parece ser el más representativo de la contaminación fecal.

- ◆ Bacterias coliformes fecales. Se estableció en función de la capacidad de generar gas (o colonias), a una temperatura de incubación $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 h (Metcalf y Eddy, 1996).

2.3.2 Elección de los organismos indicadores

La selección correcta de los indicadores biológicos para determinar la calidad del agua residual tratada, deberá estar constituida por organismos cuya presencia denote las características particulares del medio en que se encuentren y las condiciones de tratamiento a las cuales sean sometidas (Geldreich,1978). Los organismos indicadores biológicos de contaminación deben presentar ciertas características como:

- ◆ Ser de fácil identificación por investigadores o técnicos no especializados.
- ◆ Mostrar aproximadamente el mismo grado de tolerancia a un fenómeno en particular o ser indicativo de las mismas condiciones dentro de su ambiente.
- ◆ Estar asociados con la calidad del agua y poseer un período de vida relativamente largo.

Estos indicadores bacteriológicos tienen relación con el grado de contaminación fecal, se emplean diferentes tipos de organismos, tales como el grupo coliformes, los géneros: *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Clostridium*, *Pseudomonas* y *Aeromonas*, de estos organismos el más empleado es el grupo coliforme (incluye las tres primeras especies), sin embargo, Maier *et al*, (2000) sugiere que el empleo de los indicadores coliformes para la calidad del agua residual tratada no es seguro, debido a su baja resistencia a la cloración en comparación con otros indicadores y la sobrevivencia de organismos patógenos como los protozoarios y algunos virus, siendo necesario emplear otro grupo de bacterias para garantizar la eficiencia del tratamiento del agua residual y la ausencia de patógenos resistentes a la cloración.

2.3.3 Indicadores microbiológicos de calidad del agua

La Agencia de Protección al Medio Ambiente de los Estados Unidos (EPA) recomienda el uso de indicadores dependiendo del uso al que se le destine. La tabla 6 muestra los indicadores idóneos para los fines requeridos. Como puede observarse, los indicadores de la tabla muestran una amplia gama de organismos, para ser empleados en las aguas residuales tratadas, siendo estos los coliformes totales y fecales, *Enterococos*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans*, *Bifidobacterias*, *Colifagos*, *Pseudomona euroginosa*, *Aeromona hydrophila* cuyas características se dan a continuación.

Tabla 6. Indicadores de calidad del agua residual y su potencial de uso.

Indicador	Fuente de contaminación ^a	Uso potencial ^b
Coliformes	F S I R A	S
Coliformes fecales	F S I R A	F S
<i>Enterococos</i>	F S	F S A D
<i>Clostridium perfringens</i>	F S	F S D
<i>Candida albicans</i>	F S	F S P
<i>Bifidobacterias</i>	F S	F S A D
<i>Colifagos</i>	S	S
<i>Pseudomona euroginosa</i>	S I R A	S P N
<i>Aeromonas hydrophila</i>	S I R A	S P N

FUENTE: Maier *et al*, 2000

^a Fuentes de contaminación: F (heces de humanos y animales), S (aguas residuales), I (aguas industriales), R (contaminación de suelos) y A (aguas marinas).

^b Uso potencial: P (patógeno), F (indicador fecal), S (indicador de aguas residuales), A (diferencias de contaminación entre humanos y animales), D (fuente de contaminación fecal cercana) y N (indicador de contaminación orgánica).

El grupo coliforme (totales y fecales), empleado convencionalmente para la detección de contaminación de origen fecal (entre los que se incluyen la presencia de patógenos para el hombre), sin embargo los datos epidemiológicos han demostrado que no pueden ser utilizados como única herramienta de calidad microbiológica.

En las Comunidades Europeas se incluyen además de los coliformes, *Streptococos*, *Salmonella* y determinación de enterovirus. En los Estados Unidos, la Agencia de

Protección al Medio Ambiente (U.S. EPA), incluye dentro de sus estándares, además de los coliformes (totales y fecales), detección de *Salmonella*, enterovirus y huevos de helminto, en otros estados como California se incluyen, el grupo coliformes, los enterovirus y huevos de helminto, por su parte México incluye el grupo coliforme fecal y para uso de riego agrícola, detección de huevos de helminto (Maier *et al*, 2000).

La presencia de *Enterococos*, se debe principalmente a que estos organismos, no se encuentran en aguas puras, suelos y lugares que están exentos de vida animal. Su presencia indica necesariamente contaminación por heces y su resistencia a los procesos de cloración es mayor en comparación al grupo coliforme fecal (detección de *Escherichia coli*), sin embargo, los requerimientos nutritivos son más complejos y los métodos de detección son más tardados (Winkler, 2000).

El organismo *Clostridium perfringens*, en general tiene el mismo significado que los enterococos y coliformes que es la detección de heces fecales humanas, pero una de sus ventajas que la distingue es la sobrevivencia mucho mayor que cualquier otro indicador bacteriano de contaminación fecal debido a su capacidad formadora de spora, siendo un indicador potencial para aguas residuales (Naranjo *et al*, 1990).

El empleo de *Candida albicans*, es ideal como un indicador de aguas de recreación, debido a que está asociada a las infecciones primarias del tracto respiratorio, piel y ojos, este indicador no es empleado frecuentemente por considerarse un organismo patógeno oportunista (Naranjo *et al*, 1990)..

Las bifidobacterias y colifagos son usados para asegurar la ausencia de contaminación de origen viral en aguas residuales, y con ello se evalúa su resistencia a la desinfección (Maier *et al*, 2000).

Pseudomona aeuroginosa, es una bacteria gram negativo, no formador de spora, generalmente se encuentra asociada a enfermedades de ojos, nariz, oídos e infecciones de garganta. Este organismo se sugiere como un indicador de contaminación para aguas de alberca y aguas de recreación, cuando puedan ser contaminadas por aguas residuales o presencia de contaminación fecal (Naranjo *et al*, 1990).

Aeromonas hydrophila se considera como un organismo de significado sanitario, porque su presencia en agua potable, indica contaminación por aguas residuales. Sin embargo su uso, se ve limitado debido a que es un organismo patógeno para el humano y animales de sangre fría incluyendo a los peces, restringiendo su uso como indicador (Winkler, 2000).

2.3.4 Principales características de los indicadores

Los indicadores más idóneos para el control de calidad en aguas residuales, pueden ser el empleo de dos organismos indicadores, entre ellos se puede mencionar a los coliformes fecales, exclusivamente determinación de *Escherichia coli* y el empleo de *Clostridium perfringens* (Jiang *et al*, 1995).

2.3.4.1 Coliformes

Los coliformes totales constituyen un grupo heterogéneo, con hábitat primordialmente intestinal para la mayoría de las especies que involucra. A fin de simplificar su manejo en el laboratorio, se ha establecido una definición sobre la base de las características más comunes que exhibe la especie tipo del grupo, que es *Escherichia coli*. Esta simplificación, sin embargo da lugar, a que se incluyan en el grupo, bacterias de origen no intestinal, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsella*, *Pneumoniae* y *Citrobacter*, porque comparten las características de la especie tipo del grupo, por lo que no necesariamente guardan una relación directa con la presencia de contaminación fecal y en consecuencia, tampoco con la presencia de patógenos entéricos (Muñoz *et al*, 1995).

En la actualidad los métodos tradicionales para la determinación de coliformes, pueden ser substituido por otros métodos, se han desarrollados ensayos enzimáticos para determinación de coliformes, Maier *et al*, (2000) menciona entre ellos, el sistema Colilert, empleando para ello enzimas que son producidas exclusivamente por el grupo Coliformes, como β -galactosidas que hidroliza el substrato orto-nitrofenol- β -D-galactopyranosidasa (ONPG) a amarillo nitrofenol. La *Escherichia coli* puede ser

detectada al mismo tiempo por la incorporación del sustrato fluorogénico, 4-metilumbilferonasa glucoronidasa (MUG) que produce una fluorescencia después de la interacción con la enzima β -glucoronidasa, exclusiva de la *Escherichia coli*, el producto final es detectado con una lámpara de luz ultravioleta. La determinación de los coliformes totales y *Escherichia coli*, se obtienen después de 24 horas de incubación, las muestras positivas se observan por una coloración amarilla y la *Escherichia coli* por una fluorescencia bajo la iluminación de una lámpara de luz UV en un cuarto oscuro, el reporte de resultado se expresa como el número más probable en 100 ml de muestra (NMP/100 ml) (Maier *et al*, 2000).

Otra innovación tecnológica para una determinación rápida y confiable, es el método SimPlate, la cual es usada para la detección y cuantificación de bacterias coliformes totales y *Escherichia coli* (CEc) mediante la detección de enzimas específicas, como β -galactosidasa (coliformes totales) y β -glucoronidasa (*Escherichia coli*), cuyo fundamento es similar al Colilert, los resultados obtenidos son expresados como NMP/ 100 ml. El medio SimPlate posee en su formulación propiedades nutricionales que correlacionan la presencia de microorganismos a actividades metabólicas específicas (Biocontrol, 2000), además los resultados obtenidos tienen un coeficiente de correlación con la Técnica NMP y el método SimPlate de 0.93 a 0.91, lo que indica que los valores obtenidos son confiables empleando esta última (Scott, 2000).

Las ventajas que presenta son a rápida detección de coliformes totales y *Escherichia coli*, obteniéndose resultados en 24 horas; la lectura de los resultados es directa empleando un método binario y no requieren de interpretaciones subjetivas como otros métodos; requiere de preparación previa para ser empleado, debido a que únicamente se resuspende el medio con agua destilada estéril; acorta los tiempos de trabajo; y el procedimiento para su uso es relativamente simple (Biocontrol, 2000).

2.3.4.2 *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens es relativamente aerotolerante, es inmóvil y posee una cápsula de naturaleza polisacáridica, se encuentra en el tracto intestinal de las personas y de los

animales y en la mayoría de los suelos, la temperatura ideal de crecimiento es de 43 a 45°C. Las formas vegetativas de los clostridios son sensibles a las condiciones adversas del medio y a los desinfectantes, por el contrario las endoesporas son resistentes a la desecación, al calor, a las radiaciones y a los desinfectantes (Biberstein, 1998).

