



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA

EVALUACIÓN BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DE LA
LAGUNA DEL NÁINARI EN CIUDAD OBREGÓN, SONORA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

GASPAR SANTIAGO AISPURO MONTOYA

CD. OBREGON, SONORA.

NOVIEMBRE DE 2005

DEDICATORIAS

A mi madre que con todo su amor y apoyo me motivó a luchar, ella fue la inspiración en todo momento para seguir adelante. Todo mi esfuerzo valió la pena si le puedo ofrecer el producto de su excelente trabajo como madre. Esto es una de las tantas cosas que le debo, se que no podré pagar todo lo que me ha dado desde la vida, hasta tenerme aquí como un adulto culminando mis estudios, además de ser inmensamente feliz.

De una u otra forma mis logros son los tuyos y te lo ofrezco con todo mi amor, bien merecido MAMÁ te quiero.

A la bonita familia Aispuro Baes, por confiar en mi y demostrármelo con su cariño, los quiero (mas a ud. Compadre, je je)

A ni Carnalillo, por confiar en mi y ser un buen amigo, eres un gran motivo en mi vida para seguir adelante.

A mis tíos preferidos: Maria Esther y Raúl por motivarme a salir adelante y su invaluable amistad.

A Karina Edith, por estar siempre a mi lado, fuiste mi complemento perfecto desde que te conocí, te quiero, gracias por estar conmigo en las buenas y no tan buenas, ojalá estés a mi lado siempre, para pagarte con amor todo lo que haz hecho por mi.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida, fuerza, salud e inteligencia para lograr esta meta.

A mi asesor de tesis y amigo M. I. Anacleto Félix Fuentes por tratarme como un buen amigo antes de cómo su alumno y por ayudarme con sus siempre acertados consejos.

A Eulalia Rosas y Evelyn Delgado por brindarme su amistad y por abrirme las puertas de su casa, me hacen sentir como de su familia, gracias.

A mis compañeros de clase y amigos: Maritza, Chinchillas, Carol, Zareth, Helga, Iliana, Dianita, Dalía, Alejandro, Ricardo, Gabby, José, Dania, Florelia, Pary, Hiram, Claudia, Estrellita, Silvia, Lupita, Jesús, Saida y a todos los que no menciono pero supieron ser buenos compañeros, gracias por los momentos inolvidables.

A toda mi gente: Pollo, Janeth, Chagy, Iliana, Keche, Potrillo, Compa Chuy, Bedoy, Fernando, Choco, Dany, Pancho Cachondo, Henry, Isabel, Pary, Alejandro, Helga y para mi Negra y el negro jaja el Nono gracias compa, Los mejores momentos de mi vida los he pasado con Uds.

A mis carnales: Emilio Martínez, Julio Torres y Fernando Torres, por que se que siempre he podido contar con ustedes, los quiero y los admiro Vatos a cada uno por separado gracias por su amistad.

INDICE

LISTA DE TABLAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
I INTRODUCCIÓN	V
1.1 JUSTIFICACIÓN	Viii
1.2 OBJETIVOS	ix
1.3 HIPÓTESIS	X
II. MARCO TEÓRICO.....	1
2.1 El agua.....	1
2.1.1 Importancia del agua en el cuerpo	2
2.1.2 Fuentes de agua de utilización humana.....	2
2.1.3 Lagos eutróficos y oligotróficos.....	4
2.1.4 Embalses y lagos artificiales	5
2.1.5 Laguna del Nainari	6
2.2 Contaminación del agua	7
2.2.1 Calidad microbiológica del agua	8
2.2.2 Bacterias patógenas transmitidas por el agua	8
2.2.3 Fundamento para el uso de organismos indicadores.....	10
2.3 Organismos coliformes.....	11
2.3.1 Definición.....	12
2.3.2 Grupo coliforme.....	12
2.3.3 Desarrollo.....	13
2.3.4 Recuento de organismos coliformes	13
2.3.4.1 Coliformes fecales.....	14
2.4 <i>Salmonella</i>	14
2.5 <i>Vibrio cholerae</i>	15

III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Descripción de la zona de estudio	17
3.2 Período y puntos de muestreo.....	17
3.2.1 Toma y transporte de muestra.	18
3.3Análisis microbiológicos.....	18
3.3.1 Cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios por la técnica de vaciado en placa.....	19
3.3.2 Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de tubos de fermentación múltiple.....	19
3.3.2.1 Prueba presuntiva.....	19
3.3.2.2 Prueba confirmativa.....	20
3.3.3 Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes fecales por la técnica de tubos de fermentación múltiple.....	20
3.3.3.1 Prueba presuntiva.....	20
3.3.3.2 Prueba confirmativa.....	20
3.3.4 Aislamiento e identificación de <i>Salmonella sp</i>	21
3.3.5 Aislamiento e identificación de <i>Vibrio cholerae</i>	21
3.4 Pruebas bioquímicas.....	21
	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Cuenta total viable de Organismos Mesófilos aerobios.....	26
4.2 Número más probable (NMP) de Coniformes totales.....	27
4.3 Número más probable (NMP) de Coniformes fecales.....	28
4.4 Aislamiento e identificación de <i>Salmonella sp</i>	29
4.5 Aislamiento e identificación de <i>Vibrio cholerae</i>	29
4.6 Otros microorganismos.....	30
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	33

LISTA DE TABLAS

Tabla	T í t u l o	Pagina
1	Período de muestreo	18
2	Resultado de la cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios en UFC/ml en muestras de agua de la Laguna del Náinari en un período de muestreo de julio a septiembre de 2004.	27
3	Resultados del Número Más Probable (NMP /100ml) de coliformes totales en muestras de agua de la Laguna del Náinari tomadas en un período de julio a septiembre de 2004.	28
4	Resultados del Número Más Probable (NMP /100ml) de coliformes fecales en muestras de agua de la Laguna del Náinari tomadas en un período de julio a septiembre de 2004.	29
5	Tabla de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos.	30

LISTA DE FIGURAS

Figura	T i t u l o	Pagina
1	Ejemplo de lagos eutróficos y oligotróficos	5
2	Fotografía de la Laguna del Nainari	6

RESUMEN

El hombre ha dominado los ríos desde tiempo inmemorial construyendo embalses y lagos para poder hacer mejor uso del agua; para irrigar, para beber, o simplemente para recreación. La calidad de las aguas así como su contaminación va en función del uso al que ésta será destinada. Así, para el agua de uso recreativo la Gaceta Ecológica, (1990) establece entre sus criterios que no debe exceder de 200 NMP/100 ml de coliformes fecales y 1000 NMP/100 ml de coliformes totales. Tomando en cuenta esto, el objetivo del presente trabajo fue realizar análisis bacteriológicos en agua de la Laguna del Náinari de Cd. Obregón para evaluar su calidad sanitaria y determinar si es apta para uso recreativo.

Para este trabajo se eligieron estratégicamente 6 sitios de muestreo de los 2 Km. de longitud de la laguna. El muestreo se realizó en un período de 3 meses de julio a septiembre de 2004. Se recolectaron un total de 36 muestras cuyos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la Dirección de Recursos Naturales del Instituto Tecnológico de Sonora. Los análisis realizados fueron: Determinación de organismos mesófilos aerobios por el método de vaciado en placa (NOM-092-SSA1-1994), NMP de coliformes totales y fecales por la técnica de tubos de fermentación múltiples, Aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas de *Salmonella sp* y *Vibrio cholerae*.

Los resultados de los análisis para organismos mesófilos aerobios en el total de las muestras fueron positivos en un rango de desarrollo de 100 a 137000 UFC/ml.

En cuanto a coliformes totales el 77.77% de las muestras rebasaron los límites establecidos por la gaceta ecológica. En cuanto a coliformes fecales el 88.89 % de las muestras excedieron el criterio de calidad.

En el caso de *Salmonella sp* y *Vibrio cholerae* el 100% de las muestras fueron negativas, sin embargo se detectaron otros microorganismos importantes como: *Escherichia coli*, *Enterobacter sp* y *Klepsiella sp*.

Acorde a los resultados obtenidos el agua de la Laguna del Náinari registra contaminación del tipo fecal lo que la hace no apta para uso recreativo.

