

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala

CARRERA DE BIOLOGIA



T E S I S

**INCIDENCIA DE COLIFORMES FECALES, COLIFORMES
TOTALES Y ESTREPTOCOCOS FECALES, COMO INDI-
CADORES DE CONTAMINACION EN UNA LAGUNA DE
ESTABILIZACION DEL ESTADO DE MEXICO.**

1984

JOSE JESUS AGUSTIN NUÑEZ MORALES



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

LA PRESENTE TESIS SE REALIZO BAJO
LA ASESORIA DEL DR. FERMIN RIVERA
AGUERO, A QUIEN CON TODO RESPETO
Y ADMIRACION DEDICO ESTA INVESTI-
GACION.

A MIS PADRES:

EMMA Y JESUS

CON MI AGRADECIMIENTO POR LA COM-
PRENSION, EL APOYO Y EL AMOR QUE
SIEMPRE ME HAN PROFESADO. A ELLOS
DEDICO ESTA TESIS Y TODOS MIS ES-
FUERZOS POR SUPERARME.

A MI HERMANA:

LAURA ALICIA

POR SU APOYO Y CARIÑO INCONDICIONALES Y POR SU EFICIENTE PARTICIPACION EN LA ELABORACION DEL ES--CRITO ORIGINAL.

A MIS HERMANOS:

MIGUEL ANGEL

Y

JUAN CARLOS

CON MUCHO CARIÑO PARA EL BRILLANTE MEDICO Y EL INTELIGENTE ESTUDIANTE, ESPERANDO DE ELLOS SUPERACION Y --PROGRESO.

AGRADEZCO ESPECIALMENTE A MIS TIOS:

DELFINA NUÑEZ HEREDIA

ADOLFO CORONEL LUGO

ELIA MORALES DE CORONEL

SALVADOR MORALES OCHOA

JOSEFINA QUINTERO DE MORALES

SU AYUDA DESINTERESADA Y SUS SA-
BIOS CONSEJOS QUE ME GUIARON POR
SENDEROS DE RECTITUD HACIA LA ME-
TA FIJADA.

AGRADECIENDO SU COLABORACION EN LA
ELABORACION DE LAS GRAFICAS Y TA--
BLAS QUE SE PRESENTAN, ASI COMO EN
LA REDACCION Y CORRECCION DEL ES--
CRITO ORIGINAL, DEDICO MIS PENSAA--
MIENTOS Y LA PRESENTE TESIS A LA -
DRA. LAURA ZIMBRON PARDO.

HAGO UN ESPECIAL RECONOCIMIENTO --
POR SUS VALIOSAS APORTACIONES PRO-
FESIONALES A LAS SIGUIENTES PERSO-
NAS:

DR. FERMIN RIVERA A.

M. EN C. PEDRO RAMIREZ G.

I. Q. CARLOS HERNANDEZ CH.

BIOL. JESUS PONCE P.

Q.F.B. IRMA LETICIA GONZALEZ S.

Q.F.B. ANA MARIA LACY

AGRADEZCO AL CONSEJO NACIONAL DE -
CIENCIA Y TECNOLOGIA (CONACYT), LA
AYUDA QUE ME BRINDO.

AL H. JURADO:

DR. FERMIN RIVERA A.

DR. ROBERTO LOPEZ F.

M. EN C. PEDRO RAMIREZ G.

I. Q. CARLOS HERNANDEZ CH.

BIOL. NORMA NAVARRETE S.

A MIS AMIGOS

MARCO
MIGUEL
JAVIER

A MIS MAESTROS

A B R E V I A T U R A S

CF = COLIFORMES FECALES

CT = COLIFORMES TOTALES

DBO = DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO

EF = ESTREPTOCOCOS FECALES

NMP = NUMERO MAS PROBABLE

OD = OXIGENO DISUELTO

I N D I C E

INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODO	15
RESULTADOS	24
DISCUSION	28
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFIA	35

I N T R O D U C C I O N

[Las actividades humanas dan lugar a la producción de una amplia gama de productos residuales, muchos de los cuales pasan al agua, que actúa como vehículo de transporte] y en consecuencia, ha de ser cuidadosamente tratada antes de ser eliminada. [La contaminación según Odum (18), es un cambio perjudicial en las características físicas, químicas o biológicas de nuestra agua que pueden afectar nocivamente la vida humana o la de especies beneficiosas y los elementos contaminantes son los residuos de cosas que hacemos, utilizamos y arrojamos.

La contaminación aumenta no sólo porque, a medida que la gente se multiplica el espacio disponible para cada perso

na se hace más pequeño, sino también porque las demandas por persona crecen continuamente de modo que aumenta con cada año lo que cada una de ellas desecha. El problema de la contaminación es un problema de población (Woodwell, 1969) (22) y con el crecimiento de ésta, aunado al surgimiento de la actividad industrial, la contaminación de ríos, lagos y aguas subterráneas aumenta constantemente. La protección de los recursos del agua contra la contaminación es un requisito básico para el desarrollo de una sana economía y tanto para el mantenimiento de la salud pública como para la conservación de los recursos del agua, es esencial evitar la contaminación.

Existe, por lo tanto, una inminente y creciente necesidad de métodos para el tratamiento a bajo costo de aguas residuales. Estos métodos deben ser tales que su explotación y el mantenimiento de las plantas y de su equipo correspondan a la capacidad y aptitudes de los municipios en desarrollo. En los países como México, sobre todo por las importantes limitaciones económicas, resulta indispensable dar solución al tratamiento de las aguas residuales municipales mediante sistemas seguros, efectivos y económicos, que además, alcancen altas eficiencias por medio de actividades sencillas en su operación y su mantenimiento y así, propiciar el control de la contaminación del agua.

Se reconoce generalmente que el tratamiento biológico en alguna de sus formas (Machenthum, 1969) (15) es la solución más económica en el caso de las aguas domésticas.

Las Lagunas de Estabilización, que son una modalidad del tratamiento biológico, son la solución más adecuada para lugares donde el suelo no es caro, las cargas orgánicas fluctúan, existen restricciones económicas y hay escasez de personal preparado; (Gloyna, 1969) (9) tales condiciones se presentan en un alto porcentaje en los municipios del Estado de México. Una evaluación de costos demostraría que es considerablemente más barato tratar aguas residuales en Lagunas de Estabilización que por cualquier otro método, con tal de que el costo del terreno no sea prohibitivo.

El término Laguna de Estabilización de aguas residuales, corresponde a cualquier estanque o grupo de estanques -- previsto y proyectado para llevar a cabo un tratamiento biológico (Eckenfelder, 1961) (5).

Según antecedentes, (Caldwell, 1960) (3) las Lagunas han sido utilizadas desde hace cientos de años para el tratamiento de aguas residuales de origen humano o animal.

Sin embargo, en México, tan sólo en las últimas dos o tres décadas se han formulado criterios de cálculo a base de las exigencias volumétricas, de las cantidades adecuadas de carga orgánica y de los períodos de retención.

El tipo de Laguna de Estabilización depende de los objetivos del tratamiento. Usualmente un sistema de Lagunas se proyecta para recibir aguas domésticas sin un tratamiento previo, pero también puede preverse para tratar efluentes primarios o secundarios de industrias, para el pretratamiento de aguas residuales o para reducir la mayor parte de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), así como para reducir la concentración de agentes patógenos (Smith & cols., 1973) (19).

En las Lagunas de Estabilización de aguas residuales, -- los residuos orgánicos degradables son estabilizados por microorganismos y el número de agentes patógenos se reduce de un modo notable, principalmente debido al largo período de retención requerido por la estabilización. Los estudios sobre la reducción de bacterias en las Lagunas (Kenard & Valentine, 1974) (12) sobre las prácticas operativas y sobre la toxicidad de las aguas de desecho -- (Kiffrell & Furfari, 1963) (13) han proporcionado importantes datos básicos para mejorar los proyectos y la explotación. En opinión de un creciente número de profesionistas relacionados, las Lagunas de Estabilización están siendo objeto de estudios y mejoras suficientes para que puedan considerarse como uno de los sistemas más importantes de tratamiento de aguas residuales.