En aguas naturales sin contaminación fecal, normalmente no se detecta la presencia de estos organismos ni en grandes volúmenes de muestra. La proporción de *Clostridium perfringens* respecto a otros indicadores fecales es muy reducida, incluso directamente en las heces por su número, está se compensa por su prolongada supervivencia (Pikes, 1978). La detección simultánea de coliformes y *Clostridium perfringens* constituye una clara evidencia del origen fecal de la contaminación. En cambio, la presencia exclusiva de *Clostridium perfringens* debe interpretarse como un indicio de contaminación fecal remota, con las posibilidades de una contaminación intermitente o lejana, que precisan una mayor frecuencia de muestreo (Muñoz *et al*, 1995).

El uso de *Clostridium perfringens* como un indicador de contaminación fecal en aguas residuales, ha tenido controversias subjetivas considerables, de hecho, este es raramente utilizado en los Estados Unidos. Sin embargo, diferentes publicaciones Europeas continúan recomendando el uso de *Clostridium perfringens* como un suplemento valioso para la determinación de exámenes de calidad (Jiang *et al*, 1995) tales como:

- ❖ El análisis de aguas cloradas y aguas residuales no tratadas contaminadas por residuos industriales, siendo estas letales para las bacterias no formadoras de esporas y que además las muestras tienen más de 12 horas de recolección (Bisson y Cabelli, 1978)
- ❖ La detección de contaminación remota en suelos y verificación de la calidad de los lodos provenientes de las aguas residuales y que son resuspendidos (Callebi, 1978).
- ❖ La evaluación de supervivencia de los diferentes indicadores de contaminación fecal, en muestras de aguas y aguas residuales, considerando que *Clostridium perfringens* tiene sobrevivencia en muestras de agua y agua residuales recuperados después de 500 días (Orangui y Duncan, 1983).

Jiang *et al*, (1995), recomienda que el uso de indicadores dependerá también de las

condiciones climáticas en que se encuentra una población, la presencia de coliformes fecales en climas tropicales no aseguran que sean bacterias de origen fecal, por esta razón el empleo adicional de indicadores fecales como *Streptococcus faecalis* y *Clostridium perfringens* pueden ser usados como un mejor indicador de contaminación fecal humana en aguas de origen tropical. Payment y Franco (1993), sugieren el empleo de Colifagos y *Clostridium perfringens* como indicadores de la eficiencia del tratamiento de aguas residuales. Además estos organismos pueden correlacionarse con la presencia de *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia* y virus entéricos humanos.

En la actualidad, las técnicas empleadas para la detección de esporas de *Clostridium perfringens* o la densidad de células vegetativas son: Clostridiometría y filtración por membrana filtrante. Las pruebas se basan en aprovechar la capacidad que tienen la mayoría de los esporulados anaeróbicos para producir sulfhídrico a partir de sulfato o sulfitos. Si además en el medio existen sales solubles de hierro o plomo, se acumulan sulfuros que lo ennegrecerán, característica típica del *Clostridium perfringens*. El rigor de las exigencias anaeróbicas son distintas en cada una de las especies de clostridios y se puede expresar como potencial de óxido-reducción (potencial redox, Eh) en milivoltios (Bisson y Cabelli, 1978).

A efectos prácticos, los indicadores de potencial redox (por ejemplo; el azul de metileno, la resazurina) son medidas apropiadas de las condiciones de cultivo de los anaerobios patógenos. La sangre o el suero favorecen su crecimiento. Un pH próximo a la neutralidad y la temperatura de 37°C son óptimos. El crecimiento generalmente se puede observar en un plazo de 1-2 días. Con frecuencia las colonias tienen una forma y contorno irregulares. Varios clostridios pululan a través de agar húmedos sin formar colonias. La mayoría de los clostridios son hemolíticos. En los medios líquidos, los clostridios crecen en presencia de aire con tal de que exista un agente reductor (trozos de carne cocida, tioglicolato), el crecimiento únicamente tiene lugar en reducidas porciones del medio. Otra característica típica de los cultivos de clostridios es el desprendimiento de olores desagradables debidos a productos del catabolismo de los péptidos, que constituye una forma de energía. La mayoría de los clostridios atacan los hidratos de carbono, proteínas, lípidos o los ácidos nucleicos (Murray *et al*, 1997).

La clostridiometría tiene como objetivo la detección y estimación de los esporulados anaerobios, incluyendo a *Clostridium perfringens*, el método tiene algunos inconvenientes, como la posibilidad de producir H₂S a partir de aminoácidos u otras fuentes distintas al sulfito recomendándose que las peptonas utilizadas en estos medios sean pobres en aminoácidos azufrados y libres de iones SO⁴⁻ (Murria *et al*, 1997).

El método de filtración por membrana filtrante utilizando un medio selectivo (mCp) y una incubación en anaerobiosis, puede ser empleado como un análisis de rutina de agua residuales para la determinación de *Clostridium perfringens*, para asegurar la presencia de estos microorganismos, se recomienda un choque térmico de 60° C durante 15 minutos Duncan (1983). Bisson y Cabelli (1978), sugieren una temperatura de 60°C-80°C durante 20 minutos. El proceso de anaerobiosis se lleva a cabo en atmósferas del 2 al 10 % de CO₂, mediante un dispositivo que se puede adquirir en el comercio (GasPak[®]). Los requerimientos nutricionales incluyen aminoácidos, hidratados de carbono y vitaminas, para el cultivo y recuento de *Clostridium perfringens*, el más recomendado es agar medio de cultivo mCP, el desarrollo de otros microorganismos es inhibido por el uso de D-cycloerina, sulfatos de polimixina B, y una temperatura de incubación de 45°C. Las características diferenciales, incluyen la fermentación de sacarosa, producción de ácido fosfatasa y la falta de actividad de la β-D-glucosidasa (Biberstein, 1998; Bisson y Cabelli, 1978).

III. MÉTODO

3.1 Descripción del área de estudio

Cd. Obregón, se localiza en el municipio de Cajeme, al sur del estado de Sonora en México, a los 27°20' de latitud norte y 109°55' de longitud oeste a 40 msnm. Se encuentra en la planicie costera del Valle del Yaqui. El clima es del tipo BS (h') que corresponde al tipo seco muy cálido y cálido, la temperatura media anual es de 24.4°C y la precipitación pluvial promedio es de 374.5 mm, la mayor intensidad de lluvias se presenta en los meses de julio y agosto con un promedio de 101 mm (CETENAL, 1982).

3.2 Localización de la zona de estudio

En el presente trabajo se establecieron tres sitios de muestreos para la recolección de agua residual, considerando aguas residuales sin tratar y tratadas, los sitios de muestreo son:

- ◆ Planta tratadora sur de aguas residuales.

- Influyente (agua sin tratar): conducto principal del agua residual hacia la laguna aireada llamado canal Parshall.
 - Efluente (agua tratada): conducto ubicado a la salida del estanque de cloración.
- ◆ Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Nainari.
- Agua residual (sin tratar): procedente del colector general que va hacia el alcantarillado publico.

3.3 Muestreos

3.3.1 Método de muestreo

El método de muestreo se realizó considerando las características particulares de cada sitio, las cuales fueron:

1.- Planta tratadora sur.

- Toma de muestra del influente: la parte media del caudal y una profundidad aproximadamente de un metro.
- Toma de muestra del efluente: la parte media del caudal y una profundidad aproximadamente de un metro.

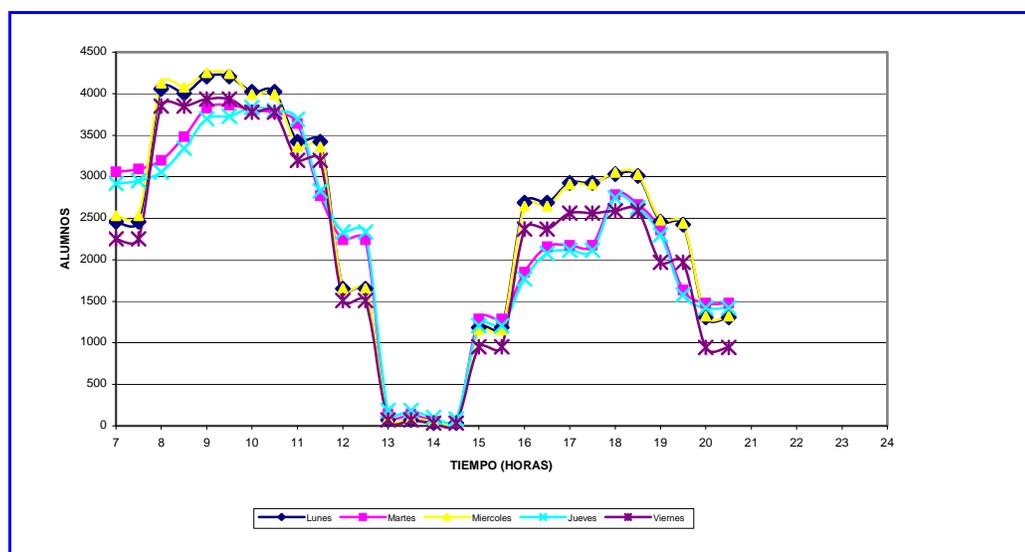
2.- ITSON, Unidad Nainari.

- Toma de muestra del colector general: se llevó acabo en el centro de la alcantarilla y la profundidad varió en función del flujo de agua residual.

3.3.2 Selección de la hora y frecuencia de muestreo

La hora de muestreo en la planta tratadora sur, fue entre 7:30 y 8:00 A.M. manteniéndose un flujo aproximadamente constante durante todos los días de la semana. Para el ITSON Unidad Náinari la selección de la hora, correspondió al mayor número de alumnos en

clases durante el semestre enero–junio del 2002, determinándose de 9:50 a 10:20 A.M. De igual manera la forma la frecuencia de muestreo se determinó en base a los días con mayor población estudiantil en una semana de clases, resultando los días lunes, miércoles y jueves como se muestra en la gráfica 1.



Gráfica 1. Variación de la población de los alumnos asistiendo a clases en la Unidad Náinari del ITSON.

El estudio se llevó a cabo del 6 de febrero al 9 de mayo del 2002, lo que representó un total de 34 muestreos, para cada uno de los tres tipos de aguas, citados anteriormente. El cuadro 1 representa el número de muestra, la fecha correspondiente y el día.

3.3.3 Volumen de muestra

El volumen de muestra tomado en la planta tratadora sur, tanto del influente como del efluente, fue de aproximadamente de un litro, mientras que para la Unidad Náinari el volumen tomado fue de 100 ml.