I. INTRODUCCIÓN

El agua, químicamente, es un compuesto constituido por dos elementos, Hidrógeno y Oxígeno ambos gaseosos en su estado libre. Cuando estos gases se combinan en la proporción muy conocida de dos átomos de Hidrógeno y un átomo de Oxígeno, se forma el agua, cuyo símbolo químico es H₂O. El agua pura no tiene sabor alguno y ostenta siempre la misma composición, ya sea que se encuentre en forma líquida, sólida o gaseosa (Jhonson, 1975).

El agua es el elemento que más abunda sobre la tierra. Su abundancia la convierte en la sustancia más común, pero sus propiedades a su vez, la hacen la más exclusiva.

Los científicos suponen que el agua que se encuentra en la corteza terrestre y en la atmósfera representa un volumen equivalente a tres veces la cantidad de todos los otros materiales juntos. Los mares y océanos contienen el 97% de toda el agua existente en la tierra. La nieve, los glaciares y los casquetes polares reúnen alrededor de 2.25 %. Consideradas en conjunto el agua de los ríos, lagos y lo que se haya por debajo de la superficie de la tierra, representa algo así como seis décimas partes por ciento del total. El vapor de agua atmosférico aporta solo una pequeña fracción en porcentaje (Jhonson, 1975).

Otra de las características singulares del agua es su gran estabilidad incluso a altas temperaturas a 2,700 °C únicamente el 11% se disocia en moléculas de Hidrógeno y de Oxígeno. De esto se deriva que la cantidad total de agua en la tierra permanece constante durante largos periodos de tiempo, si bien su estado y situación varía, formando lo que se ha dado en llamar el ciclo hidrológico. En determinadas circunstancias el vapor de agua existe en la atmósfera, se precipita en forma de lluvia o nieve. Parte del agua caída sobre la tierra se evapora directamente, otra parte, vuelve a la atmósfera a través de la evapotranspiración vegetal; el resto llega, por caminos más o menos complejos superficiales o subterráneos, al mar, donde, por evaporación, es restituida a la atmósfera, completándose así el ciclo (ITSEMAP AMBIENTAL, 1994).

Las aguas superficiales (mares, ríos, lagos, etc.,) poseen una composición físico-química variable dependiendo de factores geológicos, geográficos, climáticos y biológicos. Las aguas marinas poseen una composición bastante homogénea de los elementos mayoritarios (cloruros, sodio, sulfato, magnesio, etc.) en las aguas superficiales se desarrollan y viven un gran número de organismos que dependen del medio para su existencia. La gran accesibilidad de esta agua para el hombre ha supuesto su mejor uso y por consiguiente es responsable de la calidad del agua (ITSEMAP AMBIENTAL, 1994).

A los efectos prácticos, no se puede hacer una clasificación absoluta de la calidad del agua. El agua destilada que, desde el punto de vista pureza, tiene el más alto grado de calidad, no es adecuada para beber. El grado de calidad del agua ha de referirse a los usos a los que se destina. Análogamente, el concepto de contaminación ha de estar referido, desde el punto de vista práctico, a los usos posteriores del agua. En este sentido se entiende por contaminación la acción y el efecto de introducir materias o formas de energía que impliquen una alteración perjudicial de la calidad del agua en relación con los usos posteriores o con su función ecológica (ITSEMAP AMBIENTAL, 1994).

La clasificación de los contaminantes del agua contempla las características de las sustancias o parámetros más comunes, agrupados en tres bloques según sea: físicos, químicos ó biológicos.

Contaminantes físicos: color, olor, sabor, turbidez, conductividad, pH y temperatura

Contaminantes químicos: elementos, compuestos orgánicos e inorgánicos y radioactivos

Contaminantes biológicos: los microorganismos constituyen la parte biológica de la contaminación del agua (Manual, Saneamiento, vivienda agua y desechos, 1999).

Las bacterias juegan un papel importante en el medio acuático ya que algunas de ellas forman parte de la flora autóctona y otras pueden encontrarse como contaminantes. Como tales, las bacterias pueden usarse como indicadoras de una variedad de condiciones, como ejemplo, la determinación de la presencia o ausencia de contaminación en general y la posible fuente de ella.

La presencia de patógenos entéricos en el agua va acompañada también por gran cantidad de coliformes y están siempre presentes en los tractos intestinales del humano y animales de sangre caliente.

Así pues, es importante la calidad del agua en nuestra vida diaria, sea cual sea el uso al que esté destinada. En este caso la Laguna del Náinari y su agua de recreación se considera una atracción turística en la localidad, por lo que el presente estudio está enfocado en determinar la presencia de microorganismos patógenos en dicha agua y determinar si es apta para uso recreativo.

1.1 JUSTIFICACIÓN

Tomando en cuenta la importancia del agua en nuestra vida diaria y una vez explicado que la calidad del agua así como su contaminación varía en función del uso al que es destinada, resulta interesante realizar una evaluación sanitaria en el agua de la Laguna del Náinari en Cd. Obregón, Sonora. Ya que no hay antecedente alguno sobre su estudio o evaluación de la calidad bacteriológica, se considera necesario hacer una investigación para conocer el nivel actual de contaminación en este cuerpo de agua superficial, así mismo resulta interesante realizar una evaluación bacteriológica con el fin de determinar si es apta o no para uso recreativo y en caso de no ser así dar las recomendaciones pertinentes para evitar enfermedades y posibles problemas epidemiológicos.

1.2 OBJETIVOS

Objetivo General

Realizar análisis bacteriológico en el agua superficial de la Laguna del Náinari, para evaluar su calidad sanitaria y determinar si ésta es apta para uso recreativo.

Objetivos Específicos

- Seleccionar los sitios de muestreo
- Realizar un recuento de organismos mesófilos aerobios
- Cuantificar el NMP de coliformes totales y fecales por la técnica de tubos de fermentación múltiple.
- Aislar e identificar por pruebas bioquímicas *Vibrio cholerae* y *Salmonella sp.*
- Comparar los resultados con los criterios que establece la Gaceta Ecológica con el fin de evaluar su calidad sanitaria

1.3 HIPÓTESIS

El agua de la laguna del Náinari presenta una elevada contaminación bacteriológica, debido a la falta de flujo y estancamiento de la misma, lo que la hace no apta para uso recreativo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 El agua

La molécula del agua está constituida por dos átomos de Hidrógeno unidas en forma covalente con una de Oxígeno, es altamente polar, no es lineal y tiene un par de electrones libres consideradas como dos fuerzas separadas, que junto con los dos enlaces covalentes establecen una molécula en forma de tetraedro.

En el agua existe una diferencia de electronegatividades que se deben principalmente a que el Oxígeno tiene un gran poder de atracción por los electrones de los dos Hidrógenos. Esto hace que se conforme un dipolo eléctrico potente que le permite formar puentes de hidrógeno estables con moléculas iguales o diferentes, pero de naturaleza polar.

Debido a su elevado momento electrónico bipolar el agua es el disolvente universal. Además, muchas de las macromoléculas de interés bioquímico como son las proteínas, las enzimas y los ácidos nucleicos, se vuelven activas cuando adquieren sus correspondientes estructuras secundarias, terciarias, etc., gracias a la interacción que establece con el agua. Es decir las células de los tejidos animal y vegetal, así como los microorganismos, sólo se

pueden desarrollar si encuentran un medio adecuado en el que el contenido de agua sea el decisivo (Badui, 1981).

2.1.1 Importancia del agua en el cuerpo

Las principales funciones biológicas del agua estriban fundamentalmente en su capacidad para transportar diferentes sustancias a través del cuerpo, disolver otras y mantenerlas tanto en solución como en suspensión coloidal; esto se logra porque puede permanecer líquida en un intervalo de temperatura relativamente amplio y porque tiene propiedades como disolvente. Cabe mencionar que en el universo hay temperaturas que van desde casi el cero absoluto hasta millones de grados; sin embargo, la vida como nosotros la conocemos, está restringida a un intervalo muy reducido de temperatura en el cual el agua es líquida a una atmósfera de presión aproximadamente (Badui, 1981).

Ciertamente, las cantidades de agua que nuestro cuerpo necesita para subsistir, son relativamente pequeñas si se les compara con su peso; algo así como 2.5 litros por día en una persona moderadamente activa y que habite en un clima templado. Cada proceso fisiológico se haya tan ligado a la presencia de esta cantidad de agua, que no hay verdad más grande que la expresión que toda la vida depende del agua. El agua constituye una gran parte de la protección del embrión antes de su nacimiento, de la regulación de la temperatura del cuerpo, de la respiración, del funcionamiento de las glándulas, de la digestión, y de la lubricación de las articulaciones. Cuando falta el agua para realizar los procesos fisiológicos, el hombre pierde su apetito, desnutriéndose e incapacitándose hasta que la muerte sobreviene. Además de las demandas del cuerpo, existen otras imperiosas necesidades que exigen adecuado abastecimiento de agua (Jhonson, 1975).