Las Lagunas de Estabilización están constituidas por embalses artificiales de flujo continuo con profundidades medias de 0.90 m. a 2.40 m., las cuales se emplean en el tratamiento de las aguas residuales compatibles con los procesos biológicos, lográndose significativas eficiencias en la eliminación de sólidos suspendidos, de materia orgánica medida como DBO, de bacterias coliformes y por supuesto de sólidos sedimentables, requiriéndose para ello de actividades sencillas de construcción, de operación y de mantenimiento, aunque como ya se ha mencionado, las áreas requeridas de terreno resultan ser de consideración, lo que implica que las condiciones topográficas, geológicas o de costo del terreno sean favorables; asimismo debe tenerse especial cuidado en su localización con respecto a los centros de población. Estas Lagunas pueden construirse en serie, en paralelo o individuales. El empleo de Lagunas de Estabilización puede reportar ventajas extraordinarias en gran número de casos, existiendo tales evidencias en muchas partes del mundo (Adams & cols., 1972) (1) en donde se han logrado notables economías con el uso de dicha forma de tratamiento. En tales Lagunas, resulta determinante que dentro de un ambiente facultativo se establezca una relación simbiótica entre las algas productoras de oxígeno y los grupos de bacterias aerobias, facultativas y anaerobias ya que,

en tales condiciones, se podrá tener en las zonas superiores el crecimiento abundante de algas que pueden saturar las Lagunas con Oxígeno Disuelto (OD), aprovechando previamente el amoníaco y el bióxido de carbono generado en el metabolismo bacteriano aerobio, así como la energía lumínica para llevar a cabo el proceso fotosintético, con lo cual podrá contarse con una importante fuente natural y económica de producción de oxígeno molecular, indispensable para la estabilización de la materia orgánica mediante la biodegradación por parte de las bacterias aerobias y facultativas, aunque es necesario destacar -- que en estos sistemas también resulta de gran relevancia la descomposición bacteriana anaerobia que se lleva a cabo en los estratos del fondo de las Lagunas, siendo las bacterias productoras del metano las responsables de una alta remoción de la DBO contenida en los sólidos sedimentables. Por lo tanto, puede decirse que en estos sistemas, la oxigenación por fotosíntesis y la fermentación -- con producción de metano, son los dos procesos que resultan claves para lograr la reducción significativa de la Demanda Bioquímica de Oxígeno, (DBO) (Hewitt, 1960) (11). Normalmente la finalidad del tratamiento de las aguas residuales no es sólo estabilizar los desechos putrescibles, sino también eliminar los agentes que pueden ser -- causa de enfermedades; el problema de la transmisión de

enfermedades a través de las aguas residuales requiere una escrupulosa atención.

En todas las aguas residuales existen numerosos agentes infecciosos, (Gameson & cols., 1967) (6) muchos de ellos son bacterias tales como: Vibrio cholerae, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Sh. flexneri, Sh. boydii, Sh. sonnei y Escherichia coli (serotipos patógenos) principalmente, aunque existen también Protozoos, Helmintos y Virus. Estos son los patógenos más frecuentemente transmitidos a través del agua y que causan enfermedades gastrointestinales, a saber, las fiebres tifoidea y paratifoidea, la disentería (bacilar y amibiana) y el cólera. Los organismos causantes de estas enfermedades están presentes en las heces o en la orina de una persona infectada y al ser descargadas pueden pasar a formar parte de un cuerpo de agua que en última instancia serviría como abastecimiento de agua potable, (Mata & cols., 1969) (16). Como un acarreador potencial de microorganismos patógenos el agua puede poner en peligro la salud y la vida. La incidencia de enfermedades gastrointestinales en México es bien conocida (Kumate, 1978) (14). Como la detección de los diferentes tipos de agentes patógenos tanto en las aguas residuales crudas como en las tratadas, exige mucho tiempo cuando no resulta imposible, se utilizan otras pruebas para descubrir el grado de con

tacto que una muestra de agua ha tenido con aguas residuales de origen humano.

[Se sabe que los patógenos que pueden entrar en los cuerpos de agua llegan ahí mediante descargas intestinales de humanos y otros animales. Además, ciertas especies de bacterias, particularmente Escherichia coli y organismos afines designados como coliformes, estreptococos fecales (p.ej. Streptococcus faecalis) y Clostridium perfringens, son habitantes normales del intestino grueso de humanos y otros animales y por consecuencia están presentes en las heces, (Geldreich, 1966), (8). Así, la presencia de cualquiera de estas especies de bacterias en el agua es evidencia de contaminación fecal de origen humano o animal. Si dichos organismos están presentes en el agua, el camino también está abierto para los patógenos intestinales, puesto que también ellos se encuentran en las heces.

En la actualidad se utilizan los análisis bacteriológicos para detectar coliformes fecales y estreptococos fecales como indicadores de contaminación. Un indicador bacteriológico de contaminación podría definirse como cualquier organismo que, por su presencia demuestre que ha ocurrido la contaminación por excrementos de humanos y animales, (Geldreich, 1962) (7). Por todo lo anterior, los coliformes fecales y los estreptococos fecales se consideran confiables indicadores de contaminación.]

El grupo de los coliformes comprende todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, Gram negativas, no esporuladas y de forma de bacilo que fermentan la lactosa con desprendimiento de gas en un plazo y a una temperatura determinados. Para la evaluación de este grupo se utilizan dos denominaciones: Coliformes Totales, que comprende todas las bacterias incluidas en el grupo y Coliformes Fecales que comprende solamente a los organismos provenientes de heces fecales de humanos y animales de sangre caliente.

Las principales ventajas que tienen los Coliformes Totales como indicadores de contaminación del agua son:

- a) Su ausencia es evidencia de la potabilidad del agua.
- b) Su densidad es una medida proporcional aproximada de la contaminación.
- c) Existen en mayor número que las bacterias patógenas.
- d) Persisten más tiempo en el medio acuático que los patógenos.
- e) Se cultivan fácilmente en el laboratorio.
- f) No son dañinas al hombre.

Estas características en conjunto hacen que los Coliformes Totales sean confiables indicadores de contaminación, aunque, como es de suponer existan ciertas limitaciones

en su desempeño como indicadores, las principales podrían ser:

- a) Algunas coliformes tienen amplia distribución -- (suelo, aire, etc.)
- b) Las pruebas para coliformes están sujetas a interferencias debidas a otras bacterias.
- c) Algunas coliformes se reproducen en el agua.

[En cuanto a los organismos del tipo Coliformes Fecales, se puede decir que también son buenos indicadores, las principales ventajas que reporta su uso son:

- a) La mayoría crecen a altas temperaturas.
- b) Su presencia nos indica contaminación fecal.
- c) Su supervivencia es más corta en un medio acuoso que las Coliformes Totales, por lo que una densidad grande indica contaminación reciente.
- d) Generalmente no se multiplican fuera del intestino.

También para estos organismos existen ciertas limitaciones en su papel como indicadores, algunas de ellas son:

- a) Las excretas incluyen algunas veces Coliformes Fecales que no crecen a altas temperaturas.]
- b) No hay una correlación consistente entre Coliformes Totales y Coliformes Fecales.

Las pruebas de Coliformes Fecales se aplican en estudios de calidad del agua como complemento de la determinación de la densidad de coliformes totales.

de la densidad de Coliformes Totales.

En el término *Estreptococos Fecales*, se agrupan todas las bacterias en forma de coco que ocurren generalmente en pares o en cadenas cortas, crecen en presencia de sales biliares, son Gram positivas, forman ácido con la dextrosa, no producen catalasas, descarboxilan la tirosina, son resistentes a la estreptomycin, penicilina, sulfonamidas y al calor y las condiciones de salinidad. Su utilidad como indicadores es muy discutida (Bonde, 1963) (2); sin embargo, su aplicación en pruebas de calidad de agua es muy difundida en la actualidad.

Las ventajas que reporta su utilización como indicadores son:

- a) Siempre están presentes en excrementos y descargas. Dan un índice de contaminación reciente.
- b) No se encuentran en aguas limpias o en sitios fuera del contacto con la vida humana.
- c) No se multiplican fuera del cuerpo animal.
- d) Son más resistentes a los electrolitos que las demás bacterias por lo que son importantes en los análisis bacteriológicos.

Las principales limitaciones que tienen los *Estreptococos Fecales* como indicadores de contaminación por excretas son:

a) Su densidad en las descargas es baja en relación con la de coliformes.

b) El tiempo de supervivencia en agua no está determinado adecuadamente.

c) Aún no se sabe su distribución en la naturaleza.

La determinación de los Estreptococos Fecales confirma la suposición de que los organismos coliformes identificados en una muestra de agua son de origen fecal.