Cuadro 1. Frecuencia de muestreos correspondientes a la planta tratadora sur y al ITSON Unidad Náinari.

Número de muestra	Fecha	^a Día de la semana
1	06/02/02	3
2	11/02/02	1
3	13/02/02	3
4	14/02/02	4
5	18/02/02	1
6	20/02/02	3
7	21/02/02	4
8	25/02/02	1
9	27/02/02	3
10	28/02/02	4
11	04/03/02	1
12	06/03/02	3
13	07/03/02	4
14	11/03/02	1
15	13/03/02	3
16	14/03/02	4
17	18/03/02	1
18	01/04/02	1
19	03/04/02	3
20	04/04/02	4
21	08/04/02	1
22	10/04/02	3
23	11/04/02	4
24	15/04/02	1
25	17/04/02	3
26	18/04/02	4
27	22/04/02	1
28	24/04/02	3
29	25/04/02	4
30	29/04/02	1
31	02/05/02	4
32	06/05/02	1
33	08/05/02	3
34	09/05/02	4

^a El número corresponde a un día de la semana; lunes (1) martes (2), miércoles (3), jueves (4) y viernes (5)

3.3.4 Conservación y transportación de muestras

Los frascos se conservaron en una hielera con una temperatura aproximada de 4°C y fue transportado al laboratorio de Ecodesarrollo de la Dirección de Investigación y Estudios de Posgrado del Instituto Tecnológico de Sonora, donde se realizaron los análisis microbiológicos en un lapso no mayor de 6 horas una vez recolectados los muestreos.

3.4 Técnicas de análisis

3.4.1 Análisis físicos: pH y temperatura

Para la determinación de temperatura, se empleó un termómetro con bulbo de mercurio y con una graduación de décimas de grado centígrado. El procedimiento se realizó sumergiendo el termómetro en la parte media del recipiente, con aproximadamente 100 ml de muestra (la determinación de temperatura se realizó en el sitio de muestreo).

En la determinación de pH, se empleó un potenciómetro (Marca Corning). El procedimiento, consistió en una calibración con tres soluciones estándar, correspondientes a 4.0, 7.0 y 10.0 unidades de pH; una vez calibrado se procedió a determinar el pH de la muestra.

3.4.2 Análisis microbiológicos

3.4.2.1 Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*

Se empleó el método SimPlate descrito por Scoot (2000) y en base al siguiente procedimiento:

1. Se prepararon diluciones 1:10 tomando de esta 1 ml (muestra problema). Las diluciones realizadas fueron:
 - a. Muestra influente: dilución 10^{-3}

- b. Muestra efluente: No requirió de dilución, para este caso se adicionó directamente 10 ml de muestra al medio de cultivo.
 - c. Muestra Unidad Náinari: dilución 10^{-3}
2. En un área estéril, se adicionó al medio de cultivo 9 ml de agua destilada estéril y 1 ml de muestra problema hasta completar un volumen final de 10 ml se homogenizo por un minuto (agitación mecánica).
3. La solución se colocó en una charola que contiene 84 pozos, asegurándose que están perfectamente cubiertos con el medio de cultivo y libre de burbujas, el exceso de medio fue eliminado mediante una ligera inclinación de la charola hacia la esponja, para eliminar el excedente del medio de cultivo.
4. Se incubó a $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Posteriormente se leyeron los pozos positivos (figura 1), los cuales presentan una coloración roja, indicativo de coliformes totales, la presencia de coliformes fecales (*Escherichia coli*) se observó mediante fosforescencia con luz ultravioleta en un cuarto oscuro.
5. Finalmente la concentración de coliformes totales y fecales, fue estimada a partir del número de pozos positivos, mediante el uso de la tabla 7. Una vez considerada las diluciones realizadas para cada muestra, la concentración se expreso en número más probable por ml (NMP/ml).



Figura 1. Coloración en los pozos positivos para la diferenciación de coliformes.

Tabla 7. Rango normal de conversión (RNC) del método SimPlate.

Pozos positivos = NMP / ml	Pozos positivos = NMP / ml	Pozos positivos = NMP / ml
1 = 2	29 = 70	57 = 190
2 = 4	30 = 74	58 = 196
3 = 6	31 = 76	59 = 202
4 = 8	32 = 80	60 = 208
5 = 10	33 = 84	61 = 216
6 = 12	34 = 86	62 = 224
7 = 14	35 = 90	63 = 232
8 = 16	36 = 94	64 = 240
9 = 18	37 = 96	65 = 248
10 = 22	38 = 100	66 = 256
11 = 24	39 = 104	67 = 266
12 = 26	40 = 108	68 = 276
13 = 28	41 = 112	69 = 288
14 = 30	42 = 116	70 = 298
15 = 32	43 = 120	71 = 312
16 = 36	44 = 124	72 = 324
17 = 38	45 = 128	73 = 348
18 = 40	46 = 132	74 = 354
19 = 42	47 = 136	75 = 372
20 = 46	48 = 142	76 = 392
21 = 48	49 = 146	77 = 414
22 = 50	50 = 150	78 = 440
23 = 54	51 = 156	79 = 470
24 = 56	52 = 160	80 = 508
25 = 58	53 = 166	81 = 556
26 = 62	54 = 172	82 = 624
27 = 64	55 = 178	83 = 738
28 = 68	56 = 184	84 = >738

* Si los pozos son negativos y la esponja es positiva entonces se reporta < 2

3.4.2.2 Determinación de *Clostridium perfringens*

El método de filtración por membrana filtrante, consistió en la utilización del equipo millipore y el medio de cultivo mCP, el procedimiento fue el siguiente (Duncan, 1983).

1. Se prepararon cajas petri con medio de cultivo mCP.
2. Se realizaron diluciones en las tres muestras (10^{-1}).
3. El método de filtración se llevó a cabo en área estéril.
4. Se montó y desinfecto con alcohol al equipo millipore.
5. Se colocó el filtro de membrana en el porta filtro y se le adicionó 3 ml de agua estéril.
6. Posteriormente se adicionó un ml de muestra. Se filtró y colocó en las placas de cultivo.

7. Se incubó por 24 horas en anaerobiosis a una temperatura de $44 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ y se contaron las colonias con coloración rosa, reportándose como unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml). El procedimiento se puede observar en la figura 2.

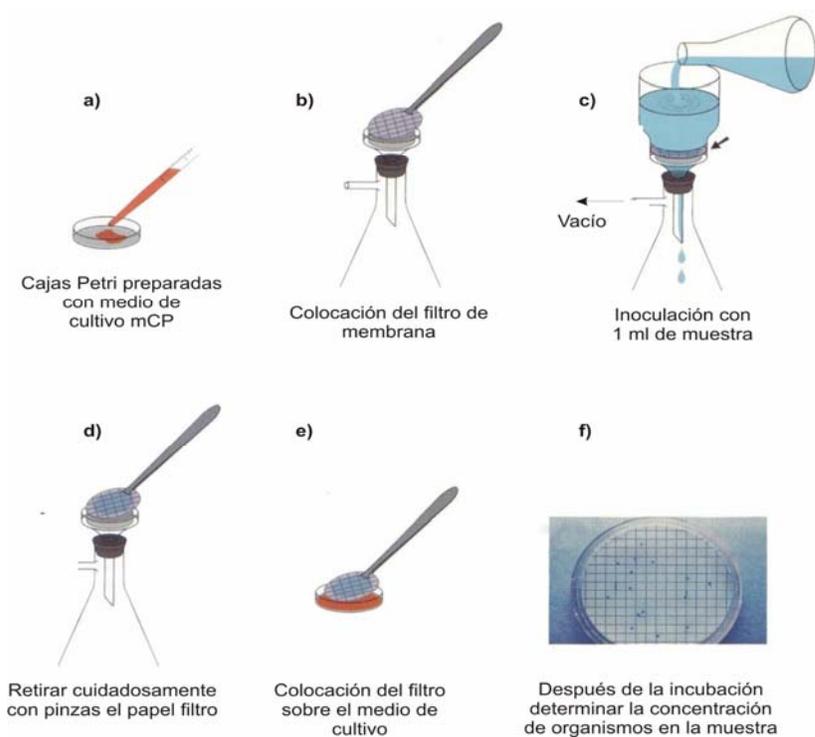


Figura 2. Técnica de *Clostridium perfringens*.

3.5 Análisis de los resultados

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante una regresión lineal, un análisis de correlación y un análisis de variancia, auxiliándose para ello con un programa estadístico denominado SYSTAC versión nueve,. Presentando a continuación el resumen de los criterios citado por Berenson y Levine (1996):

- ❖ Regresión lineal: es una técnica estadística cuyo objetivo es analizar que tanto una serie de datos de una variable dependiente y una variable independiente, se ajusta a una línea recta.

- Una R^2 de 0.50 a 1.0 se juzga como satisfactorio para explicar la variación observada en las variables dependientes.
 - Una R^2 de 0.50 a 0.25 es de utilidad para explicar la variación observada.
 - Una $R^2 \leq 0.25$ es de poca utilidad para explicar la variación observada.
- ❖ Análisis de correlación: tiene como objetivo medir la fuerza de una relación entre variables. El coeficiente de correlación (R) es la medida de la fuerza relativa de la relación lineal entre dos variables.
- Una $R \geq 0.8$ es una relación alta entre las variables.
 - Una R de 0.4 a 0.8 es una relación moderada y tendiente a alta.
 - Una $R < 0.4$ es una relación insignificante.
- ❖ Análisis de varianza (ANOVA): consiste en analizar las diferencias entre las medias de los grupos, se puede atribuir a diferencias entre grupos o dentro de los grupos, y determina el error producido entre estos dos aspectos, mediante el empleo de la estimación estadística (p) cuyo valor debe ser menor de 0.05 para considerarse significativo.

V. CONCLUSIONES

En base a la remoción tanto de coliformes totales (97%), *Escherichia coli* (99%) como *Clostridium perfringens* (33%) de la planta tratadora sur (influyente y efluente). Se puede sugerir que *Clostridium perfringens* es más resistente al tratamiento biológico con desinfección, lo cual sugiere que este organismo puede emplearse como un indicador de otros organismos igualmente resistentes, como parásitos (*Cryposporidium* Y *Giardia*) y *Entamoeba*.

En la unidad Náinari la presencia de *Clostridium perfringens* es de origen fecal y también puede considerarse la presencia de otros organismos patógenos diferentes del grupo coliforme.