2.1.2 Fuentes de agua de utilización humana

Sólo hay dos fuentes de agua disponible del hombre a saber: las de superficie que comprenden los lagos, ríos, áreas de drenaje que envían el agua hacia los embalses y los procedimientos que permiten captar y retener el agua de lluvia; y las subterráneas, que incluyen a los pozos, manantiales y galerías horizontales.

En realidad, las fuentes superficiales y subterráneas no siempre están separadas. Lo que en cierto lugar es agua de superficie, puede convertirse en agua subterránea en otro, pudiendo a su vez emerger de nuevo como agua superficial en un tercer sitio. Esto es posible por las interconexiones hidráulicas que existen (Jhonson, 1975).

El agua está constantemente reciclándose, en un sistema conocido como el ciclo del agua o ciclo hidrológico, en el cual, el agua está en constante movimiento, dirigida por la energía solar. El sol provoca la evaporación de los océanos, lo cual causa la formación de nubes y las precipitaciones (lluvias). La evaporación también ocurre en lagos, ríos y suelo donde las plantas contribuyen con cantidades significativas de agua por evapotranspiración. Aunque alrededor del 80% de las precipitaciones vuelven a caer en los océanos, el resto cae sobre la tierra. El agua que rellena el suelo y las aguas subterráneas, alimenta corrientes de lagos y ríos, provee toda agua necesadsria para las plantas, animales y desde luego para los humanos. Así aunque aparenta haber mucha agua, hay en realidad muy poca que esté disponible para consumo humano, por lo tanto, el volumen total de agua en el mundo permanece constante, lo que cambia es la disponibilidad y calidad. Así, conforme la lluvia cae a través de la atmósfera, discurre sobre y a través de la superficie de la tierra, está constantemente disolviendo material, creando un registro químico a su paso desde las nubes. Por lo tanto, los suministros de agua tienen una variedad natural en la calidad, la cual depende enormemente del origen del suministro (Gray, 1996).

El grado de calidad del agua ha de referirse al uso que se destina análogamente, el concepto de contaminación ha de estar referido a los usos previstos.

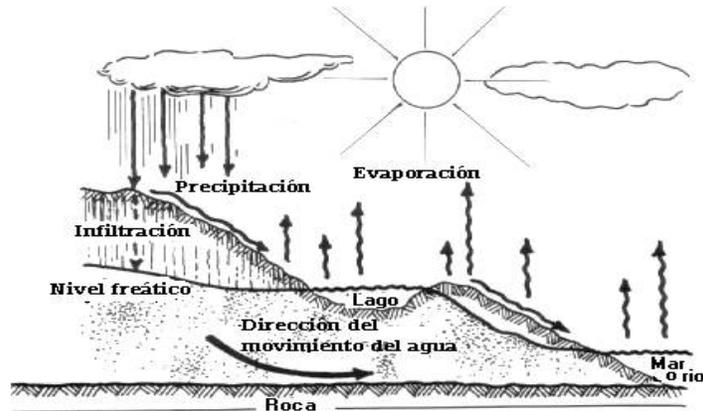
Los objetivos de calidad y contaminación han de tener en cuenta los usos siguientes:

- Agua destinada a la producción de agua potable, consumo y uso domestico.
- Agua destinada a fin industrial
- Agua destinada a fin agrícola
 - Riego
 - Consumo de los animales
- Agua destinada a actividades recreativas
 - Contacto primario con el agua
 - Contacto secundario con el agua
- Agua destinada a vida acuática
 - Especies sensibles a la contaminación
 - Especies tolerantes a la contaminación (ITSEMAP AMBIENTAL, 1994).

2.1.3 Ciclo Hidrológico

El ciclo hidrológico puede ser visto, en una escala planetaria, como un gigantesco sistema de destilación, extendido por todo el Planeta. El calentamiento de las regiones tropicales debido a la radiación solar provoca la evaporación continua del agua de los océanos, la cual es transportada bajo forma de vapor de agua por la circulación general de la atmósfera, a otras regiones. Durante la transferencia, parte del vapor de agua se condensa debido al enfriamiento y forma nubes que originan la precipitación. El regreso a las regiones de origen resulta de la acción combinada del escurrimiento proveniente de los ríos y de las corrientes marinas (www.jmarcano.com/nociones/ciclo1.html).

Figura 1. Esquema del ciclo del agua.



Fuente: <http://www.jmarcano.com/nociones/ciclo1.htm>

2.1.4 Lagos eutróficos y oligotróficos

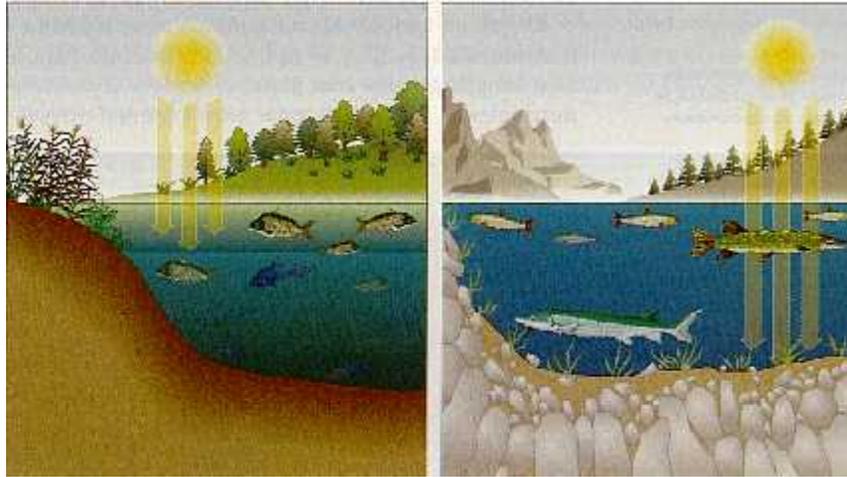
Según la abundancia de nutrientes (fosfatos y nitratos) se distinguen dos tipos de lagos (ver Figura 1):

a) Eutróficos.- Con las aguas ricas en nutrientes lo que facilita la proliferación de las algas. Cuando las algas mueren son descompuestas por las bacterias en procesos aeróbicos que consumen el oxígeno. Al terminarse el oxígeno muchos restos orgánicos quedan depositados en el fondo sufriendo procesos anaeróbicos que desprenden H_2S (malos olores) y otros gases, dando un aspecto nauseabundo a las aguas en los casos de eutrofización extrema.

En estos lagos la luz penetra con dificultad en el agua y los seres vivos que se encuentran son los característicos de las aguas pobres en oxígeno.

b) Oligotróficos.- Sus aguas son pobres en nutrientes y, por tanto, las algas no proliferan excesivamente, las aguas son claras y penetra la luz con facilidad, hay oxígeno en abundancia y la flora y la fauna es típica de aguas bien oxigenadas (truchas, larvas de libélulas, etc) (<http://www1.ceit.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/05PrinEcos/175Lago.htm#Lagos%20y%20lagunas,2004>).

Figura 2. Ejemplo de lagos eutróficos y oligotróficos



Lagos eutróficos - Lago oligotróficos

Fuente: www1.ceit.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/05PrinEcos/175Lago.htm#Lagos%20y%20lagunas,2004.

Muchos lagos tienen en la actualidad importantes problemas de la eutrofización artificial, les llegan muchos aportes de nutrientes procedentes de las actividades humanas, lo que origina un gran crecimiento de algas y de muchos organismos heterotróficos que hacen desaparecer el oxígeno, generándose procesos de anaerobiosis y por tanto, olor desagradable, desaparición de las truchas, etc.

2.1.4 Embalses y lagos artificiales

El hombre ha dominado los ríos desde tiempo inmemorial construyendo presas. En la actualidad regulan una cuarta parte del caudal total de los ríos de la Tierra. Se usan para obtener energía, para irrigar, para regular caudales, para beber, para refrigerar plantas eléctricas, térmicas o nucleares, para deporte y recreo, etc.

También presentan algunas ventajas ecológicas. Por ejemplo, sustituyen a muchos humedales desaparecidos en las rutas de emigración de las aves, o mejoran la calidad del agua emitida por el embalse porque muchas sustancias se han quedado en los sedimentos.