Existen estudios de Mc Feters & cols. (1974) (17) que aportan datos sobre la supervivencia de los estreptococos en el agua. Otros autores como Herebrt & cols. (1966) (10) lo hacen en cuanto a su distribución en la naturaleza. En una evaluación de sus características, podría decirse que los estreptococos son buenos indicadores de contaminación reciente en los análisis bacteriológicos de calidad de agua.

El número de organismos coliformes y estreptococos se estima sobre la base de las determinaciones positivas obtenidas en siembras múltiples utilizando diluciones decimales. El resultado estadístico se expresa en forma de "número más probable" (NMP) por 100 mililitros.

Sin embargo, ninguno de los análisis bacteriológicos, virológicos o parasitológicos del agua de que hoy se dispone, pueden reemplazar a un conocimiento detallado del origen y de la historia de la contaminación (OMS, 1960).

El presente trabajo se desarrolló en las Lagunas de Estabilización del Ejido de Santo Tomás Atzingo, perteneciente al Municipio de Tlalmanalco, Edo. de México, (ver Mapa 1). El sistema lo constituyen dos lagunas conectadas en paralelo que se construyeron en el año de 1980 y reciben los desechos domésticos del poblado.

Geográficamente el ejido se localiza entre las coordenadas 19° 10' y 19° 15' de latitud Norte y 98° 45' y 98° 50' de longitud Oeste; tiene una altitud media de 2475 metros sobre el nivel del mar. El clima de la zona es templado, subhúmedo (Koppen) con lluvias en verano; el verano es fresco, la temperatura media del mes más caliente es menor de 22°C y una marcha de temperatura tipo ganges o gangético. La precipitación pluvial total es de 960.7 mm anualmente.

La precipitación máxima en 24 horas es de 84.5 mm (10 de junio de 1966). La temperatura media de esa zona es de 14.1°C. El número de días con lluvia es de 127, despejados 150 y nublados 51; la evaporación es de 1268.9 mm. La temperatura máxima exterior es de 29.0°C y la temperatura mínima exterior es de 3.0°C. A lo largo del año predominan dos tipos de vientos; vientos moderados variables y vientos débiles variables, dominando principalmente los segundos.

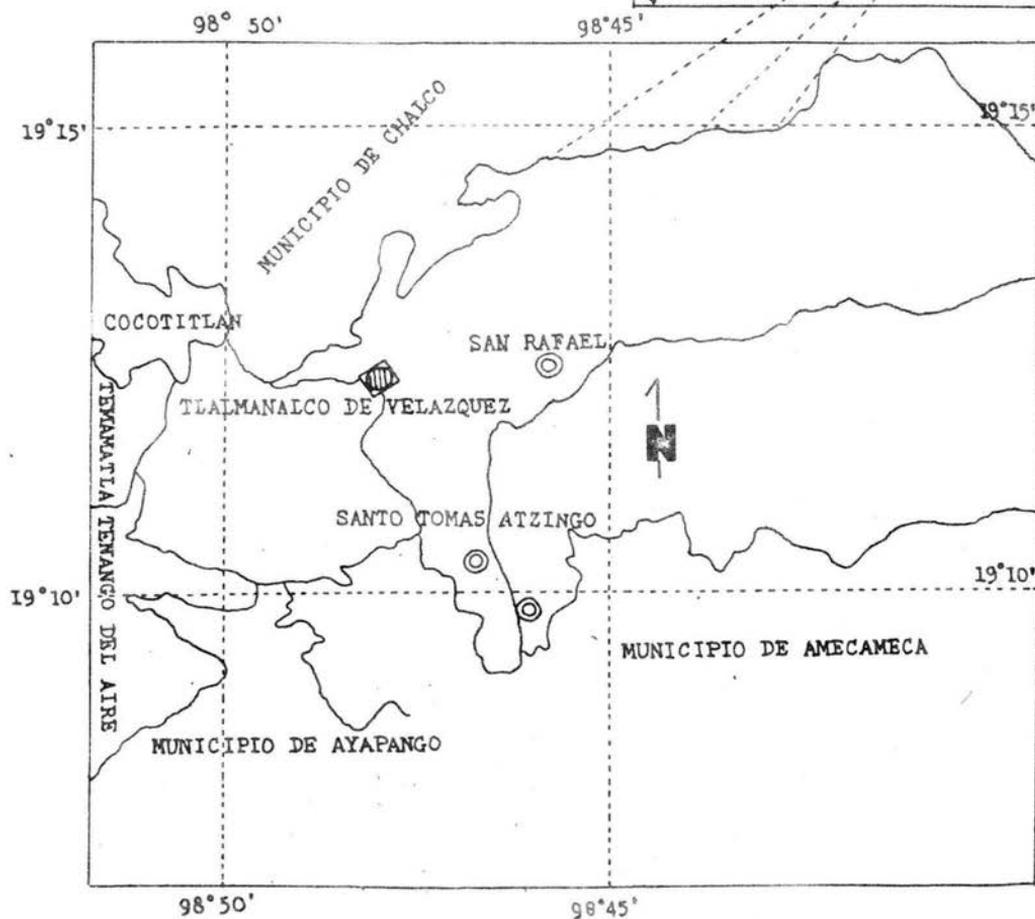
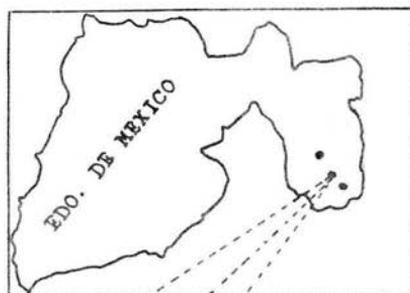
El poblado cuenta con agua potable desde el año de 1970,

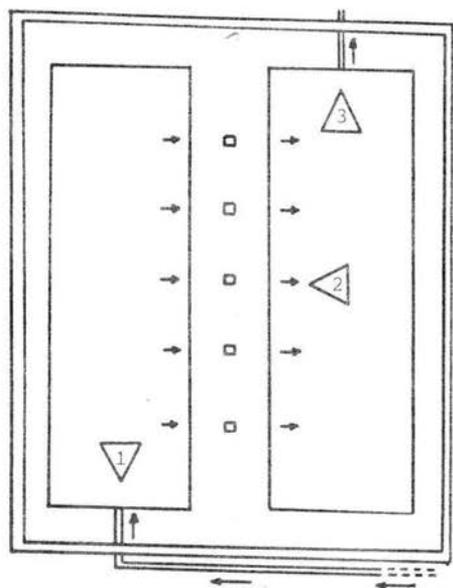
su fuente de abastecimiento es el Sistema de Morelos. No existe almacenamiento de agua. Existen tomas domicilia-- rias y alcantarillado.

La población en 1975 era de 858 habitantes, actualmente se estima en unos 1,200 habitantes, según datos obteni-- dos en la Presidencia Municipal de Tlalmanalco, Edo. de México.

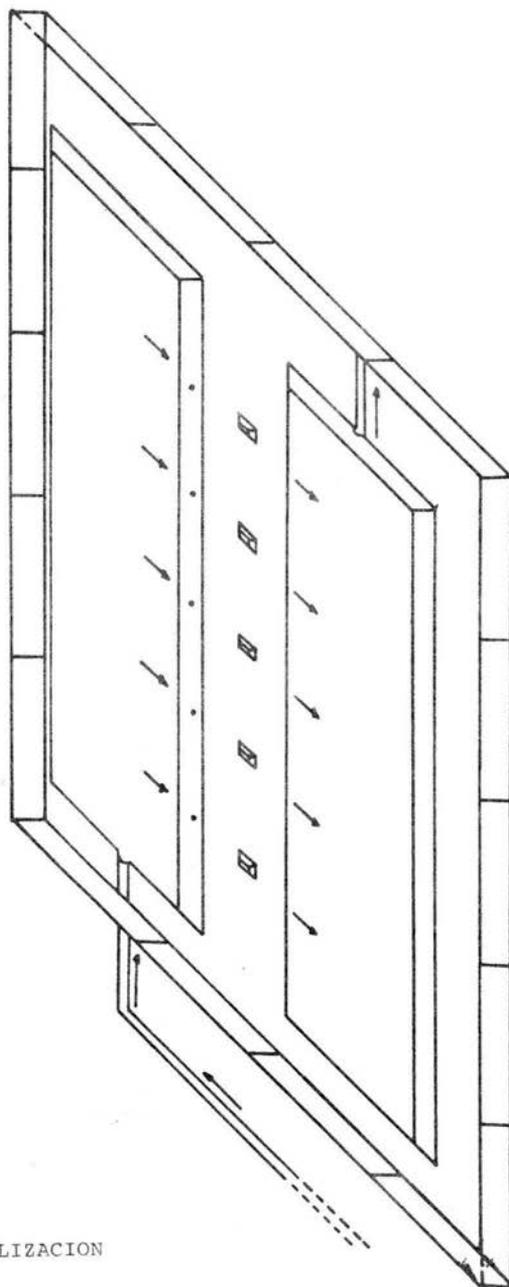
Las Lagunas de Estabilización se encuentran ubicadas a - las afueras del poblado y sus dimensiones son las si--- guientes: 14 metros de ancho, 40 metros de largo y 1.50 metros de profundidad aproximadamente. Están interconec-- tadas por 5 conexiones de las cuales sólo una se encuen-- tra en pleno funcionamiento y que corresponde al punto - dos de la toma de muestras (ver Figura 1); ambas Lagunas se encuentran protegidas por una cerca de alambre.