En las aguas residuales procedentes de la planta tratadora sur y la unidad Náinari a pesar que los coliformes totales y *Escherichia coli* se encontraron dentro de las normas oficiales mexicanas, la presencia de *Clostridium perfringens* se mantuvo en una concentración de 4 a 5 log₁₀ UFC/100 ml en las diferentes aguas residuales, lo que indica que la sobrevivencia es mayor y la presencia de otros patógenos emergentes no puede ser considerada como ausentes.

Finalmente la presencia de *Clostridium perfringens* en las aguas residuales de la planta tratadora sur y la unidad Náinari, no presentó ninguna relación estadística con la temperatura, pH, coliformes totales y *Escherichia coli*, pero su presencia en las diferentes aguas demostró sus cualidades como un buen indicador para aguas residuales, en comparación con los coliformes totales y *Escherichia coli*.

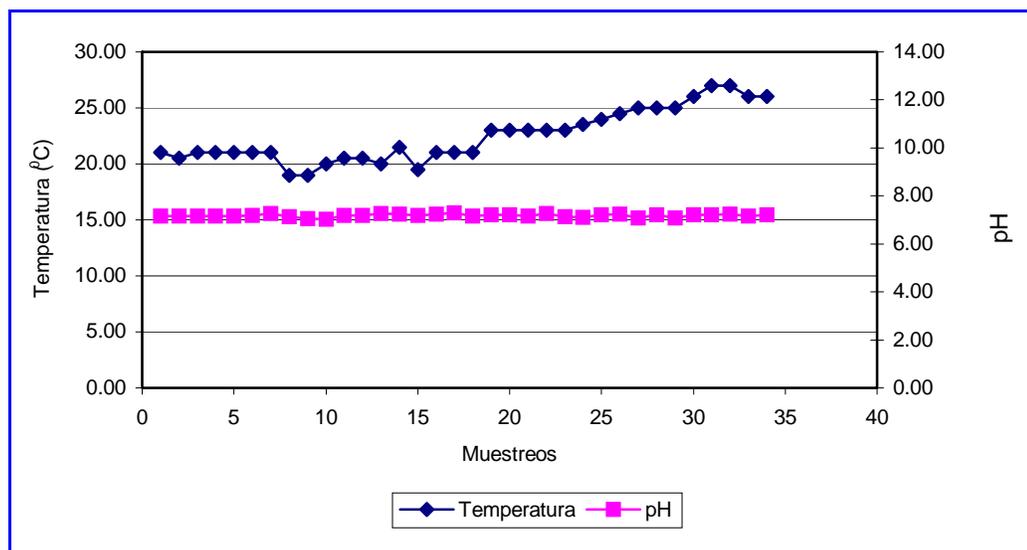
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los tres sitios de muestreos de aguas residuales, siendo estos, los correspondientes al influente y efluente de la planta tratadora sur y el colector general de la Unidad Náinari.

4.1 Planta tratadora sur (PTS): influente y efluente

4.1.1 Análisis de temperatura y pH

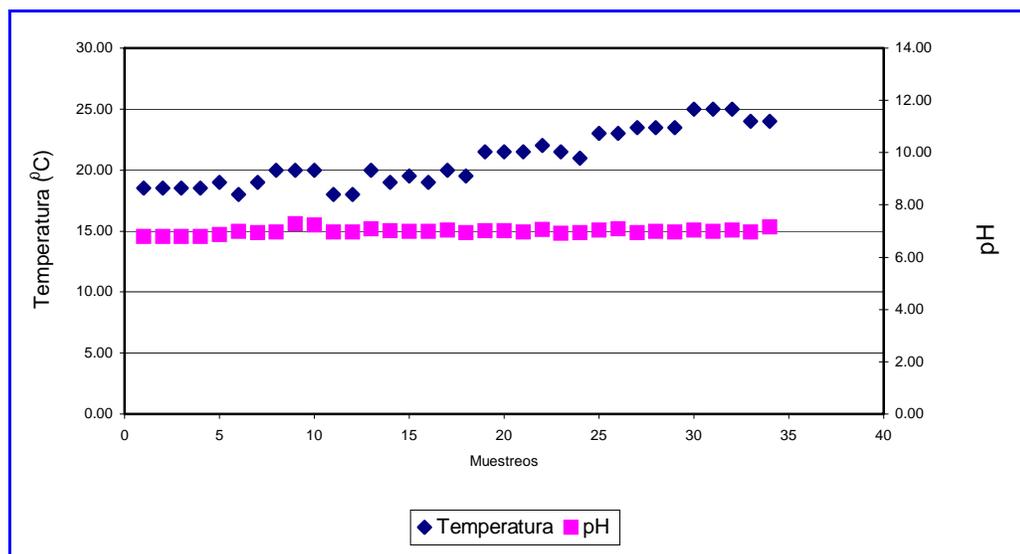
La gráfica 2 muestra la variación de la temperatura y pH de los muestreos provenientes del influente de la PTS, como se observa los rangos de temperaturas aumentan conforme se van acercando los días más calurosos. Las temperaturas obtenidas se encontraron entre 19°C y 27°C, con un promedio aritmético de 22.5°C. Por lo que respecta al pH, se observó que se mantuvo constante durante todo el muestreo, presentando un promedio aritmético de 7.18 unidades de pH.



Gráfica 2. Variación de la temperatura y pH en función de los muestreos procedentes del influente de la PTS.

La gráfica 3 muestra las variaciones de temperatura y pH provenientes del efluente de la PTS, las temperaturas aumentan progresivamente, presentando las mismas características del influente, debido posiblemente a las condiciones climáticas (Metcalf y Eddy, 1996). En general las temperaturas se encontraron entre 18.50°C y 25°C, con un promedio aritmético de 20.93°C. Así mismo, el pH no mostró variaciones durante los 34 muestreos realizados, manteniendo un promedio aritmético de 6.99 unidades de pH.

Los resultados obtenidos de la determinación de pH, tanto del influente como efluente, presentaron un promedio aritmético de 7.18 y 6.99 unidades de pH respectivamente. De acuerdo a la NOM 001 y 002 se mantuvieron dentro de los parámetros establecidos, siendo de 5-10 unidades de pH, desde este punto de vista los dos sitios de muestreo cumplieron con las especificaciones que la norma establece. Además las temperaturas obtenidas tanto del influente como del efluente cumplieron con las especificaciones de la NOM 001 y la NOM 002, que establece como límite máximo una temperatura de 40°C.



Gráfica 3. Variación de la temperatura y pH en función de los muestreos procedentes del efluente de la PTS.

4.1.2 Análisis microbiológico

4.1.2.1 Determinación de coliformes totales

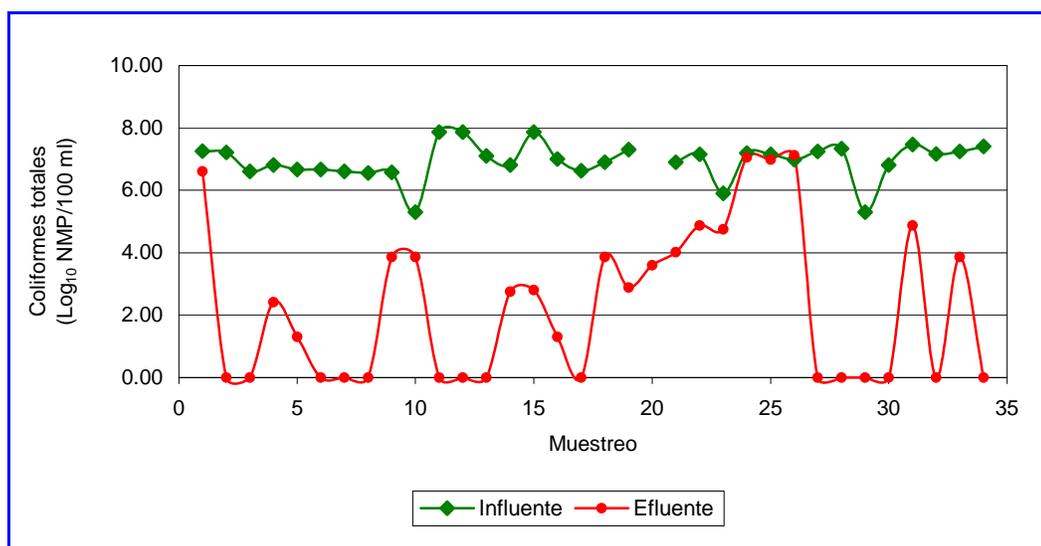
Las concentraciones de coliformes totales registrados en el influente de la planta tratadora sur (PTS) siguió una variación en cada muestreo como aparece en la gráfica 4. Se pudo observar en general que la concentración de microorganismos se mantuvo aproximadamente en 7 (\log_{10}), mostrándose también tres puntas con una concentración máxima de 8 (\log_{10}), una sola punta con una concentración de 6 (\log_{10}) y 2 con una concentración de 5 (\log_{10}); la amplia variación en los intervalos de valores es característica de los ensayos con aguas residuales, aunque depende también del tamaño de la comunidad y de las actividades económicas (Metcalf y Eddy, 1996).

La presencia de coliformes totales mantuvo un promedio geométrico de 6.91 (\log_{10}) y se encuentra dentro del rango indicado por Maier *et al*, (2000), cuyo valor estimado para la presencia de coliformes totales empleado como un indicador de calidad del agua residual sin tratar es de 7 \log_{10} – 9 \log_{10} por 100 ml. Este valor se encuentra en el límite inferior. La

presencia de éstos nos indica únicamente una estimación de la contaminación de origen fecal (entre los que se incluyen patógenos para el hombre) (Metcalf y Eddy, 1996). La presencia de coliformes totales en el efluente puede observarse en la gráfica 4, la variación que presentó en la concentración de coliformes totales se encontró entre los valores de 0 (\log_{10}) que represento el límite de detección de la técnica y la concentración máxima de 7 (\log_{10}).

En general la presencia de coliformes totales en el efluente presentó un promedio geométrico de 2 (\log_{10}). En base al promedio obtenido del influente la remoción de coliformes totales se encontró en un 97 %, lo que indica que el grupo coliformes es sensible a los tratamientos biológicos y con desinfección (cloración).