Sin embargo, en muchas ocasiones sepultan bajo las aguas, tierras fértiles y alteran la forma de vida de poblaciones enteras.

También los embalses grandes situados en los tramos medios del río provocan importante disminución de la diversidad biológica. Otro factor que hay que tener en cuenta a la hora de decidir su construcción es que se van colmatando (llenando de sedimentos que arrastra el río), envejecen y desaparecen en unos 60 a 100 años. En la actualidad uno de los problemas principales de muchos embalses es la eutrofización de sus aguas.

(<http://www1.ceit.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/05PrinEcos/175Lago.htm#Lagos%20y%20lagunas,2004>).

2.1.5 Laguna del Náinari

Un peculiar atractivo turístico producto del capricho del hombre es la laguna artificial "Laguna del Náinari" contando con una extensión aproximada de 2 Km. Localizada en el límite poniente de la ciudad entre las calles Av. Guerrero y Padre Eusebio Kino.

Este pequeño oasis es artificial, construido en 1956, uno de los grandes aciertos del municipio, quien abrió las compuertas hidráulicas para llenar el vaso de agua.

Antes era una región lagunera en donde se cazaban patos y se sembraba arroz. Este terreno perteneció al General Álvaro Obregón, curiosamente, la palabra Náinari quiere decir: ir de mala gana y también piojo.

La laguna Náinari (ver Figura 2) es el pulmón oxigenador de la Ciudad y atractivo turístico que le proporciona un bello panorama, cuenta con un pequeño muelle y un botadero para lanchas. Está conectado al Canal Bajo con una compuerta de entrada y otra de salida (<http://www.obregon.gob.mx/sitios.htm,2004>).

Fig.2 Fotografía de la laguna del Nainari



Fuente: <http://www.obregon.gob.mx/sitios.htm>,2004

2.2 Contaminación del agua

Las aguas naturales no solo contienen su propia flora microbiana, sino que a la vez contienen microorganismos procedentes del suelo y posiblemente de los animales y aguas residuales.

En las aguas superficiales, el contenido de microorganismos es muy variable, pudiendo encontrarse desde varios millones por mililitro cuando el agua está muy contaminada, hasta un número relativamente bajo. Esta agua superficial comprende principalmente los géneros: *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Enterobacter* y *Escherichia*, siendo los tres últimos parte natural de la flora del agua considerados como contaminantes.

Desde el punto de vista de salud pública, el agua que se utiliza en los distintos tratamientos a que se someten los alimentos debe ser totalmente inocua para beber, es decir, exenta de

patógenos. Las pruebas correspondientes a las bacterias indicadoras se pueden confirmar y completar mediante las técnicas descritas por dependencias oficiales de salud.

La *E. coli*, que se considera con mayor frecuencia de origen intestinal, se puede diferenciar de *Enterobacter aerogenes* que se encuentra en la superficie de las plantas y en el suelo con frecuencia mayor que en el contenido intestinal. Algunos laboratorios de control realizan periódicamente recuentos totales en placa y pruebas para coliformes en agua, y le añaden mayor cantidad de cloro en cuanto existe el primer indicio de bacterias patógenas. De hecho algunas bacterias no fermentativas, como son las especies de *Pseudomonas*, crecen en el agua de las orillas y de aquí no se descubren mediante las técnicas tradicionales para la determinación de coliformes; por esta razón son importantes los recuentos totales en placa. Se realiza la cloración del agua de consumo cuando existe cualquier duda a cerca de su calidad sanitaria, oscilando la proporción final de cloro en el agua entre 0.025 y 2 ó más partes por millón de cloro libre, según la composición del agua y su grado de contaminación (Félix , 1997).

2.2.1 Calidad microbiológica del agua

El peligro más común y más difundido del agua es el de su contaminación, sea esta directa o indirecta, debido al efecto de aguas servidas, de otros desechos o de la excreta del hombre o de los animales. Si dicha contaminación es reciente y entre los factores que contribuyeron a ella se hayan agentes portadores de enfermedades entéricas transmisibles, es posible que estén presentes algunos de los organismos vivos causales de las mismas. Beber agua así contaminada, o emplearla en la preparación de determinados alimentos, puede producir mayor número de casos de infección (OPS, 1987).

2.2.2 Bacterias patógenas transmitidas por el agua

La contaminación fecal del agua potable puede incorporar una variedad de diversos organismos patógenos intestinales- bacterianos, virales y parasitarios cuya presencia está

relacionada con enfermedades y portadores del tipo microbiano que puede existir en ese momento en la comunidad. Las bacterias patógenas intestinales se hayan diseminadas a lo largo y ancho del planeta. Aquéllas cuya presencia ha sido detectada en agua potable contaminada incluyen: *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli enterotoxigena*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* y *Campilobacter fetus*. Estos organismos pueden ser causantes de enfermedades cuyo índice de gravedad va desde una ligera gastroenteritis hasta casos graves y, a veces fatales, de disentería, cólera o tifoideos.

Oros organismos, cuya presencia en el ambiente es natural y a los que no se considera patógenos, también pueden producir, en ocasiones, enfermedades de tipo “oportunista”. La presencia de estos organismos en el agua potable puede causar infecciones, sobre todo en aquellas personas cuyos mecanismos de defensa naturales, locales o generales, se hayan disminuidos. Esto es más probable que suceda en casos de gente de edad muy avanzada, de muy corta edad y de pacientes hospitalizados, por ejemplo, por quemaduras, o sometidos a terapia inmunosupresiva. El agua potable que se utiliza para beber y bañarse, si contiene gran cantidad de organismos como *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acitenobacter*, *Klebsiella* y *Serratia*, puede producir una serie de infecciones que afectan a la piel y las membranas mucosas de los ojos, oídos, nariz y garganta.

Los modos de transmisión de bacterias patógenas incluyen la ingestión de agua y alimentos contaminados, el contacto con personas o animales infectados y la exposición a aerosoles. La importancia de la vía acuática para propagar infecciones bacterianas intestinales varía mucho, tanto con el tipo de enfermedad como con las circunstancias locales. Aunque el organismo *Shigella* puede ser acarreado por el agua, no siempre constituye la principal vía de propagación de la shigellosis, sino más bien por el contacto entre las personas que habitan en condiciones de hacinamiento; por el contrario, el cólera suele ser transmitido por el agua, y la salmonelosis, en cambio, transmitida por los alimentos.

Entre los diversos microorganismos patógenos transmitidos por el agua, existe una amplia gama de niveles de dosis mínima suficiente para causar infección en el ser humano. En el caso de la *Salmonella typhi*, la sola ingestión de unos pocos organismos puede causar enfermedad; cuando se trata de *Shigella flexeri*, se requieren varios cientos de células, en

tanto que serán necesarios varios millones de células serotípicas de *Salmonella* para que se produzca una gastroenteritis. Así también, en el caso de organismos toxígenos como la *E coli* enteropatógena y el *V. cholerae*, pueden ser necesarias cantidades tan elevadas como 10^8 de células del microorganismo para causar enfermedad. La cantidad de la dosis infecciosa también varía para las diferentes personas, según la edad, el estado nutricional y el estado de salud, en general, al momento de la exposición. No debe subestimarse la importancia de otras vías de transmisión que no sea la del agua potable, por cuanto la provisión de agua inocua por si misma no evitara necesariamente las infecciones si al mismo tiempo no se acompañan mejoras en el saneamiento y en los hábitos personales. En este sentido, es esencial la educación sobre normas simples de higiene aplicada (OPS, 1987).

2.2.3 Fundamento para el uso de organismos indicadores

El reconocimiento de que las infecciones microbianas pueden ser transmitidas por el agua ha dado lugar al desarrollo de métodos para efectuar exámenes de rutina que garanticen que el agua destinada al consumo humano se encuentre libre de contaminación por excrementos.

Aunque es posible detectar la presencia de múltiples organismos patógenos en el agua, los métodos de aislamiento y enumeración suelen ser complejos y demandar demasiado tiempo. Por tanto, es impracticable someter a vigilancia el agua para detectar todo posible microbio patógeno que pudiera ocurrir con la contaminación. Una opción más lógica es detectar los organismos que normalmente están presentes en las heces de los seres humanos y de los animales de sangre caliente como indicadores de contaminación por excrementos, así como de la eficiencia de los sistemas de tratamiento del agua y de desinfección.

