



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**CAPACIDAD DEL MÉTODO DE MICROFILTRACIÓN PARA LA REMOCIÓN DE
ADENOVIRUS DEL AGUA RESIDUAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

STEPHANIE PAOLA ESPINOSA GARCÍA



DIRECTOR DE TESIS:

DRA. ANA CECILIA ESPINOSA GARCÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, D.F. 2015



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.

1. Datos del alumno

Espinosa

García

Stephanie Paola

52 71 37 21

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

305253853

2. Datos del tutor

Dra.

Ana Cecilia

Espinosa

García

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Rosa Elena

Sarmiento

Silva

4. Datos del sinodal 2

Ing. Amb.

Leonardo Isidoro

Toscano

Vélez

5. Datos del sinodal 3

M. en C.

Cecilia

Lartigue

Baca

6. Datos del sinodal 4

Biól.

Marco Antonio

Tapia

Palacios

7. Datos del trabajo escrito

Capacidad del método de microfiltración para la
remoción de adenovirus del agua residual.

67p

2015

Este trabajo está dedicado a la memoria de mi padre, Gerardo Espinosa (1951-2014) por demostrarme que:

“La grandeza de un hombre no está en la riqueza, sino en su integridad y en su capacidad de afectar a los que lo rodean de manera positiva” *Bob Marley*.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ingeniería y al proyecto PUMAGUA, por la beca otorgada, así como los recursos necesarios para la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Fernando González Villarreal y a la M. en C. Cecilia Lartigue Baca, por permitir mi desarrollo profesional en este proyecto.

Al Instituto de Ecología y al Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, por permitirme hacer uso de los laboratorios y de las instalaciones.

A la Dra. Marisa Mazari Hiriart por confiar en mí y darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo.

A la Dra. Ana Cecilia Espinosa García, por creer en mí, por aceptar ser mi asesora, por su paciencia, comprensión y tiempo dedicado en la realización de esta tesis, muchas gracias.

Al Ing. Amb. Leonardo Toscano Vélez, por todo el apoyo incondicional que me diste en las buenas y en las malas, muchas gracias, te voy a extrañar.

A la Dra. Rosa Elena Sarmiento Silva y M. en C. Cecilia Lartigue Baca, por sus comentarios acertados y por el tiempo dedicado en la revisión de tesis.

Al Biól. Marco Antonio Tapia Palacios, por su paciencia, apoyo y dedicación en la realización de esta tesis, gracias por tu amistad.

Al Biól. Antonio cruz Peralta por todo su apoyo durante mi formación, muchas gracias.

Al Biól. Iván Cervantes Martínez por su ayuda en el análisis estadístico, por su paciencia y comprensión.

Al M. en C. Gustavo Pérez Ortiz por sus comentarios acertados.

Al M. en C. Miguel Atl Silva Magaña, por su apoyo en la parte molecular.

A la Biól. Alejandra Fonseca, por su apoyo y amistad.

Al Biól. Erick Hjort Colunga, por ser mi guía en el laboratorio, muchas gracias.

Al Biól. Edgar Pérez González, por su apoyo en todos los aspectos cuando más lo necesito.

A mi compañero PUMAGUA, José Ramón Sánchez Castañeda, por hacer los días de muestreo menos pesado y por esas largas jornadas de trabajo en el laboratorio.

A Tere Castañon, por su ayuda en el procesamiento de muestras.

A Adriana Pérez por su ayuda en el laboratorio.

A mis amigos del LANCIS, Instituto de Ecología y Biología: Nallely, Jannice, Chucho, Omar, Adri, Elisa, Patines, Claudia, Joselin, Bety por todos los buenos ratos que han pasado conmigo, los aprecio mucho.

A mis compañeros del Instituto de Ingeniería: Jorge, Hugo, Carlos, Memo, Josué, Vela, Bere, por hacer amenas las horas de trabajo.

A Claudia, Mildred, Ethel, Liz, Mariana, Moisés, Griselda, Dalia, Mariví, Sebastián, Eli, Javo, Mayra, César, Brenda, Miroz, Fernanda, Ricardo, Mauricio, Luis, Karla, Nancy, Ivonne, Sacbel por esos momentos tan lindos llenos de alegría y de la mejor compañía.

A mi mamá, Marcelina García Germán, por ser una gran mujer, por darme la vida y por todo tu esfuerzo y dedicación a lo largo de mi formación para que nada me faltara.

A mi papá, Gerardo Espinosa, por ser mi maestro de la vida, mi amigo y por todos tus consejos, aunque ya no estés físicamente, siempre vivirás en mi corazón.

A mi hermana Rocío, por ser como mi segunda madre, por todo su apoyo durante mi infancia.