Sin embargo esto no implica la eliminación de otros organismos patógenos tales como *Giardia*, huevos de helmintos, enterovirus, etc., por lo que el empleo de coliformes totales como un indicador no es el adecuado en aguas residuales (Metcalf y Eddy, 1996). Aunque las Normas Oficiales Mexicanas no lo contempla como un indicador de calidad en aguas residuales.



Gráfica 4. Comportamiento de los coliformes totales procedentes del influente y efluente de la PTS.

4.1.2.2 Determinación de *Escherichia coli*

La presencia de *Escherichia coli* en el influente de la PTS, mantiene una relación estrecha con la presencia de coliformes totales como puede observarse en el cuadro 2. Los resultados indicaron que el 64% de las muestras mantuvieron un valor menor a un logaritmo con respecto a los coliformes totales y la presencia de *Escherichia coli* es predominante, un 33% indicó que la presencia de *Escherichia coli* se encontró en una proporción menor de 1 a 2 log₁₀ en comparación a los coliformes totales y solo un 3% correspondió a muestreos los cuales no se pudo realizar.

Cuadro 2. Concentración de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* del influente y efluente de la PTS.

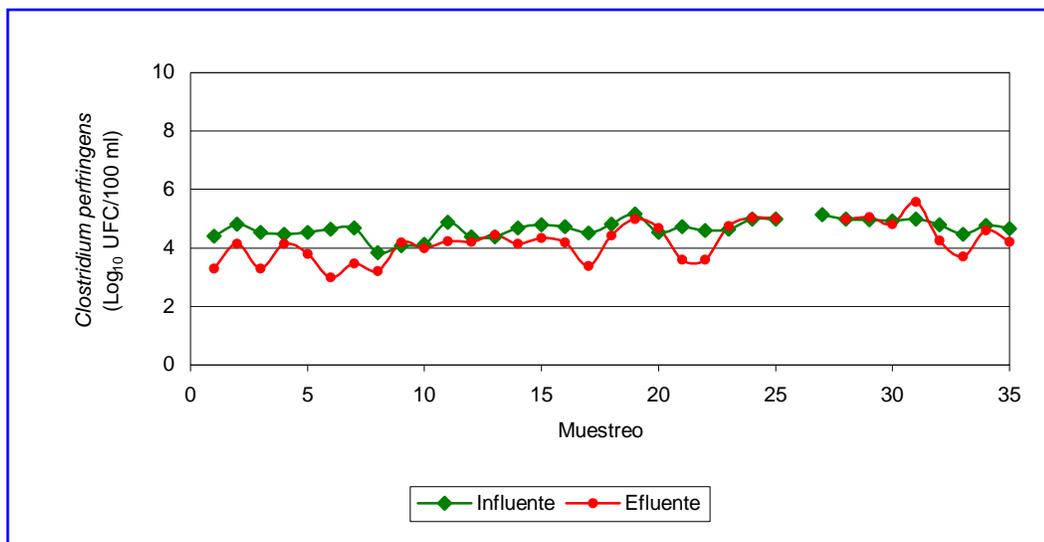
Total de Muestras (%)	INFLUENTE Coliformes totales (log ₁₀ NMP/100 ml)	INFLUENTE <i>E. coli</i> (log ₁₀ NMP/100 ml)	Total de Muestras (%)	EFLUENTE Coliformes totales (log ₁₀ NMP/100 ml)	EFLUENTE <i>E. coli</i> (log ₁₀ NMP/100 ml)	Total de Muestras (%)	INFLUENTE <i>Clostridium perfringens</i> (log ₁₀ UFC/100 ml)	EFLUENTE <i>Clostridium perfringens</i> (log ₁₀ UFC/100 ml)
64%	7.26	7.26	41%	6.60	6.60	23%	4.82	3.30
	7.22	7.09		2.41	1.78		4.54	4.14
	6.81	6.70		1.30	1.30		4.54	3.30
	6.66	6.66		3.87	3.87		4.64	4.14
	6.66	6.20		3.87	3.87		4.68	3.81
	5.30	5.30		1.30	1.30		4.88	3.00
	7.11	7.08		3.87	3.87		4.69	3.48
	7.87	7.87		2.88	2.68		4.79	3.20
	7.87	6.76		4.02	3.81		4.73	4.09
	7.00	6.75		4.87	4.87		4.51	3.99
	6.90	7.11	4.75	4.45	4.83		4.23	
	7.31	6.73	7.05	6.90	5.17		4.04	
	6.90	7.00	4.87	4.87	4.53		4.45	
	7.15	7.05	3.87	3.87	4.72		4.15	
	7.19	6.66	44%	Límite de detección	Límite de detección		4.60	4.35
	6.98	6.83					4.63	4.19
	7.25	7.20					4.99	3.38
	7.33	7.15					4.99	4.41
	7.47	7.02					5.13	4.99
	7.16	7.03					5.00	4.68
7.25	7.15	4.98				3.70		
7.41	4.92	4.93				3.60		
		4.98				4.64		
		4.79				5.33		
33%	6.60	6.30	15%	2.75	2.34	3%	4.40	5.05
	6.66	6.20					4.48	4.82
	6.60	5.60					3.85	5.56
	6.58	6.20					4.08	4.26
	6.62	6.48					4.11	3.70
	7.19	7.05					4.38	4.60
	7.15	6.08					4.38	4.23
	6.81 ≈ 7	6.34 ≈ 6					4.46	
6.56 ≈ 7	5.30 ≈ 5							
7.87 ≈ 8	5.75 ≈ 6							
5.90 ≈ 6	5.30 ≈ 5							
3%	No se determino	No se determino				3%	No se determino	
100%	Promedio geométrico 6.90	Promedio geométrico 6.55	100%	Promedio geométrico 2.09	Promedio geométrico 2.02	100%	Promedio geométrico 4.67	Promedio geométrico 4.19

La presencia de *Escherichia coli* en el influente nos indicó contaminación de origen fecal y al mismo tiempo la presencia de patógenos tales como *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus faecalis* y *Clostridium perfringens*, siendo estos habitantes normales del intestino grueso del hombre (Muñoz *et al*,1995).

El efluente de la PTS, presentó resultados similares a los obtenidos en el influente, el cuadro 2 indica que el 41% de los muestreos el predominio es *Escherichia coli*, el 44% son límite de detección de la técnica, un 15% del muestreo son menores de $1 \log_{10}$ con relación a los coliformes totales. Por lo tanto, la presencia de *Escherichia coli* procedente del efluente ($2.21 \log_{10}$) es menor en comparación con el influente ($6.59 \log_{10}$), la disminución de la concentración nos indica una remoción del 99% de *Escherichia coli* únicamente como resultado de un tratamiento biológico seguido de una desinfección. Sin embargo, el problema actual relacionado con la reducción de microorganismos en las plantas tratadoras de aguas residuales es la remoción de los patógenos entéricos emergentes y la aplicación de nuevas tecnologías para la remoción de estos patógenos.

4.1.2.3 Determinación de *Clostridium perfringens*

La gráfica 5 representa el comportamiento del *Clostridium perfringens* tanto del influente y efluente procedente de la PTS. El influente presentó una variación de $4 \log_{10}$ a $5 \log_{10}$ UFC/100 ml, un 3% correspondió a muestreos los cuales no se pudo realizar, el 74% de los muestreos reportaron una concentración aproximada de $5 \log_{10}$, un 23% de los muestreos presentaron una concentración alrededor de $4 \log_{10}$ y una media geométrica de $4.67 \log_{10}$ (UFC/ 100 ml), de acuerdo a Maier *et al*, (2000) la media geométrica representó el nivel estimado de *Clostridium perfringens* presente en un agua residual sin tratar y por lo tanto también pueden encontrarse otros organismos diferentes a los coliformes (*Enterococcus*, *Shigella*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, Enterovirus, Huevos de helminto) siendo éstos organismos típicos de un agua residual (Metcalf y Eddy,1996).



Gráfica 5. Comportamiento de *Clostridium perfringens* en aguas residuales procedentes del influente y efluente de la PTS.

El efluente de la PTS, mostró una variación de concentración del *Clostridium perfringens* entre 3 log₁₀ a 4.5 log₁₀, del muestreo 1 al 18; por debajo de 5 log₁₀ del muestreo 21 al 23 y del 32 al 34 y la concentración de se mantuvo en 5 log₁₀ del muestreo 24 al 32; como pudo observarse en el la disminución es muy poca comparada entre el influente y el efluente, obteniéndose 33% de remoción, la presencia de *Clostridium perfringens* después de un proceso biológico y desinfección con cloro, confirma el hecho que este puede ser utilizado como un indicador para aguas residuales, siendo una de sus características la resistencia a estos procesos de tratamiento.

Es importante reconsiderar los valores obtenidos en la remoción de coliformes totales (97%) y los obtenidos de *Escherichia coli* (99%) demostrando con ello la reducción de coliformes pero no una reducción significativa de *Clostridium perfringens* (33%) como puede observarse en el cuadro 3; Maier *et al*, (2000) cita que la remoción del grupo coliformes no constituye una seguridad para la eliminación de patógenos emergentes.