MAPA I
LOCALIZACION
DE
SANTO TOMAS ATZINGO





- 1.- ESTACION 1
- 2.- ESTACION 2
- 3.- ESTACION 3



PLANO DE LAS LAGUNAS DE ESTABILIZACION
EN PARALELO

F I G U R A 1

M A T E R I A L E S

Y

M E T O D O

Para la obtención de los resultados se empleó el método de fermentación en tubos múltiples descrito en el "Manual de Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas de Desecho", (21). Este método está considerado como Norma Oficial Mexicana publicada en el Diario Oficial el 24 de febrero de 1977./

Este método determina la presencia y el número de bacterias del tipo coliformes y estreptococos, mediante la siembra de una serie de porciones de un volumen determinado de muestra en tubos que contengan un medio favorable de cultivo. La prueba progresa a través de tres fases distintas: la Prueba Presuntiva, la Prueba Confirmativa y la Prueba Completa. Es posible detener el examen de una muestra de agua al finalizar cualquiera de estas fases siempre que se haya satisfecho el propósito de la prueba, o bien se puede continuar de una fase a otra. La Prueba Confirmativa y la Prueba Completa aumentan la certidumbre de que los resultados positivos que se obtienen en la Prueba Presuntiva se deben, de hecho, a bacterias coliformes y estreptococos y no a la actividad de otras clases de bacterias.—

Como en una Laguna de Estabilización se tiene la certeza de que existen coliformes y estreptococos (Dutka, 1975) (4), es por lo tanto válido, terminar el examen al finalizar la Prueba Confirmativa y así se hizo durante el de

sarrollo del presente estudio.

El método de los tubos múltiples se basa en leyes de probabilidades y se utiliza para obtener una estimación del número de bacterias en una muestra, que se expresa como el Número Más Probable (NMP). Por esta razón, generalmente se le llama "Método del NMP". Se requiere la siembra inicial, en medios de cultivo, de una o más porciones de volumen determinado de muestra y la aplicación de ensayos con un cultivo cualitativo adecuado en cada porción. Para cada porción de muestra se busca una respuesta positiva o negativa en relación con la presencia y densidad de bacterias coliformes y estreptococos. Después de finalizar con los procedimientos de laboratorio, se hace un recuento de todos los resultados positivos y negativos que se relacionan con los volúmenes iniciales de muestra que se sembraron. Por último, se determina el valor NMP, aplicando las tablas de los Números Más Probables, en lugar de hacer un cálculo separado por cada tubo o muestra. Sólo se pueden obtener resultados cuantitativos cuando los volúmenes de muestra que se siembran originalmente, se seleccionan en forma tal que, en una serie de tubos de cultivo sembrados con volúmenes definidos de muestra, se obtienen resultados positivos de algunas porciones de muestra y resultados negativos de otras.

En las muestras de agua de las Lagunas de Santo Tomás, -

resultó un poco engañosa la aparente facilidad de selección de las series de diluciones a escoger, las grandes fluctuaciones que se observaron en la densidad de bacterias, obligaron a utilizar diluciones muy altas para obtener resultados positivos y negativos. Con esto se quiere decir que las necesidades de siembra a veces las proporciona la experiencia con el agua que se está ensayando.

A continuación se detallan los aparatos y la cristalería que se utilizaron:

- 1.- Equipo para esterilización y conservación.
 - 1.1 Estufa de esterilización
 - 1.2 Autoclave
 - 1.3 Incubadora con regulador de temperatura
 - 1.4 Incubadora de baño María
 - 1.5 Alambique para agua o un aparato de destilación (desionización)
 - 1.6 Refrigerador con termostato
- 2.- Otros aparatos y cristalería
 - 2.1 Balanza con exactitud $\pm 2g.$, bajo una carga de 150g.
 - 2.2 Frascos de vidrio para muestra, de 150 ml.- con tapón esmerilado
 - 2.3 Tubos de dilución de vidrio Pyrex con tapón de rosca

- 2.4 Pipetas graduadas de cristal Pyrex de 1 ml. y de 10 ml.
- 2.5 Pipetero metálico para esterilización
- 2.6 Pissetas
- 2.7 Probetas de 250 ml.
- 2.8 Matraces Erlenmeyer de 150 ml.
- 2.9 Matraces aforados de 500 ml.
- 2.10 Mechero de Bunsen
- 2.11 Tubos de cultivo con casquillo de metal de 20 X 150 mm., con pequeños tubos invertidos de fermentación (Durham o de hemólisis), de 10 X 75 mm., ambos de cristal de borosilicato (Pyrex).
- 2.12 Canastillas para tubos de cultivo de forma rectangular de 10 X 5 aberturas
- 2.13 Asas de inoculación de 75 a 100 mm. de longitud de alambre calibre 24 B& de platino-iridio, con una circunferencia de 3 a 4 mm. de diámetro.

MEDIOS DE CULTIVO

Se utilizaron medios de cultivo de la marca comercial -- Bioxon envasados en forma pulverizada. A continuación se enlistan:

- a) Caldo Lactosado Para la Prueba Pre-
suntiva de Colifor-
mes Totales y Coli-
formes Fecales.
- b) Bilis Verde Brillante Para la Prueba Con-
firmativa de Coli-
formes Totales.
- ~~c) Medio EC Para la Prueba Con-
firmativa de Coli-
formes Fecales.~~
- d) Medio Azida Dextrosa Para la Prueba Pre-
suntiva de Estrepto-
cocos Fecales.
- e) Medio Etil Violeta Amina Para la Prueba Con-
firmativa de Estrep-
tococos Fecales
(EVA)

Todos estos medios de cultivo se prepararon siguiendo --
las especificaciones del fabricante, esterilizándolos a
121° C (15 lb/pulg²) durante 15 minutos; posteriormente
eran almacenados (nunca por más de tres días) a 25° C.
Todos los tubos contenían 10 ml. del medio cultivo co---
rrespondiente. La dilución de las muestras se efectuó -
con agua destilada (desionizada).

PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO

Se tomaron muestras simples superficiales en frascos de vidrio estériles de 150 ml., llenándose a las 3/4 partes de su capacidad, obteniéndose en los puntos descritos en el diagrama de las Lagunas (ver Figura 1), que corresponden a:

- 1.- ZONA DEL AFLUENTE
(Estación 1)
- 2.- ZONA DE CONEXION
(Estación 2)
- 3.- ZONA DEL EFLUENTE
(Estación 3)

- En el momento de tomar las muestras, se registraron las temperaturas del agua y la temperatura ambiente.
- Se midió también el pH con un potenciómetro de campo, - aproximadamente en cada punto de muestreo.
- Asimismo, se determinó el OD por el método Winkler modificado.

Se tomaron en cuenta estos parámetros, puesto que son una referencia importante de las condiciones fisicoquímicas existentes en el momento de tomar las muestras.

Los sitios de muestreo se eligieron con base a observar la calidad bacteriológica del agua en tres puntos claves del sistema, diferentes entre sí por el tiempo de permanencia del agua.

Los frascos con la muestra se transportaron al laboratorio en hielo a una temperatura aproximada de 5° C. Los análisis de las muestras siempre se iniciaron dentro de las dos horas siguientes a su obtención.