A mis hermanos Dalia, Luz y Gerardo por todos los buenos y malos ratos que pasamos, por sus consejos y apoyo a lo largo de mi vida.

A mis sobrinos: Andrea, Lizzette, Mayté, Karla, Diego, Gaby y Max, por sacarme una sonrisa todos los días.

CONTENIDO

CONTENIDO DE TABLAS	i
CONTENIDO DE FIGURAS	ii
CONTENIDO DE TABLAS.	I
CONTENIDO DE FIGURAS.	II
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN.	1
1.1. ESCASEZ DEL AGUA EN MÉXICO.	1
1.2. GESTIÓN INTEGRADA DE LOS RECURSOS HÍDRICOS.	4
1.2.1. REUSO DEL AGUA.	5
1.2.2. TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.	5
1.2.2.1. Membranas de microfiltración.	7
1.3 MICROORGANISMOS INDICADORES.	8
1.4. GRUPOS DE ESTUDIO.	8
1.4.1 BACTERIAS.	8
1.4.2. BACTERIÓFAGOS.	10
1.4.3 VIRUS ENTÉRICOS.	11
1.4.3.1 Adenovirus.	12
2. ANTECEDENTES	14
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. OBJETIVOS	15
4.1 GENERAL.	15
4.2 PARTICULARES.	15
5. HIPÓTESIS.	16
6. ÁREA DE ESTUDIO	16
7. MÉTODOS	17

7.1. DISEÑO DE MUESTREO.	17
7.2. SITIOS DE MONITOREO.	18
7.3. TRABAJO DE CAMPO.	20
7.4. CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS POR ULTRAFILTRACIÓN.	21
7.5. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS FECALES.	21
7.6. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BACTERIÓFAGOS.	22
7.7. CUANTIFICACIÓN DE ADENOVIRUS POR Q-PCR.	23
7.7.1. EXTRACCIÓN DE ADN.	23
7.7.2. CURVA PATRÓN.	24
7.7.3. CUANTIFICACIÓN DE GENOMAS VIRALES DE AdVF POR Q-PCR.	24
7.7.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	26
7.7.5. ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO.	26
8. RESULTADOS	28
8.1. COLIFORMES FECALES (CF).	29
8.2. ENTEROCOCOS FECALES (EF).	32
8.3. ESTREPTOCOCOS FECALES (ESF)	35
8.4. BACTERIÓFAGOS CON E. COLI HS COMO HOSPEDERA (BHS).	38
8.5. BACTERIÓFAGOS CON E. COLI K12 COMO HOSPEDERA (BK12).	39
8.6. ADENOVIRUS HUMANO (SEROTIPOS 40 Y 41).	40
8.7. ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DE MUESTRAS DEPENDIENTES NO PARAMÉTRICAS.	40
8.8. PRUEBA DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MUESTRAS INDEPENDIENTES, NO PARAMÉTRICAS.	41
8.8.1. CISTERNAS.	41
8.8.2. ASPERSORES.	45
9. DISCUSIÓN	46
10. CONCLUSIONES.	49
11. RECOMENDACIONES.	49
ANEXO	51
REFERENCIAS	52

CONTENIDO DE TABLAS.

Tabla 1. Descripción de bacterias indicadoras de contaminación fecal	9
Tabla 2. Descripción de bacteriófagos (Mezquita, M y Emelko, M. 2012)	11
Tabla 3. Descripción de Adenovirus Humano (Strauss J y Straus E.G, 2008; Reynolds K, 2004)	12
Tabla 4. Sitios de monitoreo	19
Tabla 5. Temperatura y tiempo de incubación para bacterias fecales	22
Tabla 6. Oligonucleótidos utilizados en este estudio y sus características relevantes.	25
Tabla 7. Claves para visualizar las graficas.	28
Tabla8. Relación entre influente y efluente en la PTAR	41
Tabla 9.Relación entre cisternas de agua residual tratada	42
Tabla10. Prueba de comparación múltiple no paramétrica para coliformes fecales en cisternas	43
Tabla 11. Prueba de comparación múltiple no paramétrica para enterococos fecales en cisternas	44
Tabla12. Prueba de comparación múltiple no paramétrica para estreptococos fecales en cisternas	45
Tabla13. Relación entre aspersores de agua residual tratada	46
Tabla 14.Prueba de comparación múltiple no paramétrica para coliformes fecales en aspersores	46

CONTENIDO DE FIGURAS.