Cuadro 3. Remoción de Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* del influentes y efluente

Influente coliformes totales (log ₁₀ NMP/100 ml)	Efluente coliformes totales (log ₁₀ NMP/100 ml)	% remoción	Influente <i>E. coli</i> (log ₁₀ NMP/100 ml)	Efluente <i>E. coli</i> (log ₁₀ NMP/100 ml)	% remoción	Influente <i>C. perfringens</i> (log ₁₀ UFC/100 ml)	Efluente <i>C. perfringens</i> (log ₁₀ UFC/100 ml)	% remoción
7.26	6.60	91	7.26	6.60	91	4.40	3.30	39
7.22	0.00	100	7.09	0.00	100	4.82	4.14	32
6.60	0.00	100	6.30	0.00	100	4.54	3.30	28
6.81	2.41	65	6.70	1.78	73	4.48	4.14	33
6.66	1.30	80	7.20	1.30	82	4.54	3.81	37
6.66	0.00	100	6.20	0.00	100	4.64	3.00	25
6.60	0.00	100	5.60	0.00	100	4.68	3.48	16
6.56	0.00	100	5.30	0.00	100	3.85	3.20	27
6.58	3.87	59	6.20	1.87	70	4.18	4.09	33
5.30	3.87	73	5.30	3.87	73	4.11	3.99	22
7.87	0.00	100	5.75	0.00	100	4.88	4.23	15
7.87	0.00	100	7.87	0.00	100	4.38	4.04	44
7.11	0.00	100	7.08	0.00	100	4.45	4.45	37
6.81	2.88	58	6.26	2.34	63	4.69	4.15	25
7.87	2.88	63	7.87	2.41	69	4.79	4.35	39
7.00	1.30	81	6.76	1.30	81	4.73	4.19	30
6.62	0.00	100	6.48	0.00	100	4.51	3.38	30
6.90	3.87	56	6.75	3.87	57	4.83	4.41	28
7.31	2.88	61	7.11	2.68	62	5.17	4.99	27
	3.87			3.30		4.68	4.68	100
6.90	4.87	71	6.73	3.81	57	4.72	3.70	30
7.15	4.87	68	7.00	4.87	70	4.60	3.60	34
7.05	5.90	84	5.30	4.45	84	4.74	4.64	11
7.19	7.05	98	7.05	6.90	98	5.03	5.33	29
7.15	7.05	100	6.08	5.90	97	5.01	5.09	18
7.12	0.00	100	6.98	6.66	95			
7.25	0.00	100	6.83	0.00	100	5.03	4.97	26
7.33	0.00	100	7.20	0.00	100	5.03	5.00	30
5.31	4.87	92	4.92	0.00	100	5.49	5.05	12
6.81	0.00	100	6.34	0.00	100	4.93	4.82	22
7.47	3.87	52	7.15	0.00	100	5.56	5.56	22
7.16	0.00	100	7.02	4.92	70	4.79	4.26	32
7.25	3.87	53	7.03	0.00	100	4.46	3.70	37
7.41	0.00	100	7.15	4.45	62	4.78	4.60	33
6.90	2.09	97	6.55	2.02	99	4.67	4.23	33
Promedio geométrico 6.90	Promedio geométrico 2.09	Promedio remoción 97	Promedio geométrico 6.55	Promedio geométrico 2.02	Promedio remoción 99	Promedio geométrico 4.67	Promedio geométrico 4.16	Promedio remoción 33

La tabla 8 muestra la supervivencia de organismos patógenos después de un proceso biológico con desinfección y presentando una remoción significativa del grupo coliforme, estos valores sugieren el hecho que la utilización de los indicadores convencionales no constituyen de ninguna forma una seguridad y por lo tanto la utilización de *Clostridium perfringens* puede ser una nueva alternativa para los controles de calidad del agua residual tratada.

Tabla 8. Remoción de patógenos y microorganismos indicadores en aguas residuales.

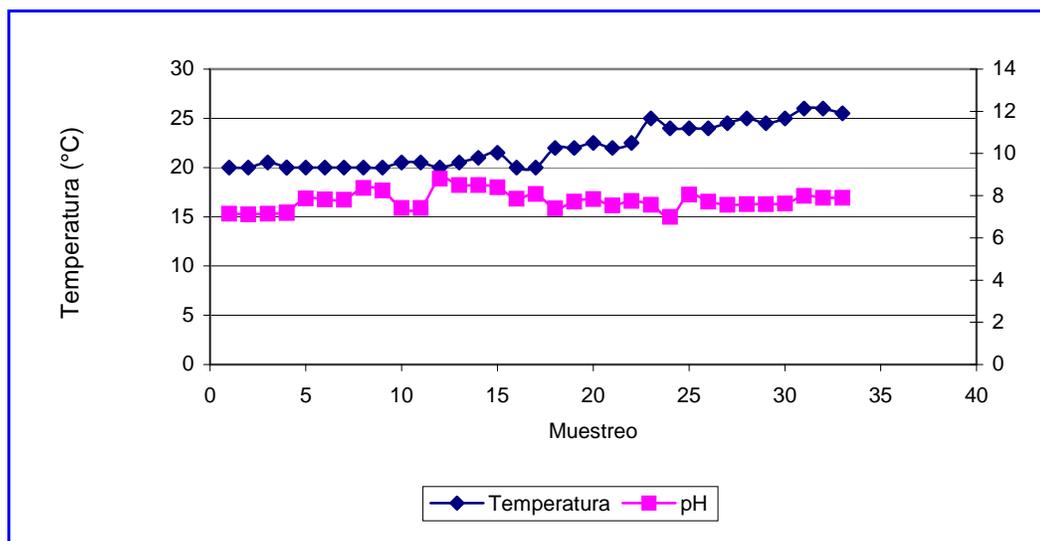
Microorganismos	Porcentaje
Coliformes totales (NMP/100 ml)	98.3
Coliformes fecales (NMP/100 ml)	99.1
Colifagos 15597 (UFC / ml)	82.1
Enterovirus (UFC /100 ml)	98.0
<i>Giardia</i> (Quiste/ 100 l)	93.0
<i>Cryptosporidium</i> (0 Quistes/ 100 l)	92.8

Modificado de Maier *et al*,2000

4.2 Colector general del ITSON Unidad Náinari

4.2.1 Análisis de temperatura y pH

La gráfica 6 muestra la variación de la temperatura y pH de los 34 muestreos realizados en el ITSON Unidad Náinari, como pudo observarse los rangos de temperatura aumentaron conforme se van acercando los días más calurosos. Las temperaturas obtenidas se encontraron entre 20 – 26°C, con un promedio geométrico de 22.0°C en los 34 muestreos. Al igual que el influente y efluente de la planta tratadora, la unidad Náinari se encontró dentro de los límites establecidos por NOM 001 y 002.



Gráfica 6. Variación de la temperatura y pH en función de los muestreos procedente del ITSON Unidad Náinari.

El análisis de pH presentó una variación entre un promedio geométrico de 7.7 unidades de pH, de acuerdo a la NOM 001 y 002 se mantuvo dentro de los parámetros establecidos, siendo de 5 -10 unidades de pH, desde este punto de vista los dos sitios de muestreo cumplieron con las especificaciones que la norma establece.

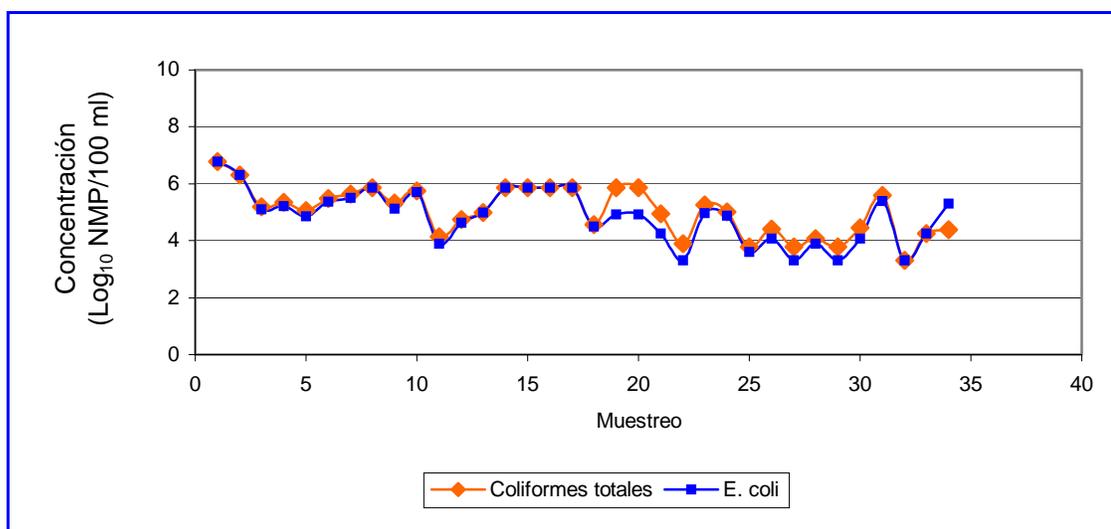
4.2.2 Análisis microbiológico

4.2.2.1 Determinación de coliformes totales

La gráfica 7 muestra el comportamiento de los coliformes totales y *Escherichia coli* en aguas residuales procedentes de la unidad Náinari, en los coliformes totales como pudo observarse, la concentración se encontró de 4 – 6 log₁₀, la media aritmética de la concentración de coliformes totales es de 4.96 log₁₀, siendo está el límite mínimo de la presencia de estos organismos en aguas residuales urbanas sin tratar, por lo tanto, no se descarta la presencia de otros patógenos de origen fecal, tal como cita Maier *et al*, (2000).

La presencia de coliformes totales únicamente puede dar idea de la posible presencia de contaminación de origen fecal, pero no podemos confirmar que la presencia sea de

patógenos especialmente de *Escherichia coli*. Por ello, la determinación de coliformes totales como un indicador microbiológico en aguas residuales no es de gran utilidad para evaluar la calidad del agua residual, se recomienda el empleo de otros indicadores como *Clostridium perfringens* para estos casos (Maier *et al*, 2000).



Gráfica 7. Comportamiento de la concentración de los coliformes totales y *Escherichia coli* en aguas residuales procedentes de la unidad Náinari.

4.2.2.2 Determinación de *Escherichia coli*

La gráfica 7 muestra la variación de *Escherichia coli* de las aguas residuales procedentes de la unidad Náinari, como pudo observarse se mantuvo en una concentración de 4 log₁₀ a 6 log₁₀, presentando un promedio geométrico de 4.76 log₁₀ en los muestreos.

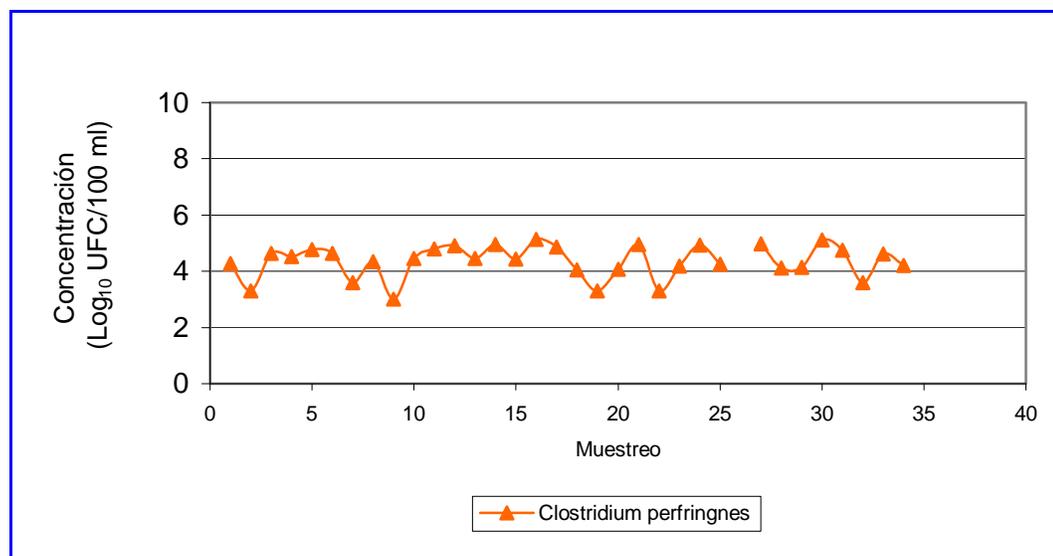
En general la mayor proporción presente de este microorganismo es de un 96% comparada con la presencia de coliformes totales (4%), confirmándose contaminación de origen fecal y la posible presencia de otros organismos patógenos (Metcalf y Eddy, 1996).