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

a) Primer día. Se preparan los tubos de Caldo Lactosado y de Azida Dextrosa, disponiéndose en series de tres tubos por cada dilución, teniéndose tres diluciones para cada punto de toma de muestra y se inoculan con 1 ml. de la muestra diluida adecuadamente. Todos los tubos se incuban a $35^{\circ} \text{C} \pm 0.5^{\circ} \text{C}$ durante 24 horas ± 2 horas.

 b) Segundo día. Después de la incubación establecida se examinan los tubos. Los de Caldo Lactosado se consideran positivos si presentan formación de gas (burbuja) dentro del tubo de hemólisis invertido. Los de Azida -- Dextrosa se consideran positivos si presentan acidez del medio (Turbiedad). Los tubos positivos de Caldo Lactosado, se excluyen de la canastilla y de ellos, se resiembra en Medio de Bilis Verde Brillante y en Medio de EC. Los tubos del Medio de Bilis Verde Brillante se ponen en

el lugar de los tubos positivos excluidos de Caldo Lactosado y se incuban junto con los tubos negativos durante 24 horas \pm 2 horas a $35^{\circ} \text{C} \pm 0.5^{\circ} \text{C}$. Los tubos recién sembrados con el medio EC se incuban en Baño María a $44.5^{\circ} \text{C} \pm 0.5^{\circ} \text{C}$ durante 24 horas \pm 2 horas.

De los tubos positivos del medio Azida Dextrosa se resiembr^(EVA) en Medio Etil Violeta Amina siguiendo el mismo procedimiento, o sea; los tubos positivos de Azida Dextrosa son sustituidos por los de Medio Etil Violeta Amina y se incuban nuevamente bajo las mismas condiciones.

c) Tercer día. Aquí es necesario diferenciar los cultivos con 24 horas de edad y los que tienen 48 horas de edad. Todos los cultivos positivos se anotan y los cultivos negativos de 48 horas también son registrados, esto es muy importante. Los cultivos negativos de 24 horas son incubados otras 24 horas \pm 2 horas bajo las mismas condiciones. En caso de que apareciera algún tubo positivo se resiembr en el medio correspondiente.

d) Cuarto día. Finalmente se deben haber registrado resultados positivos y negativos de los tubos, esto se anota como la Prueba Confirmativa para cada medio de cultivo cualitativo respectivamente. Estos resultados dan una serie de tres números, que mediante las tablas y un factor de conversión de la dilución utilizada dan como resultado el "número más probable". Las tablas y los

factores aparecen en el "Manual de Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas de Desecho" (21).

A handwritten asterisk symbol is located to the left of the text, with a bracket-like line extending from its right side towards the text.

Para evaluar estadísticamente los resultados obtenidos, se utilizaron los métodos de Análisis de Varianza y Homogeneidad de Varianza, descritos por Snedecor y Cochran (1967) en su tratado sobre "Métodos Estadísticos". (20)

R E S U L T A D O S

Se realizaron catorce muestreos durante un período de 10 meses, comprendido desde febrero hasta noviembre de 1981. Las muestras de agua fueron obtenidas y analizadas según los métodos anteriormente descritos, los cuales concuerdan con el "Manual de Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas de Desecho" (21).

Los resultados de los análisis de las muestras se expresan en forma de Tablas, correspondiendo cada una de ellas con una estación de muestreo, (ver Fig. 1). La Tabla 1, muestra los datos de la zona afluyente o zona de ingreso del agua al sistema; de igual manera, los datos de la Tabla 2, son los obtenidos en la zona de conexión de las Lagunas y por último, en la Tabla 3 se pueden ver los datos de la zona efluyente o de salida del agua del sistema, después de llevado a cabo el tratamiento biológico.

El número de bacterias que se encuentre en cualquier volumen de agua definido, es una medida de la cantidad de aguas negras o desperdicios que se hayan descargado en el agua. Si hay gran número de esas bacterias, será intensa la contaminación y el agua no será de calidad satisfactoria y sí potencialmente insegura.

Un análisis cualitativo de los resultados, demuestra que el agua al ingresar al sistema de tratamiento, lleva consigo un alto porcentaje de organismos bacterianos (ver Tabla 1), expresado como el "Número Más Probable de Bacterias Por 100 ml".

N M P DE BACTERIAS / 100 ml

E S T A C I O N = 1

MUESTREO	CT	CF	EF
1	-	2×10^7	-
2	-	11×10^7	24×10^7
3	12×10^8	-	24×10^7
4	46×10^{12}	15×10^{12}	43×10^{11}
5	46×10^{11}	21×10^{11}	15×10^{11}
6	46×10^{11}	21×10^9	28×10^{10}
7	46×10^{12}	15×10^{12}	20×10^{11}
8	110×10^{12}	21×10^{11}	28×10^{11}
9	24×10^{14}	15×10^{12}	11×10^{14}
10	21×10^{12}	75×10^{11}	28×10^{11}
11	110×10^{12}	21×10^{12}	28×10^{11}
12	44×10^{11}	28×10^{11}	21×10^{11}
13	29×10^{12}	93×10^{11}	24×10^{11}
14	29×10^{12}	15×10^{12}	21×10^{12}

T A B L A 1

N M P DE BACTERIAS / 100 ml

E S T A C I O N = 2

MUESTREO	CT	CF	EF
1	-	7×10^6	4×10^6
2	-	11×10^6	24×10^7
3	11×10^{11}	-	11×10^6
4	43×10^{11}	23×10^{11}	9×10^{11}
5	15×10^{11}	15×10^{10}	28×10^{10}
6	43×10^{10}	15×10^9	20×10^9
7	15×10^{11}	15×10^{11}	15×10^{10}
8	21×10^{11}	75×10^{10}	15×10^{11}
9	21×10^{13}	20×10^{11}	28×10^{12}
10	15×10^{11}	15×10^{11}	15×10^{11}
11	35×10^{11}	20×10^{11}	11×10^{11}
12	15×10^{11}	11×10^{11}	7.3×10^{11}
13	27×10^{11}	15×10^{11}	9.3×10^{11}
14	15×10^{11}	15×10^{11}	11×10^{12}

T A B L A 2

N M P DE BACTERIAS / 100 ml

E S T A C I O N = 3

MUESTREO	CT	CF	EF
1	-	11×10^8	21×10^7
2	-	4×10^6	24×10^7
3	46×10^6	-	24×10^6
4	43×10^{11}	9×10^{11}	14×10^{11}
5	75×10^{10}	7×10^{10}	20×10^{10}
6	75×10^{10}	7×10^9	9×10^9
7	75×10^{10}	7.3×10^{10}	7.3×10^{10}
8	75×10^{10}	20×10^{10}	9.1×10^{11}
9	93×10^{12}	28×10^{10}	3×10^{12}
10	7.3×10^{11}	3.6×10^{11}	7.3×10^{10}
11	20×10^{11}	3.6×10^{11}	3×10^{11}
12	3×10^{11}	3.6×10^{11}	3×10^{11}
13	7.3×10^{11}	3.6×10^{11}	3.6×10^{11}
14	11×10^{11}	9.3×10^{11}	7.3×10^{11}

T A B L A 3

93.12 124
 467.6
 8.8571
 20

Esto quiere decir que dicha agua es portadora de una gran cantidad de microorganismos nocivos para la salud y el ambiente.)

Por otra parte, en la Tabla 3, se puede apreciar una reducción en el porcentaje de organismos, en el agua que sale del sistema.

Para la evaluación estadística de los resultados se utilizaron las pruebas de Homogeneidad de Varianza y el Análisis de Varianza (20).

Para llevar a cabo estos análisis, la escala de mediciones se transformó a logaritmos (en base 10) para inducir una normalidad aproximada en los datos.

En las Tablas 4, 5 y 6 se muestran los resultados de esta transformación.

La prueba de Homogeneidad de Varianza sirve para comprobar que las observaciones hechas provienen de una misma población, o bien, si las medias cuadradas difieren significativamente.