La presencia de dichos organismos también indican la existencia de material fecal, o sea que existe la posibilidad de que estén presentes organismos patógenos intestinales. A la inversa, la ausencia de organismos asociados fecales indicará, asimismo, que con toda posibilidad no habrá organismos patógenos. La búsqueda de dichos indicadores de contaminación fecal proporciona de esta forma un medio de control de calidad. También es

importante vigilar la calidad bacteriológica del agua natural, no sólo con miras a evaluar el grado de contaminación, sino igualmente para la selección de la mejor fuente de abastecimiento y tratamiento requerido.

Los exámenes bacteriológicos ofrecen la prueba más sensible para detectar la contaminación fecal reciente, y por ende potencialmente más peligrosa; de ese modo, proporcionar una evaluación sanitaria de la calidad el agua, que tiene un grado de sensibilidad que no se logra en los análisis químicos de rutina. Es impredecible que el agua sea sometida a exámenes regulares y frecuentes por cuanto la contaminación puede ser intermitente y no haber sido detectada por el examen de una sola muestra. Por ese motivo, es importante que el agua potable sea sometida con frecuencia a un examen simple y no que se le someta, de vez en cuando, a un examen más complicado o a toda una serie de pruebas. Siempre es prioritario garantizar que los exámenes bacterianos habituales se realicen de forma permanente cuando las instalaciones y los recursos humanos son limitados.

Debe de tenerse en cuenta que todo lo que un análisis bacteriológico puede probar es que, en el momento del examen, se puede o no demostrar presencia de contaminación, o de bacterias indicativas de contaminación fecal, en una determinada muestra de agua utilizando determinados métodos de cultivo. Además, los resultados de los exámenes bacteriológicos de rutina siempre habrán de interpretarse a la luz de un conocimiento cabal de los sistemas de abastecimiento de agua, incluyendo su fuente, tratamiento y su distribución. Toda vez que ocurran cambios en las condiciones establecidas que conduzcan al deterioro de la calidad del agua distribuida aún en los casos en que solo haya indicios de una mayor posibilidad de contaminación, deberá intensificarse la frecuencia de los exámenes bacteriológicos, a fin de que, con una serie de muestras tomadas en lugares bien escogidos, sea posible identificar el riesgo y adoptar medidas productivas del caso. Las veces en que se perciba, a través de inspecciones sanitarias incluidas las de tipo visual, que un sistema de abastecimiento de agua está obviamente expuesto a la contaminación, deberá emprenderse una acción de tipo correctivo independientemente de los resultados que aporten los exámenes bacteriológicos (OPS, 1987).

2.3 Organismos coliformes

Los microorganismos coliformes están distribuidos ampliamente, en todas partes, en el sentido de que los bacilos coliformes se encuentran en las vías intestinales del hombre y animales, tanto de sangre caliente como fría. Típicamente dentro de esta familia se encuentran géneros de la familia Enterobacteriaceae que fermentan fácilmente la lactosa: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*, son las más comunes; aunque algunas especies no fermentan la lactosa antes de las 48 horas por lo que se descartan del grupo (Fernández, 1981).

El concepto de organismos coliformes, aplica a todas aquellas bacterias semejantes a la *Escherichia coli* en su hábitat, morfología y cultivo, ha llegado por el uso a conformar a un grupo de microorganismos que comparten ciertas características cuyas relaciones taxonómicas entre sus miembros son mas bien fortuitas (Zapuche, 1997).

2.3.1 Definición

La definición más acabada del grupo coliforme las describe como bacterias aerobias o facultativamente anaerobias, Gram negativas, no esporuladas que fermentan la lactosa con producción de gas dentro de las 48 hrs de incubación a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. También se encuentra en la literatura otras designaciones como grupo Coli-Aerogenes , coliformes totales y grupo *Escherichia aerobacter*.

La definición anterior al menos en el caso del agua es de un valor práctico pues permite efectuar el análisis con fines sanitarios de acuerdo con la propia descripción (Zapuche, 1997).

2.3.2 Grupo coliforme

Dentro de la definición anterior se puede incluir un grupo heterogéneo de microorganismos con hábitat primordialmente intestinal; aunque también, se incluyen bacterias de origen no intestinal, que cumplen con las características de la definición. Por lo tanto, los organismos

coliformes no necesariamente guardan una relación directa con una contaminación de origen fecal y en consecuencia, tampoco con la presencia de patógenos entéricos. Los géneros típicos del grupo coliforme se encuentran dentro de la familia de las enterobacterias. *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsella* y *Citrobacter* son los más comunes, aunque algunas de sus especies no fermentan la lactosa antes de las 48 hrs por lo que se descartan del grupo (Zapuche, 1997).

2.3.3 Desarrollo

Los miembros del grupo coliforme proliferan abundantemente en los medios de cultivo simple. Sus demandas nutricionales son satisfactorias sin necesidad de recurrir a compuestos especialmente complejos. La temperatura óptima y los límites para su crecimiento corresponden a los de las bacterias mesofílicas, esto es, una óptima entre 32 y 37 °C con un límite superior cercano a los 45-46 °C. La capacidad para desarrollarse a temperatura superior a 40 °C la exhibe un grupo especial dentro de los coliformes que en la actualidad se designan como fecales. Pueden generalizarse por una temperatura de 4 °C o menos impedirá la proliferación de coliformes; temperaturas superiores de refrigeración mantienen su número o permiten ligeros incrementos. Si el tiempo de conservación a 4 °C se prolonga, eventualmente los coliformes entran en actividad. El pH óptimo para su desarrollo se encuentra próximo a la neutralidad. Los microorganismos del grupo crecen bien en aerobiosis pero muestran capacidad para hacerlo en potencial de oxidación-reducción bajos (Fernández, 1981).

2.3.4 Recuento de organismos coliformes

Los organismos coliformes 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 base a las características más constantes que exhibe la especie tipo de grupo, *Escherichia coli*. Esta simplificación sin embargo da lugar a que se incluya en el grupo, bacterias de origen no intestinal, que comparten las características que la definición impone, por lo que no necesariamente guardan una relación

directa con la contaminación de origen fecal y en consecuencia, tampoco con la presencia de patógenos entéricos (Amador, 1993).

La demostración y el recuento de organismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivo líquidos o sólidos con características selectivas y/o diferenciales.

La definición que se ha dado para los organismos coliformes es de orden funcional. Dicha definición los describe como bacilos cortos Gram negativos capaces de fermentar la lactosa con producción de gas, dentro de las 48 horas de incubación a $35\text{ °C} \pm 2$ (Amador, 1993).

2.3.4.1 Coliformes fecales

Con el propósito de simplificar la investigación se ha introducido el término de coliformes fecales para referirlo a un grupo de microorganismos más específico que el de los coliformes y con mayor identidad a *Escherichia coli*. El recuento de este grupo de bacterias, cuya conceptualización es de orden funcional, se fundamenta en la capacidad del microorganismo para producir indol y fermentar la lactosa a temperaturas elevadas (44.5 °C). Bajo estas condiciones se excluyen cepas de coliformes de asiento no intestinal, lo que le da mayor especificidad al estudio (Amador, 1993).

La prueba presuntiva se realiza en caldo lactosado a 35 °C durante 48 horas considerando la prueba positiva al observar producción de gas.

La prueba diferencial se hace inoculando caldo EC a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva, incubando a 44.5 °C durante 24 horas. La producción de gas, confirma coliformes fecales (Amador, 1993).

2.4 Salmonella

El genero *Salmonella* tiene varias especies que son patógenas del hombre y animales. Estos microorganismos son bacilos cortos gram negativos de 0.5 a 0.7 por 1 a 3 micras que no

forman esporas. Se mueven por flagelos peritricos. Aunque son anaerobios facultativos se desarrollan bien en los medios de cultivo ordinarios en presencia de oxígeno, no requieren elementos nutricionales complejos para crecer y multiplicarse; en medios simples de cultivo, con glucosa como fuente de Carbono y sales de amonio como fuentes de Nitrógeno se puede obtener un buen desarrollo (Fernández, 1981)

La temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C y puede hacerlo dentro de amplios márgenes 5 a 47 °C. El pH óptimo para su desarrollo se encuentra en el rango de 6.5 a 7.5. La sobrevivencia de la *Salmonella* en el medio ambiente fuera del cuerpo del hombre y de los animales está determinado por: el grado de humedad ambiental, la temperatura, la exposición a agentes químicos y la composición del material en que se encuentre. Quizás el 50 % de las células mueren en las primeras 48 horas (Fernández, 1981).