4.2.2.3 Determinación de *Clostridium perfringens*

La presencia de *Clostridium perfringens* es constante en los diferentes muestreos en la gráfica 8, se observó las variaciones entre 3 – 5 log₁₀, esto pudo deberse por la presencia de una población estudiantil aproximada de 4500 alumnos, Biberstein (1998), cita que las concentraciones presentes de *Clostridium perfringens* en humanos se mantiene en una concentración de 1.58X10⁷ UFC/100 ml, por lo cual la presencia de este organismos en las aguas residuales de la Unidad Náinari puede deberse al aporte de material fecal de la población universitaria estudiantil.

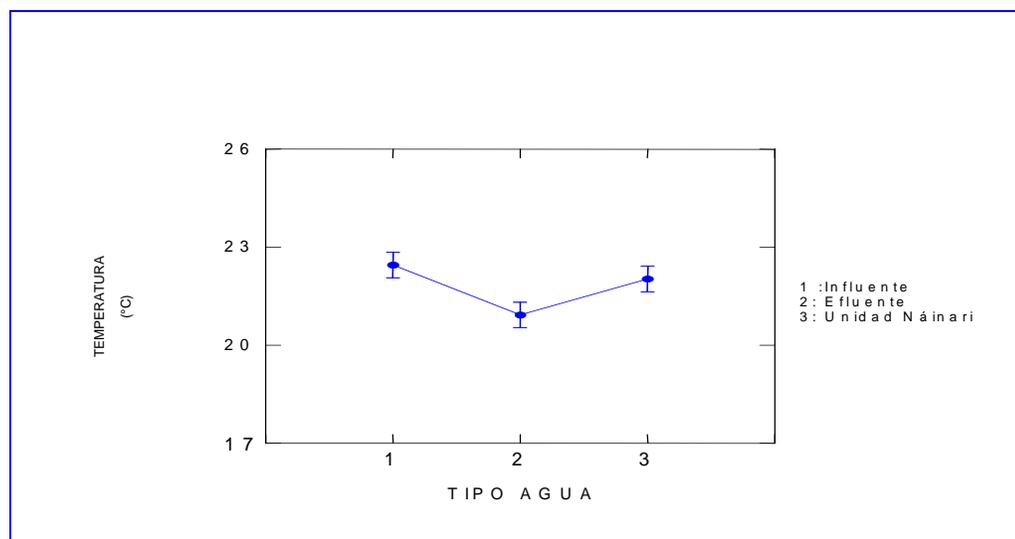
4.3 Análisis del influente, efluente y unidad Náinari en función de temperatura y pH

Los resultados obtenidos de temperatura tanto del influente (1), efluente (2) y unidad Náinari (3), tal como puede observarse en la gráfica 9, mostró una tendencia de mayor a menor en el siguiente orden: influente, unidad Náinari y efluente, sin embargo el análisis estadístico reportó que no hay una diferencia significativa entre los tres tipos de aguas, cuyos resultados son: análisis regresión (R=0.075), análisis de correlación (R²=0.075) y análisis de varianza (p=0.059).



Gráfica 8. Comportamiento de *Clostridium perfringens* en aguas residuales procedentes del ITSON Unidad Náinari.

El análisis del influente, efluente y unidad Náinari en función de pH, reportó que los análisis estadísticos de regresión lineal ($R=0.607$), correlación ($R^2=0.562$) y el análisis de varianza ($p=0.069$) no mostraron ninguna relación, correlación ni significancia.



Gráfica 9. Comportamiento del tipo de agua residual en función de la temperatura.

4.4 Análisis del comportamiento del *Clostridium perfringens*

4.4.1 En función de temperatura y pH

El comportamiento de *Clostridium perfringens* en función de temperatura y pH reportó que no presentó regresión lineal ni una correlación, tal como se muestra en el cuadro 4 y 5, sin embargo, el análisis de varianza reportó que hay una significancia con respecto a la temperatura, Maier *et al*, (2000) cita que la temperatura puede afectar la sobrevivencia de los coliformes totales y *Escherichia coli*, sin embargo *Clostridium perfringens* sobrevive en condiciones adversas al medio ambiente y por lo tanto la presencia de otros organismos patógenos puede estar presente.

Cuadro 4. Análisis estadísticos de temperatura procedentes del influente, efluente y unidad Náinari.

temperatura	Coliformes totales			<i>E. Coli</i>			<i>Clostridium perfringens</i>		
	I	E	UN	I	E	UN	I	E	UN
Regresión lineal (R^2)	0.013	0.021	0.419	0.017	0.023	0.648	0.357	0.423	0.591
Análisis de correlación (R)	0.125	0.146	0.648	0.125	0.017	0.591	0.392	0.675	0.083
Análisis de varianza (p)	0.295	0.009	0.013	0.684	0.017	0.006	0.001	0.045	0.181

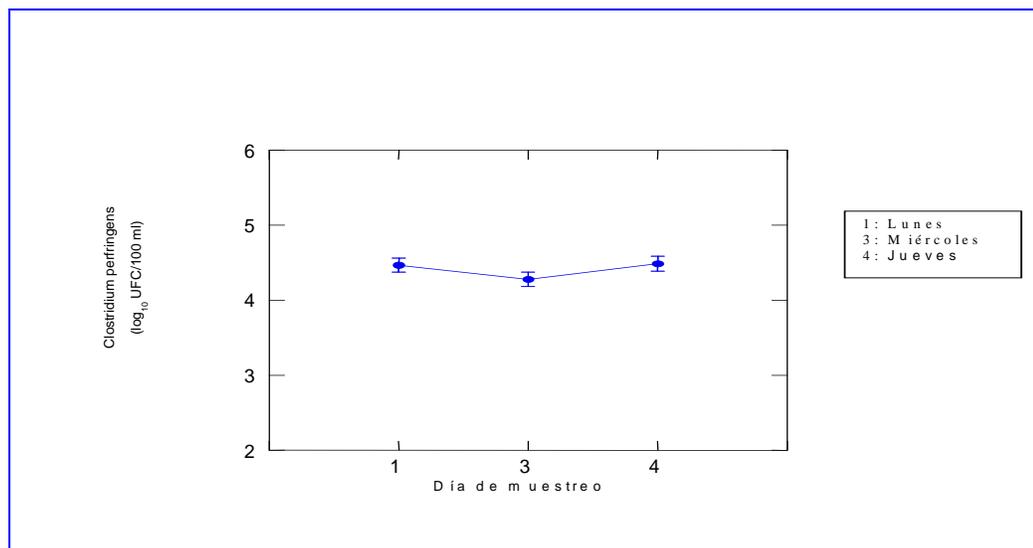
* (Influente), E (Efluente), UN (Unidad Náinari)

Cuadro 5. Análisis estadísticos de pH procedentes del influente, efluente y unidad Náinari.

pH	Coliformes totales			<i>E. Coli</i>			<i>Clostridium perfringens</i>		
	I	E	UN	I	E	UN	I	E	UN
Regresión lineal (R^2)	0.201	0.011	0.018	0.017	0.011	0.032	0.357	0.041	0.004
Análisis de correlación (R)	0.448	0.106	0.314	0.323	0.106	0.169	0.337	0.250	0.054
Análisis de varianza (p)	0.003	0.683	0.561	0.441	0.584	0.401	0.122	0.953	0.139

4.4.2 Por efecto del día de muestreo

La gráfica 10 muestra el comportamiento *Clostridium perfringens* por efecto del día del muestreo, pudo observarse que las concentraciones se encontraron en un rango de 4 – 5 \log_{10} UFC/100 ml e independientemente del día de muestreo este no se vio afectado en su concentración, así como también los resultados obtenidos no presentaron ninguna relación estadísticamente significativa (análisis de varianza $p=0.245$).



Gráfica 10. Comportamiento de *Clostridium perfringens* por efecto del día de muestreo.

4.4.3 En función de los coliformes totales y *Escherichia coli* del influente, efluente y unidad Náinari

El cuadro 6 muestra los resultados estadísticos del comportamiento de *Clostridium perfringens* (Cp) en función de los coliformes totales (CT) y *Escherichia coli* (Ec), reportándose que no existió una correlación entre las concentraciones de los coliformes totales y *Escherichia coli*, sin embargo, es interesante mencionar que la presencia de *Clostridium perfringens* se mantuvo constante en los distintos tipos de agua residual, en el caso del influente de la PTS el promedio aritmético de los coliformes totales y *Clostridium perfringens* (CT/Cp) fue $10^7/10^4$ indicando 1000 coliformes totales por cada *Clostridium perfringens* presente, pero después de un tratamiento biológico y al proceso de desinfección con cloro, la relación obtenida del efluente de la PTS, fue a la inversa (Cp/CT) de $10^5/10^2$ reportándose la presencia de 1000 *Clostridium perfringens* por cada coliforme total presente. Para la unidad Náinari la relación de los coliformes totales y *Clostridium perfringens* (CT/Cp) fue $10^5/10^4$ indicando 10 coliformes totales por cada *Clostridium perfringens* presente.

Las normas oficiales mexicanas y las normas de los Estados Unidos no consideran a los coliformes totales para determinar la calidad del agua residual, su presencia nos indicó únicamente una estimación de la contaminación de origen fecal y no brinda una información real de la presencia de patógenos (Metcalf y Eddy, 1996).

Cuadro 6. Análisis estadísticos de *Clostridium perfringens* procedente del influente, efluente y la unidad Náinari.