Los resultados de esta prueba fueron los siguientes:

Para Coliformes Totales:

$$\chi^2 = 0.2628 \quad (g.l. = 2), P > 0.5$$

Para Coliformes Fecales:

$$\chi^2 = 1.1803 \quad (g.l. = 2), P > 0.5$$

Para Estreptococos Fecales:

$$\chi^2 = 1.1008 \quad (g.l. = 2), P > 0.5$$

L O G A R I T M O D E L
 N M P D E B A C T E R I A S / 100 ml
 E S T A C I O N = 1

MUESTREC	CT	CF	EF
1	-	7.301	-
2	-	8.041	8.380
3	9.079	-	8.380
4	13.662	13.176	12.633
5	12.662	12.322	12.176
6	12.662	10.322	11.447
7	3.662	13.176	12.301
8	14.041	12.322	12.447
9	15.380	13.176	15.041
10	13.322	12.875	12.447
11	14.041	13.322	12.447
12	12.643	12.447	12.322
13	13.462	12.968	12.380
14	13.462	13.176	13.322

T A B L A 4

LOGARITMO DEL
 N M P DE BACTERIAS / 100 ml
 E S T A C I O N = 2

MUESTREO	CT	CF	EF
1	-	6.845	6.802
2	-	7.041	8.380
3	7.041	-	7.041
4	12.633	12.361	11.954
5	12.176	11.176	11.447
6	11.633	10.176	10.301
7	12.176	12.176	11.176
8	12.322	11.875	12.176
9	14.322	12.301	13.447
10	12.176	12.176	12.176
11	12.544	12.301	12.041
12	12.176	12.041	11.863
13	12.431	12.176	11.968
14	12.176	12.176	13.041

T A B L A 5

L O G A R I T M O D E L
 N M P DE BACTERIAS / 100 ml
 E S T A C I O N = 3

MUESTREO	CT	CF	EF
1	-	9.041	8.322
2	-	6.602	8.380
3	7.662	-	7.380
4	12.633	11.954	12.146
5	11.875	10.845	11.301
6	11.176	9.845	9.954
7	11.875	10.863	10.863
8	11.875	11.301	11.959
9	13.968	11.447	12.477
10	11.863	11.556	10.863
11	12.301	11.556	11.477
12	11.477	11.556	11.477
13	11.863	11.556	11.556
14	12.041	11.568	11.863

T A B L A 6

En los tres casos los resultados indican que no existen diferencias significativas estadísticamente en las medias cuadradas, esto es, que se trabajó con poblaciones homogéneas.

El Método de Análisis de Varianza permite comprobar la influencia de los distintos factores bajo control y la interacción de estos factores. Constituye un modelo rápido para el cálculo de S^2 global y provee la prueba F para la hipótesis nula de que las medias poblacionales son idénticas.

Los resultados de este análisis fueron los siguientes:

Para Coliformes Totales:

F = 3.0067

Para Coliformes Fecales:

F = 1.342

Para Estreptococos Fecales:

F = 0.923

Esta prueba es válida a un nivel de significación del 10% y por medio de ella se deduce que existe una diferencia significativa para Coliformes Totales, en tanto que, para los otros dos tipos de organismos se observó que no existieron diferencias significativas.

Se desarrollaron también, gráficas por estaciones (Fig. 2, 3 y 4) para observar algunos aspectos de la población de bacterias ya que siendo ésta una entidad que cambia, nos interesan no sólo su volumen y su composi-

ción en cualquier momento, sino también la manera en que está cambiando. En dichas gráficas se puede apreciar un ritmo similar (cambio sobre el período de tiempo transcurrido durante el mismo) en las curvas de crecimiento de las tres poblaciones de bacterias.

Finalmente, en la Tabla 7 se muestran las temperaturas obtenidas en el sitio de los muestreos y la hora en que se tomaron las muestras. El pH y el Oxígeno Disuelto, no se reportaron debido a que fueron considerados como constantes, puesto que el pH se mantuvo entre 7 y 7.5 y una fluctuación en ese intervalo no afecta significativamente la viabilidad de los tipos de bacterias observadas; por otra parte, el contenido de OD fue nulo en todas las muestras realizadas.