La salmonellosis es un proceso infeccioso cuyo cuadro clínico en el hombre varía desde formas muy agudas que terminan fatalmente hasta los casos de infección muy leve o del todo asintomática. El período de incubación transcurre dentro de límites de 3 a 72 horas y excepcionalmente más horas. Aunque una tendencia es de 12 a 20 hrs. Se requiere de 50 células en la fase logarítmica a su inicio, 400 a la mitad, 480 al final de esta fase y 150000 células en fase estacionaria para alcanzar la dosis letal: 50% en embriones de pollo inoculados (Fernández, 1981)

Los síntomas entre los individuos mas susceptibles suelen aparecer abruptamente iniciándose con dolor abdominal en la parte alta, nauseas, vómito y diarrea, además de sensaciones de malestar intenso y cefalea frecuente (Fernández, 1981).

2.5 *Vibrio cholerae*

El genero *vibrio* de la familia *vibrionaceae* se compone de un grupo de microorganismos relacionados que se caracterizan por ser bacilos cortos Gram negativos que algunas veces se ven en los cultivos formando cadenas como una “ese” en espinal.

Son bacilos cortos, rectos o curvos generalmente móviles por poseer flagelos polares, son quimioorganotróficos con metabolismo fermentativo y organotrófico. El *Vibrio cholerae* es anaerobio facultativo, posee ambos metabolismos respiratorio y fermentativo.

Crece en temperaturas de 16 a 42 °C siendo la temperatura óptima de 32 °C. Es indispensable la reacción alcalina para su desarrollo; crecerá dentro de un rango de pH que va de 6.4 a 9.6 y por lo regular se cultiva en un medio alcalino con pH de 7.8 a 8.7 de proteínasa y neuroaminidasa. Esta última provoca el desprendimiento del ácido neuramínico situado en la superficie celular de la mucosa intestinal, disminuyendo la rigidez de su estructura y reduciendo su estabilidad.

La enterotoxina (colerógeno) conocida por el germen pone en actividad la enzima adenil ciclasa que se encuentra en las epiteliales del intestino delgado, incrementa la producción del ciclo adenosinmonofosfato, lo que conduce a la alteración del mecanismo de la permeabilidad de las células epiteliales, proceso que favorece al desarrollo de una diarrea profusa. La deshidratación rápida se acompaña de la pérdida de electrolitos particularmente de potasio y de bicarbonato de sodio. En el cólera la prolongación del período de incubación oscila entre unas horas y 6 días en promedio 2 a 3 días (Zapuche, 1997).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Descripción de la zona estudio

La laguna del Nainari es un cuerpo de agua de uso recreativo que cuenta con una extensión de 2 km al poniente de Cd. Obregón. Se encuentra conectada al canal bajo con una compuerta de entrada y otra de salida. Esta agua esta destinada para uso recreativo ya que la laguna es un lugar de esparcimiento para los ciudadanos en dicha ciudad.

2.2 Período y puntos de Muestreo

Se tomaron estratégicamente 6 puntos de muestreo alrededor de los 2 km de extensión de la laguna del Nainari de Cd. Obregón con la finalidad de hacer las muestras lo mas representativas posibles. El ciclo de muestreo de la presente investigación comprendió un período de tres meses, de Julio a Septiembre de 2004, realizándose dos muestreos mensuales cuyas fechas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Período de muestreo

Fecha de Muestreo	Número de muestreo
2 de Julio de 2004	Primer Muestreo
13 de Julio de 2004	Segundo Muestreo
4 de Agosto de 2004	Tercer Muestreo
17 de Agosto de 2004	Cuarto Muestreo
1 de Septiembre de 2004	Quinto Muestreo
13 de Septiembre de 2004	Sexto Muestreo

2.2.1 Toma y transporte de muestra

Se tomaron las muestras en frascos de vidrio esterilizados y limpios, con tapón esmerilado, debidamente etiquetados, con fecha, hora de muestreo y número asignado. Se sumergían de 15-20 Centímetros en el agua, procurando destapar el frasco dentro de ésta para minimizar el riesgo de contaminación por factores externos, posteriormente se transportaron en una hielera con hielo con el fin de mantener la muestra a 4 °C al laboratorio de investigación de microbiología del ITSON para su análisis, que sería no después de las 6 horas de tomada la muestra.

2.3 Análisis microbiológicos

- Determinación de cuenta total viable de organismos mesofilos aerobios por la técnica de vaciado en placa
- Determinación de el Número Más Probable (NMP) coliformes totales y fecales por la técnica de tubos de fermentación múltiple
- Aislamiento e identificación de *Salmonella sp*
- Aislamiento e identificación de *Vibrio cholerae*

2.3.1 Cuenta Total Viable de organismos mesófilos aerobios por la técnica de vaciado en placa

Se agito la muestra vigorosamente alrededor de 25 veces con le fin de lograr una completa homogenización. Se tomaron 10 ml de la muestra y se agregaron a un frasco que contenia 90 ml de agua estéril obteniendo así la dilución 10^{-1} ; de esta dilución se tomo 1 ml y se agrego a un tubo que contenia 9 ml de agua estéril obteniendo así 10^{-2} , así sucesivamente hasta la dilución 10^{-4} . De cada una de las diluciones se agrego 1 ml a cajas petrit y vació 15-20 ml del medio de cultivo estéril fundido se dejo solidificar incubando las placas por 48 hrs a 35 ± 1 °C., Se efectuo el recuento de las colonias desarrolladas a las 24 hrs y se incubaron de nuevo a las 48 hrs Se efectuo el recuento de las colonias desarrolladas y previo calculo se reporto la cuenta estándar de bacterias mesofilicas aerobias por ml de muestra como UFC/ml que se obtiene multiplicando el número de colonias obtenidas por la inversa del factor de dilución correspondiente a la placa contada (Microbiología sanitaria, 1989).

2.3.2 Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de tubos de fermentación múltiple.

2.3.2.1 Prueba presuntiva

Para esta prueba se utilizaron diluciones de 10^{-1} hasta 10^{-4} de la muestra y con estas se inocularon los tubos por triplicado que contenian 10 ml de caldo lactosado y campana de Durham. Después de inoculados los tubos, se incubaron a 35- 37 °C por 24 – 48 hrs. A las 48 horas los tubos en los que se produjo gas y turbidez se consideraron como positivos, lo cual se aprecia cuando se forman burbujas en la campana de Durham. Se verifico antes de inocular que las campanas no tuvieran burbujas con el fin de evitar falsos positivos. Los tubos en los que no se produjo gas se consideraron negativos y se descartaron.

2.3.2.2 Prueba confirmativa

A partir de los tubos que dieron positiva la prueba presuntiva, se inocularon por 2 asadas tubos que contenían de 8 a 10 ml de caldo verde bilis brillante con campanas Durham. Se incubo a 35 – 37 °C durante 24-48 hrs y se consideraron positivos los tubos que presentaron producción de gas y turbidez. La producción de turbidez y gas en la campana de Durham es una confirmación de la presencia de organismos coliformes totales en la muestra analizada.

2.3.3 Determinación de coliformes fecales por la técnica de tubos de fermentación múltiple, el Número Más Probable (NMP)

2.3.3.1 Prueba presuntiva

Para esta prueba se utilizaron diluciones de 10^{-1} hasta 10^{-4} de la muestra y con estas se inocularon los tubos por triplicado que contenían 10 ml de caldo lactosado y campana de Durham. Después de inoculados los tubos, se incubaron a 35- 37 °C por 24 – 48 hrs. A las 48 horas los tubos en los que se produjo gas y turbidez se consideraron como positivos, lo cual se aprecia cuando se forman burbujas en la campana de Durham. Se verifico antes de inocular que las campanas no tuvieran burbujas con el fin de evitar falsos positivos. Los tubos en los que no se produjo gas se consideraron negativos y se descartaron.

2.3.3.2 Prueba confirmativa

A partir de los tubos que dieron positiva la prueba presuntiva, se inocularon por 2 asadas tubos que contenían de 8 a 10 ml de caldo EC el cual es específico para la recuperación de *E. Coli*. Se incubo a baño maría a una temperatura de 44.5 °C durante 18-24 hrs y se consideraron positivos los tubos que presentaron producción de gas y turbidez. La

producción de turbidez y gas en la campana de Durham es una confirmación de la presencia de organismos coliformes fecales en la muestra analizada.