Figura 1. Grado de presión sobre el recurso hídrico (CONAGUA, 2014)	3
Figura 2. Descripción del proceso de depuración de agua residual	18
Figura 3. Sitios que fueron muestreados. Red hidráulica de cisternas de almacenamiento de agua residual tratada y áreas verdes donde se colectó agua de los aspersores	20
Figura 4. Curva patrón.	24
Figura 5. Descripción general del trabajo	27
Figura 6. Coliformes fecales en PTARCA	29
Figura 7. Coliformes fecales en CAART	30
Figura 8. Coliformes fecales en AART	31
Figura 9. Enterococos fecales en PTAR	32
Figura 10. Enterococos fecales en CAART	33
Figura 11. Enterococos fecales en AART	34
Figura 12. Estreptococos fecales en PTAR	35
Figura 13. Estreptococos fecales en CAART	36
Figura 14. Estreptococos fecales en AART	37
Figura 15. Bacteriófagos HS en PTAR	38
Figura 16. Bacteriófagos K12 en PTAR	39
Figura 17. Adenovirus en PTAR	40

RESUMEN

El Programa del Manejo Uso y Reuso del Agua (PUMAGUA) implementado en Ciudad Universitaria a partir del 2007, tiene como propósito implementar un plan de manejo integral del agua, por lo que la investigación científica es parte fundamental para la toma de decisiones y aplicación de tecnologías. A partir del año 2012, la PTARCA cuenta con un innovador tratamiento de aguas residuales que consiste en un biorreactor de membrana con tamaño de poro de $0.048\mu\text{m}$ que asegura la remoción de virus.

Aunque no existe un estudio que determine los efectos de la exposición por contacto indirecto con aguas residuales tratadas contaminadas, no quiere decir que no existan potencialmente. Se ha demostrado que la NOM-003-SEMARNAT-1997 es insuficiente para determinar la calidad microbiológica de las aguas tratadas de reuso en riego en áreas verdes, puesto que es necesario detectar otros microorganismos que pudieran generar un riesgo potencial de infección.

Este estudio se realizó en los meses de febrero del 2012 a junio del 2013 correspondiente a la temporada de riego de áreas verdes del campus. De un total de 76 muestras procesadas, provenientes del influente, efluente, cisternas de almacenamiento y aspersores de agua residual tratada no se encontró la presencia de bacteriófagos (somáticos y F-RNA) y adenovirus (AdV) en el 100% de las muestras, por lo que este proceso es eficiente. Sin embargo, se encontraron de dos a cuatro unidades logarítmicas de bacterias indicadoras de contaminación fecal en cisternas y aspersores.

Es necesario implementar un programa de mantenimiento de la infraestructura hidráulica para mantener la calidad del efluente hasta su reuso y que no se vea reflejado en una pérdida económica para la planta de tratamiento de aguas residuales. Además, un monitoreo continuo en cisternas de almacenamiento y aspersores es imprescindible para atender las deficiencias en cuanto a calidad, aminorando el riesgo potencial de exposición de agentes patógenos a la comunidad universitaria.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Escasez del agua en México.

Debido a sus características, el agua es un recurso imprescindible para todas las especies y ecosistemas. El acceso, disposición y saneamiento de agua para consumo personal y doméstico en

forma suficiente salubre aceptable y asequible, es un derecho según la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, artículo 4, párrafo 6. A pesar de todo, tiene connotaciones culturales, sociales, territoriales y en particular económicas debido a su importancia en los múltiples procesos de producción. Tan solo un 2.5% de toda el agua existente en el planeta es para consumo humano, por lo que la explotación de este recurso terminará por no satisfacer la demanda que la creciente población requiere (Ford, 2010).

Las cuencas, son unidades naturales de terreno definidas por la existencia de una división de las aguas debida a la conformación del relieve. México cuenta con 731 cuencas hidrológicas (CONAGUA, 2014) que se ven afectadas en todo el país debido a la existencia de desechos líquidos urbanos e industriales con poco o nulo tratamiento que contaminan cursos superficiales de agua (ríos, lagos, lagunas) y acuíferos, así como el uso irracional de fertilizantes y agroquímicos provocan su deterioro y generan gran impacto en los ecosistemas (Pérez, 2003).

Las aguas subterráneas desempeñan un papel importante en el crecimiento socioeconómico del país, ya que funcionan como presas de almacenamiento y red de distribución. Nuestro país está dividido en 653 acuíferos de los cuales 106 están sobreexplotados ya que se extrae el 55.2% del agua subterránea para todos los usos (CONAGUA, 2014).

El conjunto de factores socioeconómicos y climáticos influyen directamente sobre la cantidad de agua que puede llegar a consumir una población (Coronel, 2010). En muchas partes del mundo, la presión de la población ejerce una fuerte carga sobre los recursos hídricos (Ford, 2010), como consecuencia de esto, las autoridades se han visto obligadas a priorizar el uso de las aguas.