G R A F I C A
E S T A C I O N = 1

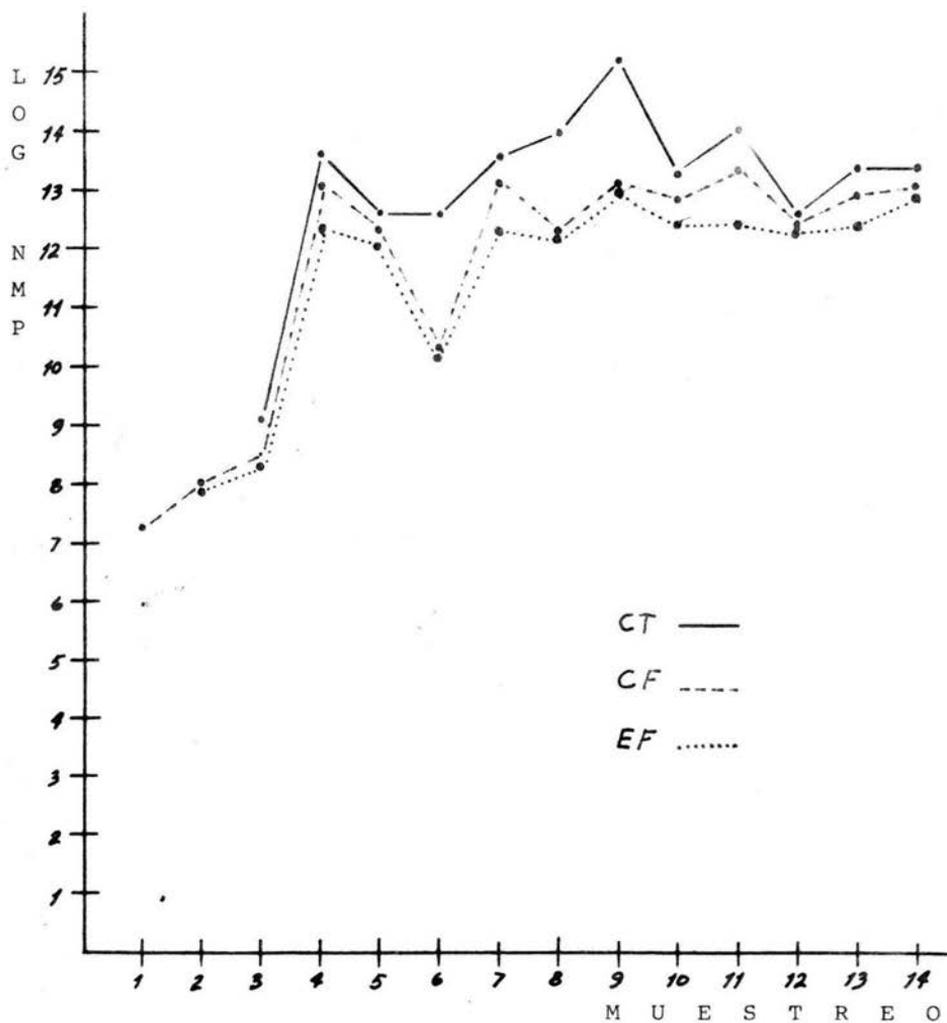


FIGURA 2

G R A F I C A
E S T A C I O N = 2

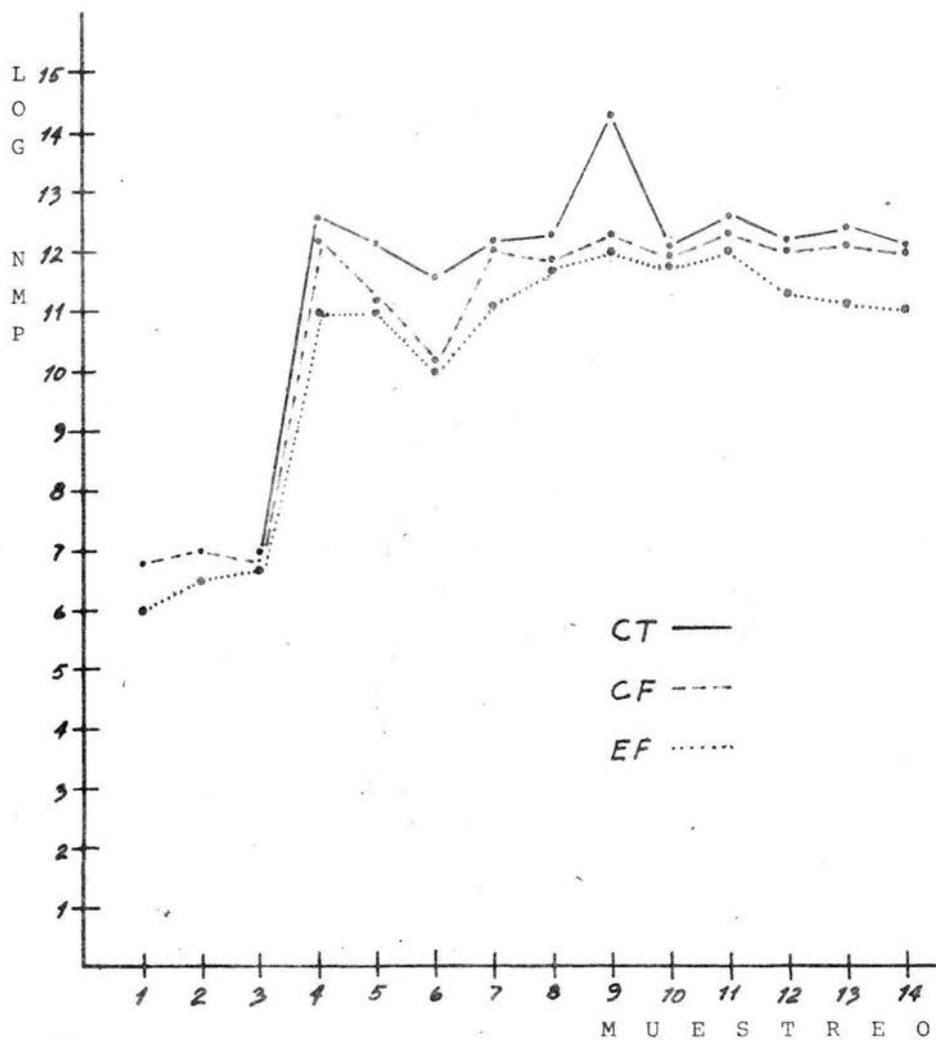
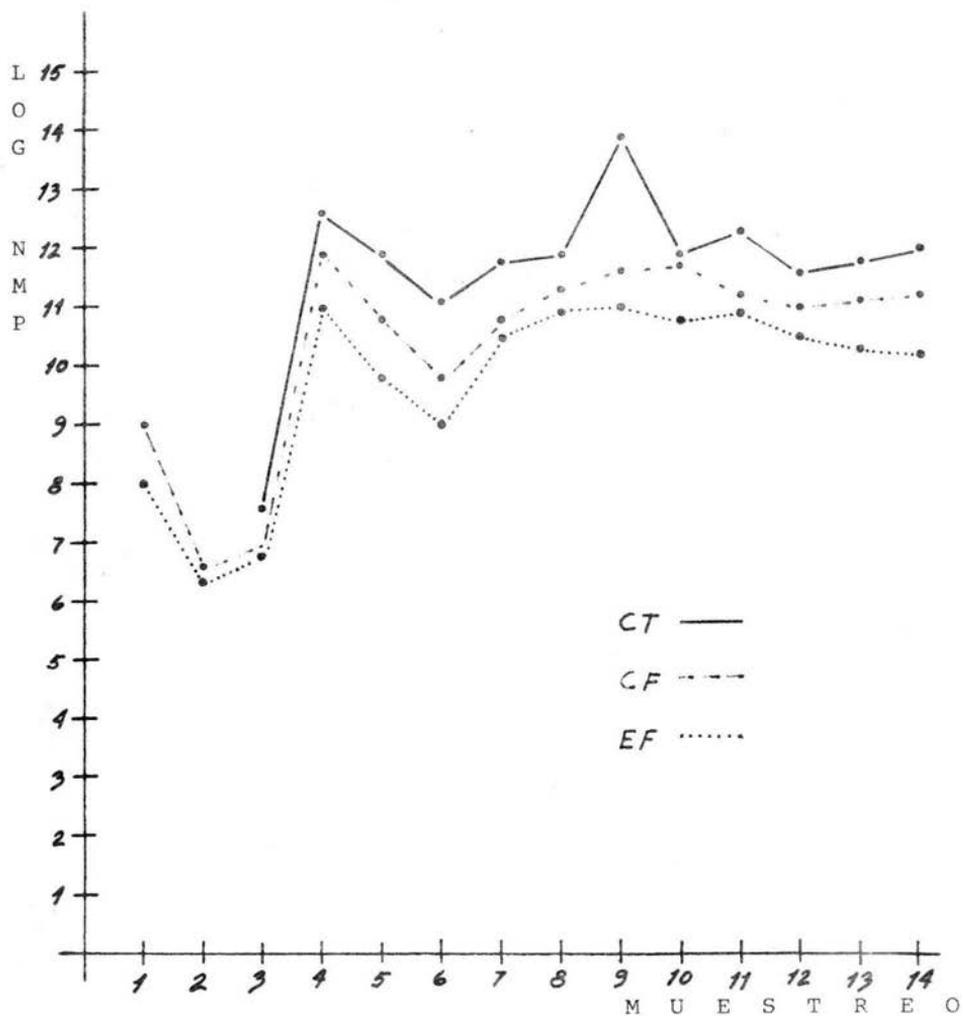


FIGURA 3

G R A F I C A
E S T A C I O N = 3



F I G U R A 4

TEMPERATURAS DURANTE LOS MUESTREOS (°C)

MUESTREO	EST. 1	EST. 2	EST. 3	AMBIENTE	HORA (A.M.)
1	18	18	16	21	10:05
2	17	18	17	20	9:20
3	16	18	18	21	9:35
4	17	18	17	20	11:05
5	18	18	18	21	10:15
6	16	17	19	14	9:20
7	17	19	19	20	9:35
8	22	21	22	20	10:20
9	18	20	20	16	9:50
10	16	18	19	14	10:00
11	20	21	21	18	9:40
12	17	18	17	20	10:30
13	18	17	18	20	10:40
14	17	16	17	19	9:20

T A B L A 7

D I S C U S S I O N

Aunque parece haber reducciones en los organismos del tipo Coliformes Totales, el alto número de bacterias en téricas, las condiciones fisicoquímicas observadas (ausencia de Oxígeno Disuelto y fluctuaciones de Temperatura), además de la ausencia de reducciones significativas en los tipos fecales de bacterias, podrían indicar que dicha reducción es el producto de una susceptibilidad mayor de ciertas bacterias a factores ambientales hostiles que determinan la muerte más rápida de algunos organismos con respecto a otros en las mismas condiciones, más que a un funcionamiento pleno de las Lagunas. Se ha encontrado que existen grandes discrepancias en cuanto a determinar el factor más importante que influye en la disminución más rápida de ciertas bacterias con respecto de otras que sobreviven más tiempo en las mismas condiciones (1) (17).

Refiriéndose a los factores involucrados en esa disminución, se pueden mencionar los siguientes: Temperatura, luz, pH, oxígeno disuelto, nutrientes disponibles, depredación, bacteriófagos, cantidad presente de algas y algunas toxinas bacterianas. Todos estos parámetros tienen un valor óptimo, fuera del cual las bacterias sufren en mayor o menor grado cambios fisiológicos. Por ejemplo, las bacterias son muy susceptibles a las variaciones de la temperatura, factor relevante en cualquier

ecosistema. Algunas viven mejor a las temperaturas ordinarias del ambiente, o sea, de 15 a 20° C y otras, especialmente las formas parasitarias, requieren de temperaturas mayores, generalmente la del cuerpo de animales vivos, que es de 37° C. Algunas pueden vivir solamente a muy bajas temperaturas, apenas sobre el punto de congelación del agua. Cualquier cambio notable en la temperatura óptima requerida por una bacteria específica causa una disminución en sus actividades y si es suficientemente grave puede causar su muerte. Las temperaturas registradas durante los muestreos (ver Tabla 7), sufrieron algunas fluctuaciones de consideración que pudieron influir definitivamente.

Se debe hacer énfasis, sobre el gran número de organismos observados y sobre la muerte más rápida de ciertos tipos de bacterias con respecto de otros, debido a que la comprensión de la supervivencia de los indicadores fecales y los organismos patógenos entéricos del agua es básica para la completa interpretación de los datos de calidad sanitaria del agua. Aunque la detección de bacterias indicadoras sugiere la presencia de organismos patógenos en el agua, el daño potencial a la salud depende de la retención de niveles críticos de densidad y virulencia asociada con los patógenos en un tiempo dado, durante la transmisión por la ruta del agua.

Es importante también, considerar que una Laguna de Estabilización requiere de elementos fisicoquímicos y biológicos específicos para poder llevar a cabo su principal objetivo que es el de oxidar la materia orgánica.

Estos elementos se interrelacionan e intervienen en los procesos de oxigenación y fermentación que son claves en el funcionamiento óptimo de una Laguna. Si alguno de estos elementos no está presente o no se encuentra en los valores adecuados, el sistema falla. Es por esto, que una Laguna de Estabilización no se puede considerar como un producto al azar, sino, como un sistema que requiere de cuidados, métodos y factores específicos para su buen funcionamiento.

En concordancia, las gráficas (ver Fig. 2, 3 y 4) muestran la tendencia de las bacterias a desarrollarse prolíficamente y después de algunas fluctuaciones en el número de organismos, se observa una propensión a permanecer en un número muy alto, indicativo de densidades muy peligrosas de microorganismos patógenos entéricos.