Nota: El NMP para coliformes totales y fecales se obtiene de tablas mediante una combinación de tubos positivos con valores ya establecidos.

2.3.4 Aislamiento e identificación de *Salmonella*

Para el aislamiento de *salmonella* se utilizaron 125 ml de caldo Selenito y cistina al cual se le agregaron asépticamente 15 ml de la muestra y se incubaron a 35-37 °C por 18-24 hrs. Se procedió a sembrar por agotamiento con el fin de obtener colonias aisladas en Agar Mac Conkey, y se incubó a 35-37 °C durante 24 hrs. Se realizaron pruebas bioquímicas para la identificación de *Salmonella sp* Se obtuvo el resultado del análisis de *salmonella* en 15ml de muestra.

2.3.5 Aislamiento e identificación de *Vibrio cholerae*

Para el aislamiento de *Vibrio cholerae* se utilizaron matraces con 225 ml de caldo peptona alcalino al cual se agregaron asépticamente 25 ml de la muestra y se incubaron de 35-37 °C por 24-48 hrs. Se resembró en cajas con Agar TCBS por agotamiento, y se incubaron a 35-37 °C durante 24 hrs, de las colonias aisladas se realizaron pruebas bioquímicas para identificar *Vibrio cholerae*. Se obtuvo el resultado del análisis de *Vibrio cholerae* en 25ml de muestra.

2.4 Pruebas bioquímicas

o Prueba de la oxidasa

Es una prueba empleada para determinar la presencia de las enzimas oxidasas. La prueba de la oxidasa se utilizó originalmente para determinar todas las especies de *Neisseria* pero más adelante se le utilizó para diferenciar las *Pseudomonaceae* de los miembros oxidasa negativos de las *Enterobacteriaceae*. Por otro lado se sabe que la mayoría de las bacterias

gram positivas son oxidasas negativas, muchos de los bacilos gram negativos tienen una actividad oxidasa variable (MacFaddin,1984).

La prueba consiste en separar el microorganismo con una asa de platino y extenderlo sobre la superficie de una tira que contenga dehidrocloruro de tetrametil-p-fenilendiamina. La reacción positiva se observa por la producción dentro de los primeros 18-20 seg. De un color púrpura oscuro en la tira.

○ **Medio SIM**

Este medio se utiliza básicamente para la identificación de enterobacterias que tengan la capacidad de formar sulfuros, producir Indol y que tienen movilidad.

El medio se siembra por picadura con una asa recta. La producción de ácido sulfhídrico se determina con la producción de un color negro en el medio; la movilidad se manifiesta por la presencia de turbidez alrededor de la picadura o bien en todo el tubo. Para determinar la producción de Indol se agregan 5 gotas de éter etílico y 5 gotas del reactivo de Kovac's, la prueba se considera positiva si aparece un anillo de color rojo en la superficie del medio (Mac Faddin,1984)

○ **Medio MIO**

Este medio se utiliza para observar movilidad, producción de Indol y descarboxilación de la ornitina. Para tales pruebas se siembra por picadura en el medio la colonia estudiada, se incuba durante 48 hrs a 37°C.

La movilidad se considera positiva cuando se observa turbidez en el medio y negativa cuando el crecimiento es solo en la picadura. La reacción de descarboxilación de la Ornitina se lleva a cabo en anaerobiosis por lo que la prueba se lee en el fondo del tubo y se considera positiva cuando se observa un color púrpura y negativa cuando se presente un color amarillo en el fondo.

Para la determinación de indol se agregan 5 gotas del reactivo de Kovac's al medio inoculado, la prueba se considera positiva cuando se forma un anillo de color rojo en la superficie del medio negativa cuando es de color amarillo(Mac Faddin,1984).

○ **Agar LIA**

Este medio se emplea para determinar la descarboxilación y desaminación de la lisina. La primera reacción se lleva a cabo en condiciones de anaerobiosis y la segunda en aerobiosis. El medio se inocula por picadura y por estría en la superficie del mismo, los resultados se interpretan de la siguiente manera:

Descarboxilación positiva: fondo del medio color púrpura.

Descarboxilación negativa: fondo del medio color amarillo.

Desaminación positiva: superficie del medio color rojo.

Desaminación negativa: superficie del medio color púrpura.

○ **Agar TSI**

En este medio se determina la capacidad de un organismo de aprovechar la glucosa y la lactosa incorporadas en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfhídrico (Mac Faddin, 1984).

Es un medio diferencial muy usado en la identificación de enterobacterias patógenas. Su modo de acción es semejante al medio de Kligler que contiene dos azúcares, adicionado además con 1% de sacarosa. Esto permite el reconocimiento y exclusión de *Proteus*, *Hafnia* y *Providencia*, no fermentan la lactosa o lo hace muy lentamente y sí en cambio fermenta la sacarosa con bastante rapidez, lo cual permite excluir a este grupo de bacterias de *salmonella* y *Shigella*.

○ **Caldo Malonato**

Este medio determina la capacidad de un microorganismo de utilizar al malonato de sodio como única fuente de carbono, con la siguiente alcalinidad; ayuda a la diferenciación entre los géneros: *Alcaligenes faecalis* (+) de *Acinetobacter*, *Arizona* (+)

De *Salmonella* por lo general (-), grupos de *klebsiella* – *Enterobacter* por lo general (+) de *E. Coli* (-) (Mac Faddin, 1984).

El caldo se inocula con la cepa estudiada, se incuba a 37° C durante 48hrs. La prueba positiva se observa en un viraje de color del medio, de verde claro a azul.

○ **Caldo urea**

Se utiliza sobre todo para diferenciar los organismos *Proteus*, rápidamente ureasa positivos de otros miembros de las enterobacteriaceae. El medio se siembra por asada simple a partir de la colonia que se quiere identificar. La prueba positiva se observa por un vire de color que va de rosa pálido a un color rojo violeta intenso.

○ **Prueba Rojo De Metilo**

En esta prueba se determina la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa, y vencer la capacidad amortiguadora del sistema, así como también esa una prueba cualitativa de la producción de ácido (Mac Faddin, 1984).

El medio se siembra por asada simple, se incuba por 48hrs a 37°C, se agregan unas gotas del reactivo rojo de metilo, se deja reposar y si se observa una coloración rosa en la superficie del medio se considera positiva la prueba. La reacción es positiva principalmente para *E. Coli* y negativa para *Enterobacter* y *Klebsiella*.

○ **Prueba de Vogues-Proskauer**

Con esta prueba se trata de determinar la capacidad de algunos microorganismos de elaborar un producto final neutro llamado acetil-metil-carbinol (acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa.

La reacción es positiva cuando aparece un color rojo en la superficie del medio, después de la adición de 0.6ml de α -naftol y 0.2ml de KOH al 40%. La prueba es negativa cuando aparece un color amarilloso en la superficie (Mac Faddin, 1984).

○ **Agar Citrato de Simon**

Esta prueba se utiliza para determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para su metabolismo, provocando alcalinidad. Ayuda a la diferenciación entre los generos: *Edwardsiella*(-) de *Salmonella* por lo general (+), *Serratia liquefaciens* (+) de *Yersinia pseudotuberculosis* (Mac Faddin, 1984).

Este medio se inocula por picadura en el botón y estría en la superficie. La reacción positiva se puede observar por un vire en el color que va de verde a un azul intenso. La prueba es negativa cuando el medio permanece sin cambios.

○ **Gelatina Nutritiva**

Este medio se utiliza para investigar la presencia de bacterias proteolíticas en los análisis, ayuda principalmente para la identificación de Enterobacterias como *Serratia* que generalmente es positiva (Mac Faddin, 1984).

Las colonias puras se siembran por picadura en el medio y se incubaron de 35 a 37°C durante 48 horas. Pasado este tiempo se colocan los tubos a 4°C para observar aquellos en los que la licuefacción de la gelatina es positiva.

VI.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios

En la Tabla 2 se puede apreciar que el 100 % de las muestras presentan desarrollo de organismos mesófilos aerobios en un rango de 100 a 137000 UFC/ml registrando los conteos más altos el sitio de muestreo número 6, donde los paseantes contribuyen en gran medida a la contaminación del lugar. Y los menores registros fueron en el sitio de muestreo número 1.

No se puede determinar mediante este análisis si ésta agua es un riesgo para la salud del paseante ya que el objetivo principal de este parámetro es únicamente como indicador de la posible presencia de gérmenes patógenos (Fernández, 1981).