En nuestro país, la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), divide los usos en dos tipos:

Consuntivo: Consume o disminuye reservas de agua dulce del país, incluye el uso agrícola, público, industrial, acuícola y termoeléctricas.

No consuntivo: no disminuye las reservas de agua dulce ya que los volúmenes pueden ser vueltos a utilizar sin necesidad de tratamiento como las hidroeléctricas.

La presión sobre el recurso hídrico se define como el porcentaje que representa el agua empleada en usos consuntivos respecto a la disponibilidad. Si es mayor a 40%, se ejerce una presión muy fuerte. A nivel nacional México representa un grado de presión del 17.3%, lo cual se considera nivel moderado, sin embargo las zonas centro, norte y noroeste experimentan un grado de presión fuerte, la región del Valle de México es la que cuenta con el porcentaje más alto, con 132.9% (CONAGUA, 2014) (Figura 1).

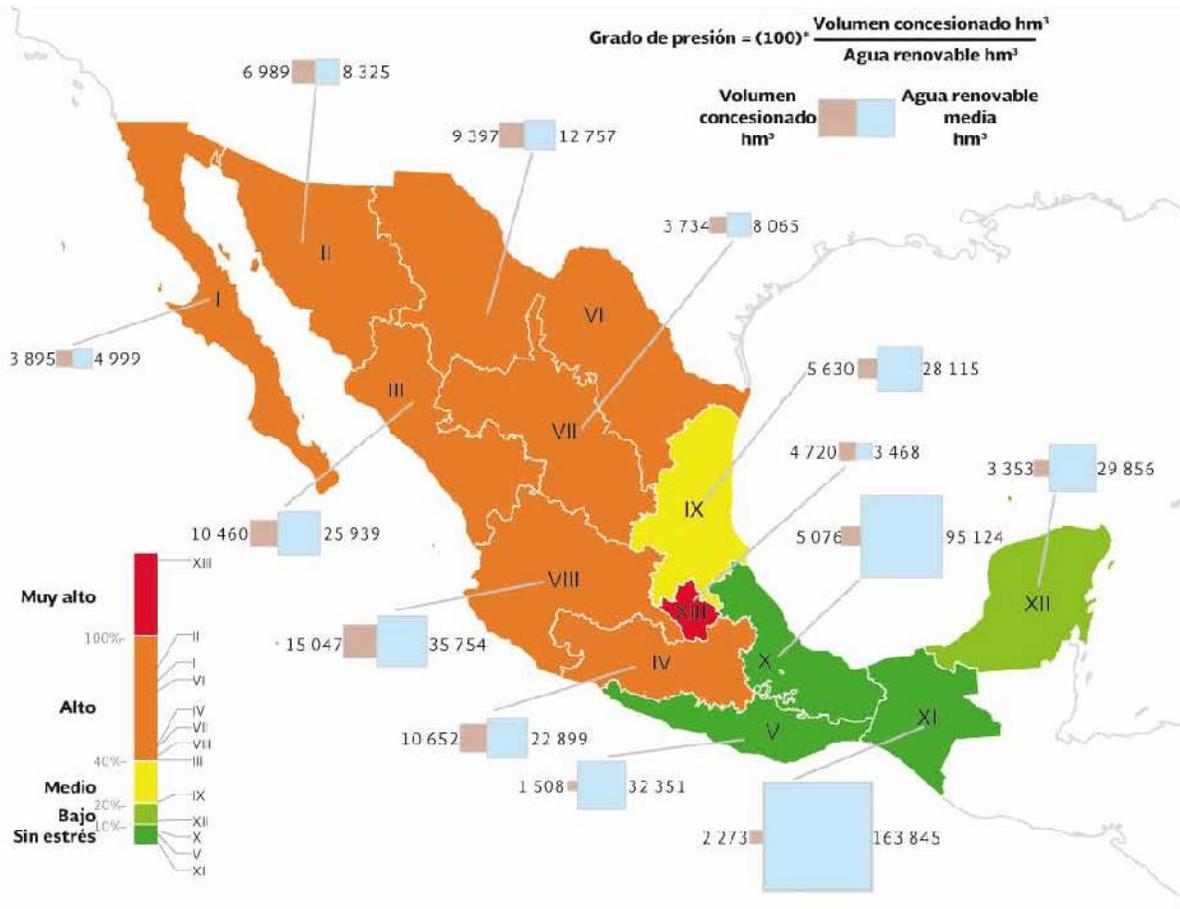


Figura 1. Grado de presión sobre el recurso hídrico (CONAGUA, 2014).