Análisis estadístico de <i>Clostridium perfringens</i>	Coliformes totales			<i>E. coli</i>		
	I	E	UN	I	E	UN
Regresión lineal (R^2)	0.107	0.032	0.004	0.055	0.052	0.008
Análisis de correlación (R)	0.328	0.282	0.063	0.658	0.257	0.088
Análisis de varianza (p)	0.685	0.735	0.593	0.658	0.735	0.593

•I (influyente), E (efluente), UN (unidad Náinari)

El influente de la planta tratadora sur, presentó con relación a *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* (*Ec/Cp*) un promedio geométrico $10^7/10^5$ obteniéndose 100 *Escherichia coli* por cada *Clostridium perfringens* presente, así mismo, el efluente reportó una relación inversa (*Cp/Ec*) igual a $10^4/10^2$, obteniéndose 100 *Clostridium perfringens* por cada *Escherichia coli* presente.

La disminución de la concentración de *Escherichia coli* fue evidente después de ser sometido a un tratamiento biológico con proceso de desinfección, obteniéndose con ello una remoción del 99% de *Escherichia coli*. Maier *et.al*, (2000) cita que la actividad típica de remoción del 90% de coliformes fecales, remueve entre 80 a 90 % de rotavirus y enterovirus, un 90% de remoción de *Giardia* y *Cryptosporidium*, pero las altas concentraciones de los enterovirus (100,000/ litro) en aguas residuales reportados en algunas partes del mundo hacen que su presencia después de un tratamiento biológico con proceso de desinfección sea un riesgo para la comunidad, para la unidad Náinari la relación de *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* (*Ec/Cp*) presentó un promedio geométrico de $10^5/10^4$ obteniéndose 10 *Escherichia coli* por cada *Clostridium perfringens*.

Considerándose que los límites de concentración de *Escherichia coli* se encontraron dentro de NOM-001-ECOL-1996 tanto para aguas de uso agrícola (efluente de la PTS) ó

para descargas en aguas y bienes nacionales (influyente y unidad Náinari) pero esto no asegura la ausencia de otros organismos patógenos tales como Giardia, huevos de helmintos, enterovirus, etc., por ello el uso de los indicadores tradicionales como la *Escherichia coli*, para aguas residuales no pueden contemplarse como buenos indicadores de calidad, requiriéndose de otros indicadores como *Clostridium perfringens*.

La presencia de *Clostridium perfringens*, tanto en el influente, efluente de la PTS así como la unidad Náinari, se presentó en un promedio geométrico de 10^5 UFC/100 ml para el influente, después del tratamiento biológico con proceso de desinfección. El promedio geométrico fue de 10^4 UFC/100 ml para efluente con una disminución de *Clostridium perfringens* del 33%; mientras que para la unidad Náinari el promedio geométrico fue de 10^4 UFC/100 ml. Independientemente del tipo de agua residual la concentración permaneció en 10^4 a 10^5 UFC/100 ml.

El uso de *Clostridium perfringens* como un indicador es mejor en comparación con *Escherichia coli*, por su capacidad para resistir a las condiciones adversas del medio ambiente, sobrevive a temperaturas de 70°C por 15 minutos (Maier *et al*, 2000), así como también, se puede establecer la correlación de *Cryposporidium*, *Giardia lamblia* y virus entéricos humanos (Bisson, 1978), por todo ello el empleo de *Clostridium perfringens* como un indicador para aguas residuales presenta mayores ventajas que el empleo de los indicadores tradicionales como coliformes totales y *Escherichia coli*.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA, AWWA, WPCF. 1998. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. USA. Métodos normalizados para el análisis del agua y aguas residuales. Editorial American public health association, 13ª Edición, E.U.A., pp. 951-956.
- Berenson, M.L., Levine, M.D. 1996. **Estadística básica en administración conceptos y aplicaciones**. Editorial Prentice Hall, 6ª Edición, México, pp. 325-550.
- Biberstein, E.Ch. 1998. **Tratado de microbiología médica**. Editorial Acribia Zaragoza, 4ª Edición, España, pp. 337 – 352.
- Biocontrol products, 2000. Biocontrol System. Inc. Worldwide Headquarters, SimPlate. See [http:// www.rapidmethods.com/products/simtotal.html](http://www.rapidmethods.com/products/simtotal.html) (consultado el 25 julio de 2002).
- Bisson, W.J., V.J. Cabelli.1978. Membrane filter method for *Clostridium perfringens*. **Applieand environmental microbiology**. Publ. 635, pp 55 – 66.
- Brooks, G.F., J.S. Butel y S. P. Morse.1998. **Microbiología médica**. Editorial, Manual moderno, 16ª edición, México D. F., pp. 169-170, 173-174, 230-321, 329-335.
- Cabelli, V.J. 1978. **New Standards for bacteria**. In Water Pollution Microbiology. Editorial Wiley Interscience, 1ª Edición, E.A.U., Vol. 2, pp. 233–273.
- Carpenter, L.P. 1982. **Microbiología**. Editorial Interamericana, 4ª Edición, México, pp. 453 – 459.
- CETENAL. 1982. Carta topográfica Morelos II G12 B 43.

- Cifuentes, E.U., P.A. Ruíz., S. Bennett., S. Peasey. 1994. Escenarios epidemiológicos del uso agrícola del agua residual: El valle de mezquital México. **Revista Salud Pública**. Vol. 36, No. 1, pp. 10 –13.
- _____. P.A. Ruíz., S. Bennett., M. Quigley., S. Peasey., Romero. 1993. Problemas de salud asociados al riego agrícola con agua residual en México. **Revista Salud Pública**. Vol. 35, No. 6, pp. 5–10.
- Duncan, C.L., D.H. Strong.1983. Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. **Applied microbiology**, Vol. 16, No. 1, pp. 82-88.
- Fernández, E.E., 1988. **Microbiología sanitaria. Agua y Alimentos**. Editorial EDUG/Universidad de Guadalajara, 2ª Edición, México. Vol. I. pp. 210-220.
- Forrest, D.M., B. Gushulak. 1997. Emerging pathogens: threat and opportunity. *Perspectives in Biology and Medicine*, 40(4): 119-125.
- Geldreich, E.E. 1978. Bacterial populations and indicators concepts in feces, sewage, storm water and solid wastes, pp. 66.
- González, V.F. 1994. Agua, elemento vital para el desarrollo sustentable. *Teorema* Año 1 (1), pp. 8-9.
- Jiang, S., H.J. Paul, A. Shinn. 1995. Occurrence of fecal indicator bacteria in surface waters and the subsurface aquifer in Key Largo, Florida. **Applied and environmental microbiology**. Vol. 61, No. 6, pp. 2235-2241.
- López, A., R.D. Avilés, G.A. Cortés, R.E. Fernández, G.L. Mota. 1989. Manual de laboratorio de microbiología sanitaria. Escuela nacional de ciencias biológicas, México, pp. 7-19.
- Madigan T.M., M.J. Martinko, P.J. Brock, 1999. **Biología de los Microorganismos**. Editorial Prentice Hall. 8ª Edición, México D. F., pp. 971-996.

- Maier, M., I.I. Pepper, P.C. Gerba. 2000. **Environmental Microbiology**. Editorial Academic Press, U.S.A., pp. 491-505.
- Metcalf, Eddy, INC. 1996. **Wastewater Engineering: treatment, Disposal and Reuse**. Editorial McGraw Hill Book Co., New York, N.Y., pp. 52-136 .
- Muñoz, L., L.A. Sahún, V.M. Gutierrez, L.M. Ochoa.1995. Microbiología sanitaria. Tercer diplomado en ingeniería ambiental. UNISON. Departamento de ingeniería química y metalurgia.
- Murray, K.P., G.P., Fallar, M. Rosental. 1997. **Microbiología Médica**. Editorial Barcelona España, p.p. 191-195.
- Naranjo, J.E., G.A. Toranzos, J.B. Rose y C.P. Gerba. 1990. Occurrence of Enteric Viruses and Protozoan Parasites in water in Panama, Proceeding of second Biennial Water Symposium Microbiological Aspects, pp. 15-19.
- Orangui, J.J., D.M. Duncan. 1983. Investigation of survival characteristics of *Rhodococcus coprophilus* and certain fecal indicator bacteria. **Applied and environmental microbiology**, Vol. 46, No. 2, pp. 356-360.
- OMS. 1989. Directrices sanitarias sobre el uso de aguas residuales en agricultura y acuicultura. Ginebra, serie de informes técnicos 778.
- Parrilla Cerillo M., J. V. Castellano, E.S. Castañeda, L.N. Fernández.1993. Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario **Revista Salud Pública**. Vol. 35, No. 5, pp. 36-40.
- Payment, P., E. Franco. 1993. *Clostridium perfringens* and somatic coliphages as indicator of the efficiency of drinking water treatment for viruses and protozoan. **Applied and environmental microbiology**, 59; 2418-2424.

- Pelzcar, J.M., D.M. Reid. 1981. **Microbiología**. Editorial Mc Graw-hill, 4° edición, México, pp. 682-697.
- Pettygrove, G.S., T. Asano. 1990. **Irrigation with Reclaimed Municipal Wastewater**. Editorial Generalitat de Catalunya, Universidad politécnica de Catalunya Barcelona, pp. 3-17.
- Pikes, W.O. 1978. Water Quality and Health Significance of Bacterial Indicator of Pollution. Proceedings of Workshop held at Drexel University, Philadelphia, Pennsylvania, 17 y 18 de abril, pp. 14-15.
- Scott, M.R. 2000. Comparison of the traditional three tube most probable number method whit the Petrifilm, SimPlate, BioSys optical y Bactometer conductance methods for enumerating *Escherichia coli* from chicken carcasses and ground beef, **Journal of food protection**, Vol. 63, No. 9, pp. 1179-1183.
- SEMARNAT. 1998. Norma Oficial Mexicana, NOM –002-ECOL-1996. Diario Oficial de la federación, pp. 6-14.
- _____. 1997. Norma Oficial Mexicana, NOM –001-ECOL-1996. Diario Oficial de la Federación, pp. 68-85.
- Servin, M.B., 2000. **Tratamiento de aguas residuales**. Editorial, Mosby, 1ª Edición, España, pp.191-208.
- Winkler, A.M. 2000. **Tratamiento biológico de aguas de desecho**. Editorial Limusa, 1ª Edición, México D.F., pp. 123-125.