Considerando todo lo anterior y haciendo un análisis cuantitativo y cualitativo de los resultados obtenidos, se puede inferir que en el momento de los muestreos las Lagunas aún no reunían todos los elementos o factores necesarios para su óptimo rendimiento en la reducción del número de bacterias, o bien, que son insuficientes para estabilizar la carga orgánica recibida.

El empleo de un dispositivo seminatural, como una Laguna de Estabilización requiere como ya se ha mencionado, una gran cantidad de espacio, esto es, aproximadamente una hectárea para el tratamiento de las aguas de desecho domésticas de 250 personas y una atención razonable; desde este punto de vista, las Lagunas de Santo Tomás serían insuficientes para tratar las aguas del poblado (1,200 habitantes).

Por supuesto, la adición de ciertos dispositivos aumentan la capacidad de tratamiento por hectárea, pero no es éste el caso en las Lagunas de Santo Tomás.

C O N C L U S I O N E S

p/la conclusión

La Ecología Microbiana frecuentemente es considerada como un factor secundario y no muy importante dentro de cualquier ecosistema. Debería recordarse siempre, que los microbios no son un aspecto secundario de la Ecología, sino, por el contrario, un aspecto principal, especialmente con respecto a la comprensión del ciclo de los elementos, la bioenergía del ecosistema y el control de la contaminación provocada por el hombre.

Dado que las bacterias están distribuidas tan profusamente en la naturaleza y las hay en el agua, tienen fundamental importancia para comprender los procesos del tratamiento de aguas. El agua puede contener muchos tipos de bacterias saprofitas que arrastre el suelo; también puede contener tipos parasitarios que se descargan en el agua con los desperdicios de la vida animal, debido a la costumbre del hombre de disponer de los desperdicios arrojándolos a la corriente de agua más cercana. Entre las bacterias así descargadas en el agua se encontrarán también las patógenas que causan enfermedades al hombre y en menor grado, a los animales.

Los niveles de contaminación bacteriana tan altos, observados en los resultados, (ver Tablas 1, 2 y 3) indican necesariamente la existencia de agentes infecciosos muy peligrosos para la salud acarreados en el agua que se vierte en las Lagunas de Santo Tomás.

Es evidente, entonces, que la eliminación de bacterias es una etapa necesaria para hacer que el agua sea apropiada para el consumo humano. Otra etapa necesaria es el prevenir que las bacterias patógenas lleguen a un abastecimiento de agua. Solamente se puede considerar de calidad segura y satisfactoria un agua libre de bacterias patógenas. El problema de verter aguas crudas a los ríos y lagos se puede reducir grandemente con la utilización de las Lagunas de Estabilización, aunque no deben considerarse como una panacea que termine con el problema de la contaminación.

Conviene recalcar, con todo, que las Lagunas de Estabilización son un sistema de "conversión" y no un sistema completo de tratamiento; de hecho, una materia orgánica insalubre es convertida en material algal y en elementos nutritivos higiénicos que se exportan al medio natural, donde debe haber una capacidad de espacio y cadenas de alimentos apropiadas para tratarlos. Por ejemplo, se puede utilizar la recolección de algas para forraje animal o el elemento líquido que sale de las Lagunas para la piscicultura, el riego y otros fines útiles. Todas éstas, constituyen posibilidades manifiestas que conviene estudiar más a fondo.

Las Lagunas de Estabilización son sistemas que requieren de parámetros fisicoquímicos y biológicos específicos.

cos para su funcionamiento óptimo. El tiempo de retención del agua también es determinante en el proceso de oxidación de los desechos orgánicos y muchas veces de esto depende la reducción de contaminantes.

Aunque estadísticamente significativa, la reducción de Coliformes Totales no se consideró como un producto del tratamiento biológico en sí, sino como una consecuencia de la intervención de parámetros que forman parte del sistema de tratamiento.

Los valores del "Número Más Probable" de bacterias expuestos en este trabajo pueden servir de referencia en trabajos posteriores para optimizar el diseño de Lagunas de Estabilización Mexicanas y eliminar la necesidad de diseñar continua y aleatoriamente dichas Lagunas de Tratamiento de Aguas Residuales.

Hasta el presente, el hombre ha actuado generalmente como un parásito sobre su propio medio; ha llegado el momento de que el mismo hombre administre tanto su propia población como los recursos de los que depende.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- ADAMS, I.M., AYRES, P.A. & WOOD, P.C. (1972) Bacterial reduction during tertiary treatment of -- sewage effluents.
Inst. Publ. Hlth. Engrs. J. 71, 108-125.
2. ✓ BONDE, G.J. (1963) Bacterial indicators of water pollution. A study of Quantitative Estimation.
Teknisk Furlag, Copenhagen, 303-308.
- 3.- CALDWELL, R.N., (1960) Biological Methods for -- water treatment.
Photogr. Engr., 29, 761-799.
- ④ 4.- DUTKA, B.J., editor (1975) Methods for Microbio-- logical Analysis of Waters, Wastewaters and Sediments. Department of the Environment, Inland -- Waters Directorate, Scientific Operations Divi--- tion, Canada Centre for Inland Waters, Burlington, Ontario, Canada.
- 5.- ECKENFELDER, W. W., JR. & O'CONNOR, D.J., (1961) Biological Water Treatment.
Pergamon Publishing Company, New York. pp., 299.

- 6.- GAMESON, A.L.H., & SAXON, J.R., (1967) Field Studies on Effect of Daylight on Mortality of Coliform Bacteria.
Wat. Res. 1, 279-295.
- 7.- GELDREICH, E.E., (1962) Type Distribution of coliform bacteria in feces of warmblooded animals.
J. Water Pollution Control Federation. 34, 295-301.
- 8.- GELDREICH, E.E., (1966) Sanitary Significance of Faecal Coliforms in the Environment.
Water Pollution Control Research Service Publication No. WP-20-3 United States Department of the Interior. pp. 122.
- 9.- GLOYNA, E.F., (1969) Estanques de Estabilización de Aguas Residuales.
3a. Ed. Organización Mundial de la Salud.
- 10.- HEREBRT, D., ELSWORTH, R. & TELLING, R.C., (1966) The continuous culture of bacteria: a theoretical and experimental study.
J. Gen. Microbiol., 14, 601-622.

- 11.- HEWITT, L.F., (1960) Oxidation-reduction potentials in bacteriology and biochemistry.
E. and S. Livingstone, Edinburgh. pp. 215.

- 12.- KENARD, R.P. & VALENTINE, R.S., (1974) Rapid Determination of the Presence of Enteric Bacteria in Water.
Appl. Microbiol. 27, 484-487.

- 13.- KIFFRELL, F.W. & FURFARI, F.A., (1963) Observations of Coliform Bacteria in Streams.
Journal Water Pollution Control Federation. 35, 1361-1385.

- 14.- KUMATE, G.J., (1978) Manual de Infectología.
3a. Ed. Ediciones Médicas del Hospital Infantil, México, D. F.

- 15.- MACHENTHUM, K.M., (1969) The practice of water - pollution biology.
Fed. Water Poll. Cont. Adm., Washington, D. C.
pp. 281.

- 16.- MATA, L.J., CARRILLO, C., & VILLATORO, E., (1969)
Fecal Microflora in Healthy Persons in a pre-in--
dustrial region.
Appl. Microbiol. 17, 596-602.
- 17.- McPETERS, G.A., et al. (1974) Comparative Survi--
val of Indicator Bacteria and Enteric Pathogens -
in well water.
Appl. Microbiol. 27, 823.
- 18.- ODUM, E.P., (1977) Ecología.
3a. Ed. Edit. Interamericana, México, D.F. pp. -
476-487.
- 19.- SMITH, R.J., TWEDT, R.M., & FLANIGAN, C.K., (1973)
Relationships of Indicator and Pathogenic Bacte--
ria in Stream Waters.
J. Wat. Pollut. Control Fed. 45, 1736-1745.
- 20.- SNEDECOR, G.W., & COCHRAN, W.G., (1967) Métodos -
Estadísticos.
Octava Impresión. Compañía Editorial Continental,
S. A. México, D.F. pp. 321-368.

21.- STANDAR METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND
WASTEWATER, (1975) QD 142 S 22 1981
14th Edition APHA - AWWA - WPCF Washington, D.C.

22.- WOODWELL, G.M. & SMITH, H.H., (1969) Diversity -
and Stability in Ecological Systems.
Brookhaven, Nat. Lab. Publ. num. 22, Upton, N.Y.
pp. 264.