Por lo anterior es necesario hacer un replanteamiento de las políticas de gestión del recurso hídrico que permitan evaluarlo y aprovecharlo de manera más eficiente de tal manera que la escasez de agua no ponga en riesgo el desarrollo social y económico aunado al deterioro de los ecosistemas.

1.2. Gestión integrada de los recursos hídricos.

La Gestión Integrada de los recursos hídricos (GIRH) es un enfoque que persigue el desarrollo y manejo coordinado del agua, la tierra y los recursos relacionados. Está orientada a propiciar el aprovechamiento de los recursos hídricos hacia la consecución de objetivos nacionales de desarrollo económico y social bajo criterios de equidad y sostenibilidad nacional (Valencia-Vargas *et al.*, 2005). La necesidad de la GIRH parte de que el modelo hidráulico vigente está causando el deterioro del medio ambiente, demandando recursos económicos excesivos y afectando a la salud de la población (Hernández, 2014).

Según estimaciones de la ONU, entre 2025 y 2050 en 300 zonas del mundo habrá discordia acerca del agua, y nuestro país se encuentra dentro de ellas. Para el 2050 el 70% de la población mundial será urbana. Sin duda, estos datos son alarmantes en función de la dotación de servicios y las condiciones de vida de los pobladores. (Helios, 2014). En este sentido, la GIRH, se traduce en mejores procesos de decisión no resueltos exclusivamente por el estado, sino con todos los actores sociales involucrados (Valencia-Vargas *et al.*, 2005).

México se caracteriza por un sistema marcado por las desigualdades en la disponibilidad, el acceso, control y uso del agua, así como por un uso ineficiente de este recurso (Nazar *et al.*, 2010). Debido a esta situación es necesario incorporar la amplia gama de cuestiones técnicas aplicadas como el desarrollo de proyectos para la recuperación de caudales, captación de aguas pluviales, tratamiento de aguas residuales, aunado a un consumo eficiente y responsable por parte de la población, con la instalación de equipos ahorradores y reparación de fugas, entre muchas otras futuras soluciones para las grandes urbes. (Helios, 2014). Recientemente, nuestro país ha incorporado en sus políticas, elementos que provienen de los postulados formales de organismos internacionales tendentes a lograr la equidad de género en el acceso y control de agua, a hacer más eficiente sus uso y a mejorar la calidad de vida de la población (Nazar *et al.*, 2010).

1.2.1. Reuso del agua.

El mayor volumen concesionado, para usos consuntivos del agua es el agrícola, principalmente para riego, por lo que el aprovechamiento de las aguas residuales es indispensable para contrarrestar situaciones de escasez y conflictos por el agua.

El control de la calidad microbiológica y química de las aguas residuales tratadas para reuso, requiere de una base que permita evaluar el proceso con el fin de garantizar que los riesgos derivados de la presencia de agentes patógenos sean insignificantes y que el agua tenga características aceptables (WHO, 2004).

En México el instrumento empleado para regular la calidad del agua de reuso es la NOM-003-SEMARNAT-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reutilicen en servicios al público, estos se definen poniendo como ejemplos: el llenado de lagos y canales artificiales recreativos con paseos en lancha, remo, canotaje y esquí, fuentes de ornato, lavado de vehículos, riego en parques y jardines. Por otro lado el reuso por contacto indirecto u ocasional incluye actividades como riego en jardines y camellones en autopistas, fuentes de ornato, campos de golf, hidrantes de sistemas contra incendios, lagos artificiales no recreativos, barreras hidráulicas de seguridad, y panteones. (DOF, 1998).

Esta norma es la base con la que se compararán los resultados bacteriológicos, sin embargo, el manual para el manejo de zonas de riego con aguas residuales (CONAGUA, 2010), propone en su reglamento general como principales parámetros a medir en agua y suelo, con el objetivo de detectar problemática y puntos de riesgo en salud pública: bacterias fecales, amibas y protozoarios, helmintos y virus (CONAGUA, 2010).

1.2.2. Tratamiento de aguas residuales.

Las aguas residuales se definen como aquellas de composiciones variadas provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios agrícolas, pecuarios domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas (DOF,1996).

Estas aguas generalmente son dirigidas hacia las aguas receptoras (ríos, océanos) mediante los sistemas comunitarios de aguas residuales, y en los sitios de defecación abierta, suelen descargarse directamente en las aguas receptoras, representando en términos de patógenos, nutrientes y químicos tóxicos, una fuerte carga contaminante, los acuíferos también se pueden ver afectados por filtraciones provenientes de los sistemas sépticos o de los cebaderos de animales (Ford, 2010).