Es importante mencionar que el primer muestreo se realizó mientras la laguna no estaba siendo alimentada y el nivel del agua era mínimo. Comparándolo con los resultados del sexto muestreo donde el nivel y el abasto ya eran buenos, en la tabla 2, se puede ver que la contaminación va en función del nivel y el tiempo de residencia del agua.

Tabla 2. Resultado de la cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios en UFC/ml en muestras de agua de la Laguna del Nainari en un período de muestreo de julio a septiembre de 2004.

Muestreo	Fecha	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
1	2 de Julio 2004	1780	19600	14300	137000	15700	26000
2	13 de Julio 2004	7900	20000	2700	20300	5000	105000
3	4 de Agosto 2004	11700	3400	21900	4700	3700	50000
4	17 de Agosto 2004	1760	2190	1290	1730	1210	3100
5	1 de Septiembre 2004	2300	1520	1270	960	1520	66000
6	13 de Septiembre 2004	530	100	300	480	770	1750

4.2 Número Más Probable (NMP) de Coliformes totales

En la Tabla 3 se observan los resultados del Número más probable (NMP/100 ml) el 77.77 % se encuentra por encima del parámetro establecido para coliformes totales en aguas de uso recreativo que es de 1000 UFC/100 ml según la Gaceta Ecológica (1990) de manera que solo el 22.22 % de las muestras cumplieron con dicho parámetro.

El mayor registro de este tipo de contaminación se observó en el primer muestreo, cuando el nivel del agua era mínimo y la concentración de materia orgánica era mayor, lo que puede ser el factor principal de dicha contaminación, aunado a que los paseantes tuvieron

mayor acceso al agua y por ende más influencia en la contaminación de la misma. Cabe mencionar que en todos los muestreos se hizo presente la contaminación por coliformes totales.

Tabla 3. Resultados del Número Más Probable (NMP /100 ml) de coliformes totales en muestras de agua de la Laguna del Náinari tomadas en un período de julio a septiembre de 2004.

Muestreo	Fecha	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
1	2 de Julio 2004	20000	2100	4000	20000	210000	110000
2	13 de Julio 2004	9000	2000	50000	4000	15000	150000
3	4 de Agosto 2004	2300	2100	9000	4000	1500	2100
4	17 de Agosto 2004	1500	700	400	900	9000	400
5	1 de Septiembre 2004	4000	400	1500	900	9000	2300
6	13 de Septiembre 2004	00	400	2300	2300	4000	9000

4.3 Número Más Probable (NMP) de coliformes fecales

Para el Número Más Probable de coliformes Fecales como se observa en la Tabla 4, el 88.88% de las muestras registraron la presencia de estos microorganismos en NMP/100 ml mismo porcentaje que sobrepasó el límite establecido por la Gaceta ecológica (1990) que es de 200 NMP/100 ml en aguas de uso recreativo. Esto hace que el agua de la Laguna del Náinari no sea apta para uso recreativo. La mayor contaminación del tipo fecal se registró en el primer muestreo cuando el nivel de la laguna era mínimo. Los paseantes y sus mascotas tenían un mayor acceso al agua lo que pudo haber influido directamente ya que sus heces fecales son fuente directa de dicha contaminación.

Tabla 4. Resultados del Número Más Probable (NMP /100 ml) de coliformes fecales en muestras de agua de la Laguna del Náinari tomadas en un período de julio a septiembre de 2004.

Muestreo	Fecha	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
1	2 de Julio 2004	20000	2100	4000	2000	210000	110000
2	13 de Julio 2004	9000	700	4000	4000	15000	50000
3	4 de Agosto 2004	400	2100	4000	2300	1500	900
4	17 de Agosto 2004	00	700	400	900	900	400
5	1 de Septiembre 2004	400	400	1500	900	4000	00
6	13 de Septiembre 2004	00	00	400	400	1100	400

4.4 Aislamiento e identificación de *Salmonella*

El 100% de las muestras analizadas para la identificación de *Salmonella* fueron negativas. Lo que indica la ausencia de mencionado microorganismo en el agua de recreación de la Laguna del Náinari.

4.5 Aislamiento e identificación de *Vibrio cholerae*

El 100% de las muestras analizadas con el fin de identificar *Vibrio cholerae* fueron negativas. Lo que indica que no hay presencia de dicho microorganismo en el agua de la Laguna del Náinari.

4.6 Otros microorganismos

Las colonias que se aislaron en agar Mac Conkey y en TCBS, fueron identificadas en los puntos de muestreo que presentaron mayor incidencia de coliformes.

Aunque no se detectó la presencia de *Vibrio cholerae* y *Salmonella* por pruebas bioquímicas estos análisis permitieron identificar los siguientes géneros de microorganismos: *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klepsiella* Tabla 5.

Tabla 5. Tabla de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos.

MICROORGANISMOS AISLADOS				
MEDIOS DE CULTIVO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klepsiella</i>
	Oxidasa	-	-	-
	Catalasa	+	+	+
SIM	Mov	-	+	-
	Indol	+	-	-
	SH ₂	-	-	-
MIO	Mov	-	+	-
	Indol	+	-	-
	Orn.	-	+	-
LIA	DA			
	DC	+	V	V
TSI	Glucosa	+	V	V
	Lactosa	+	V	V
	Gas	+	+	+
	SH ₂	-	-	-
Malonato		-	V	-
Caldo Urea		-	-	+
Citrato de Simons		-	+	+
RM-VP	RM	+	-	-
	VP	-	-	+
OF		O/F	O/F	O/F
Gelatina	licuefacción	-	-	-

CONCLUSIONES

Según los datos obtenidos en el presente trabajo de investigación, se llegó a las siguientes conclusiones:

- El 100 % de las muestras presentaron desarrollo de organismos mesófilos aerobios en un rango de 100 a 137000 UFC/ml.
- El análisis del Número Más probable (NMP) de coliformes totales indicó que el 88.89 % de las muestras excedieron el criterio de calidad establecido para aguas de uso recreativo.
- Respecto al análisis de coliformes fecales mediante el Número Más Probable (NMP) el 88.88% de las muestras presentaron crecimiento. Este mismo porcentaje sobrepasó los límites establecidos para este criterio.
- En el 100% de las muestras no se determinó la incidencia de *Salmonella* y *Vibrio cholerae*.
- Se logró identificar otros microorganismos de interés sanitario como *Escherichia coli*, *Enterobacter Sp* y *Klepsiella Sp*

BIBLIOGRAFIA

Amador L. (1993) Manual de laboratorio microbiología sanitaria. Instituto Politécnico Nacional, Departamento de microbiología.

Badui S. (1981) Química de los alimentos. Editorial Alambra Mexicana, México DF.

Cantú S. E, (2000) Evaluación microbiológica del agua y sedimento de la presa Oviachi Tesis, ITSON, Cd. Obregón Sonora.

Félix F. A. (1997) Calidad bacteriológica del agua subterránea del Valle del Yaqui, Sonora, México. Tesis ITSON, Cd. Obregón, Sonora.

Fernández E. E, (1981) Microbiología sanitaria: agua y alimentos Vol.1 Universidad de Guadalajara

Gray,N.F, (1996). Calidad del agua potable (problemas y soluciones) Editorial Acribia; Zaragoza, España.

Instituto Nacional de Ecología. Gaceta Ecológica (1990), México.

ITSEMAP Ambiental (1994). Manual de contaminación ambiental. España (1994) fundación MAFRE

Jhonson E. E. (1975). El agua subterránea y los pozos. UOP Inc. Saint Paul, Minnesota. Estados Unidos de America.

Mac Faddin F. J. (1984). Pruebas Bioquímicas para la identificación de Bacterias de importancia Clínica. 1ª E. Editorial MEDICA PANAMERICANA. Mexico D.F.

Organización Panamericana de la Salud. (1987) Guías para la calidad del agua potable, volumen II Criterios relativos a la salud y otra información de base. 1ª Edición. Editorial, Depto. Editorial de la Organización Panamericana de la Salud. México.

Zapuche I. C. (1997) Análisis fisicoquímico y bacteriológico de las diferentes marcas de agua purificada vendidas en Cd. Obregón sonora, México. Tesis, ITSON. Cd Obregón Sonora.

<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>

(<http://www1.ceit.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/05PrinEcos/175Lago.htm#Lagos%20y%20lagunas,2004>).

(<http://www.obregon.gob.mx/sitios.htm,2004>).