Los métodos empleados para tratar el agua y conseguir que sea apta para su reuso incluyen una variedad de tratamientos físicos, químicos y biológicos para eliminar contaminantes, (Madigan *et al.*, 2004).

Existen diferentes clasificaciones para el tratamiento según la fase de depuración:

Primario: consiste en eliminar elementos presentes, que de entrar en el proceso podrían perjudicar el funcionamiento (sólidos, grasas, arenas). Es el primer paso y constituye una barrera física que separa sólidos grandes del agua residual. A la vez que se introducen las aguas, una rejilla metálica elimina una gran cantidad de residuos de gran tamaño (Gerba, 2009_c).

Secundario: suele ser de naturaleza biológica, se encarga de consumir sustancias orgánicas biodegradables (lodos activos, lagunas de aireación) (Madigan., *et al* 2004)

Existen 2 tipos de tratamiento biológicos, los sistemas aerobios que involucran la presencia de oxígeno y los anaerobios en ausencia de este, dentro de los primeros se puede hacer una clasificación:

1. Sistemas de cultivo adherido: el agua es tratada a través de películas microbianas adheridas a una superficie, por ejemplo: filtros percoladores, discos biológicos entre otros.
2. Sistemas de cultivo suspendido: el efluente entra a un tanque de aireación y se combina con microorganismos suspendidos (lodos activados) que llevan a cabo la oxidación y adsorción de materia orgánica. Una vez removida la mayor cantidad de contaminantes el efluente es enviado a unidades de clarificación, donde dichos lodos son sedimentados (Madigan., *et al* 2004).

Los tratamientos anaerobios se utilizan para la desnitrificación, cuando el agua residual proviene de una fuente rica en materia orgánica (Gerba, 2009_c).

Terciario: Envuelve una serie de pasos adicionales al tratamiento secundario con el propósito de reducir compuestos orgánicos, nitrógeno, fósforo, metales y patógenos. Existen procesos de naturaleza fisicoquímica como coagulación, filtración, carbón activado, osmosis inversa y adicional a esto, la desinfección. El tratamiento terciario es utilizado generalmente cuando el agua residual tratada tiene como fin el reuso para riego de cultivos o propósitos recreacionales (Gerba, 2009c).

1.2.2.1. Membranas de microfiltración.

La microfiltración es un tratamiento terciario que permite el paso selectivo de agua a través de una membrana, mejorando la calidad del proceso de remoción de contaminantes como microorganismos, sustancias químicas e incluso iones. El flujo en estos sistemas está determinado por diferentes “fuerzas impulsoras”, principalmente presión concentración y potencial eléctrico (Gómez, 2012).

La tecnología de microfiltración se utiliza para mejorar la calidad del agua. Las membranas van desde estructuras porosas a no porosas y pueden remover contaminantes, bacterias, protozoarios e iones. El tamaño de poro de la membrana es el que determina hasta qué punto son eliminados los sólidos suspendidos, los sólidos disueltos y los microorganismos (Gómez, 2012). La remoción de partículas virales es frecuente en sistemas de membranas debido a que se adhieren rápidamente a los sólidos en suspensión (Marti *et al.*, 2011).

Un biorreactor de membrana, surge de la combinación de una unidad de aireación (tratamiento secundario), aclaración y filtración (tratamiento terciario) como tratamiento terciario, en un solo proceso, produciendo un efluente de alta calidad, apto para cualquier descarga, así como para su reuso, al mismo tiempo reduce en gran medida los requisitos de espacio (Marti *et al.*, 2011). Es una opción adecuada para el reuso de aguas residuales ya que combinan eficazmente la oxidación de la materia orgánica con sólidos en suspensión y remoción de nutrientes además de la descontaminación microbiana (Monclús *et al.*, 2010). La eficiencia de remoción que nos brinda una tecnología puede ser evaluada comparando las concentraciones de los contaminantes antes y después del tratamiento (Levine y Asano, 2004).

1.3 Microorganismos indicadores.

Aunque no hay una definición absoluta de lo que es un microorganismo indicador, podemos decir que, es aquel que nos sugiere la presencia de un patógeno, por ejemplo, los microorganismos que se transmiten por la ruta fecal-oral que infectan al tracto gastrointestinal, y que además, tienen características estables en el agua y alimentos (Gerba, 2009_b). Para poder aludir su existencia, el método más importante y utilizado es la cuantificación de indicadores fecales, es decir, las bacterias entéricas asociadas al tracto intestinal de animales de sangre caliente, que tienen la capacidad de multiplicarse fuera del hospedero bajo condiciones ambientales idóneas (Gerba, 2009_b).

Los organismos indicadores se dividen en tres grupos:

Indicador de procesos: grupo de organismos que demuestran la eficacia de un proceso

Indicador fecal: grupo de organismos que nos indican la presencia de contaminación fecal

Organismo índice: grupo de especies indicadoras de la presencia de un patógeno (Ashbolt *et al.*, 2001).

Con base en lo anterior podemos elegir el microorganismo indicador que se adopte a nuestras necesidades de estudio.

1.4. Grupos de estudio.

En este trabajo se utilizó a las bacterias coliformes fecales (CF), enterococos fecales (EF), y estreptococos fecales (EsF); a los bacteriófagos con *Escherichia coli* HS (pFamp) y K12- Hfr 3000 F⁺ como hospedera y por último se realizó la detección de Adenovirus Humano (AdV).

1.4.1 Bacterias.

Fueron seleccionados tres grupos de bacterias indicadoras de contaminación fecal, los cuales se describen a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de bacterias indicadoras de contaminación fecal Modificado de Coronel, 2010; Cabral, 2010; Madigan et al., 2004).

Género	<i>Escherichia</i>	<i>Enterococcus.</i>	<i>Streptococcus.</i>
Tamaño (µm)	1.1-1.5 x 2.0-6.0	0.6-2.0 x 0.6-2.5	0.5-1
Morfología	Bacilo	Cocos	Cocos
Motilidad	Flagelos periticos o no móviles.	Algunas veces móvil por flagelos escasos.	Flagelos escasos.
Hábitat	Microbiota natural en las partes bajas del intestino de animales de sangre caliente.	Microbiota normal del intestino en el humano y los animales. Presentes en heces de vertebrados.	Tracto respiratorio y heces de animales de sangre caliente, pueden persistir sin multiplicación en el medio ambiente
Importancia	Causan enfermedades diarreicas y gastroenteritis. <i>E. coli</i> es el mayor causante de infecciones del tracto urinario	Tiene una gran capacidad de adquirir altos niveles de resistencia a los antibióticos, así como su capacidad de intercambio genético	Se utilizan como indicadores de contaminación fecal animal. Son más resistentes al estrés ambiental y a la cloración que los coliformes.

Temperatura óptima (°C)	37	37	35
Respiración	Anaerobio facultativo.	Anaerobio facultativo.	Anaerobio facultativo.
Tinción de Gram	Negativo.	Positivo.	Positivo.

1.4.2. Bacteriófagos.

Se definen como virus que infectan bacterias (Ashbolt *et al.*, 2001), tienen la misma forma, tamaño, y tipo de ácido nucleico que los virus entéricos humanos, son más resistentes a la desinfección y factores ambientales que los coliformes, están presentes en altas concentraciones en las aguas residuales y los métodos de detección son prácticos y selectivos (Luther *et al.*, 2000).

Tres grupos de bacteriófagos son aplicados con frecuencia como modelos de virus entéricos en matrices ambientales (WHO, 2004) (Tabla 2).

Tabla 2. Descripción de bacteriófagos (Mezquita, M y Emelko, M. 2012).

Grupo	Principales cepas hospederas	Características generales
Somáticos: en el proceso de infección se atraviesa a los receptores de pared celular	<i>Escherichia coli</i> y <i>Enterobactereaceae</i>	Grupo numeroso y de fácil detección homogéneo. Poco frecuente en heces de humanos y animales. Frecuente en aguas residuales (10^3 - 10^4 mL ⁻¹).
F-RNA específico: en el proceso de infección es por pilli	<i>Escherichia coli</i> , bacterias gram negativas	Similitud a grupo de virus entéricos patógenos humanos, Grupo heterogéneo de diferente morfología. Presente en heces humanas, animales y aguas residuales (10^3 - 10^4 mL ⁻¹). Resistencia y multiplicación en el medio ambiente. Resistente a la cloración.
Bacteriófagos que infectan a <i>Bacteroidesfragilis</i> (anaerobio estricto)	<i>Bacteroides fragilis</i>	Tienen un estrecho rango de huéspedes. Frecuente en heces humanas y muestras ambientales, útiles en el seguimiento de fuentes microbianas, además de que no están presentes en el ambiente y por lo tanto no hay recrecimiento en hábitats naturales.

1.4.3 Virus entéricos.

Son un grupo de virus que se transmiten de manera fecal-oral y se reproducen dentro del tracto intestinal de animales homeotermos. Estos virus se han visto implicados en brotes de enfermedad diarreica aguda, hepatitis A y meningitis aséptica, en los que el medio de transmisión ha sido el agua (Pelaéz *et al.*, 2010). Los virus entéricos influyen de manera importante en morbilidad y mortalidad mundial. Son muy resistentes a los procesos de tratamiento del agua, tienen cápsides que les permite

sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables y resistir las condiciones de acidez y de actividad proteolítica del estómago en su camino hacia el duodeno, donde infectan las células epiteliales vulnerables (Pelaéz *et al.*, 2010).

En todo el mundo, los virus entéricos son excretados por las personas con una frecuencia y en cantidades tales que hacen que muchos de estos virus estén presentes universalmente y en cantidades sustanciales en las aguas residuales, recreacionales, cultivos, fosas sépticas, escorrentías. Se estima que un individuo con una infección viral puede excretar hasta 10^{11} partículas virales por gramo de heces (Gerba, 2009_a), sin embargo, la prevalencia de especies individuales puede variar en gran medida, debido a variaciones en las tasas de infección y excreción.

1.4.3.1 Adenovirus.

Entre estos, Adenovirus se destaca por sus características estructurales que le proporcionan una alta supervivencia en el ambiente y a diferentes procesos de desinfección. Sus principales características se muestran a continuación (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de Adenovirus Humano (Strauss J y Straus E.G, 2008; Reynolds K, 2004).

Género	Adenoviridae
Tamaño (nm)	70-90
Morfología	Genoma de ADN bicatenario en una cápside icosaédrica sin envoltura
Clasificación	Se clasifican en seis grupos (A-F) el último infecta a humanos, en específico los serotipos 40 y 41 y son exigentes al cultivo celular
Hábitat	Heces de humanos, aguas residuales y tratadas
Importancia médica	Los serotipos 40 y 41 infectan el aparato digestivo humano y son fuente importante de gastroenteritis infantil, muchas veces son asintomáticas, se transmiten predominantemente por vía fecal-oral.

Periodo de incubación 8-10 días

Detección El reconocimiento de los serotipos 40 y 41 en muestras medioambientales se realiza generalmente mediante técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con o sin multiplicación previa mediante cultivo celular.

Los adenovirus humanos (AdVH) son excretados en heces, orina, secreciones respiratorias y por individuos infectados (Jiang *et al.*, 2001). Son muy importantes a nivel de salud pública ya que son responsables de enfermedades como: faringitis, amigdalitis, gastroenteritis y encefalitis (Mena y Gerba, 2008). Los tipos 40 y 41 son los más comunes asociados a gastroenteritis en niños, los cuales pueden excretar hasta 10^{11} partículas virales por gramo de heces durante la infección (Reynolds, 2004).

Además, son considerados como indicadores de contaminación fecal humana (Carducci *et al.*, 2008; Katayama *et al.*, 2008) debido a su prevalencia en ambientes acuáticos como: lagos y ríos, aguas tratadas y residuales y albercas (Xagorarakis *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2010; Lee y Kim, 2008) debido a su alta resistencia a algunos procesos de tratamiento y desinfección del agua, en particular a la irradiación con luz UV (Liden *et al.*, 2007).

Las bacterias fecales, son comúnmente utilizadas para inferir la calidad microbiológica del agua, pero no la calidad virológica (Lee y Kim, 2002). Además se han detectado AdVH en ambientes en donde las bacterias no permanecen (Enriquez *et al.*, 1995), por lo que al detectar la presencia del patógeno y no de un indicador, es posible, comprobar la eficacia del uso de la microfiltración como tratamiento de aguas residuales verificando la eliminación de genomas virales.

Las técnicas de detección de estos microorganismos son moleculares, la técnica de cultivo celular no es recomendable en ambientes acuáticos (Silva *et al.*, 2010), sin embargo, técnicas de PCR hacen más específico y sensible el diagnóstico. Esta última se puede dividir en:

- PCR tiempo real: implementa la rapidez, sensibilidad y riesgo reducido de contaminación, la detección de la reacción se lleva a cabo mediante la medición de la fluorescencia generada en cada ciclo de amplificación.
- PCR punto final: la generación del producto, no se detecta sino hasta que la amplificación se ha llevado a cabo y posteriormente es visualizado en un gel de agarosa.

Previo a su detección es necesario concentrar las muestras para aumentar la probabilidad de detección con un volumen de muestra grande, para ello se utilizan metodologías de filtros cargados electrostáticamente (Heijnen *et al.*, 2009).

2. ANTECEDENTES

En diciembre del año 2007, se puso en marcha el Programa de Manejo, Uso y Reuso del Agua en la UNAM (PUMAGUA), que tiene como objetivo principal implantar un programa integral de manejo, uso y reuso del agua en campus de la UNAM, con la participación de toda la comunidad universitaria. Dicho programa desarrolló un diagnóstico de las instalaciones hidráulicas en Ciudad Universitaria, realizó análisis fisicoquímicos y microbiológicos en los pozos profundos que abastecen al campus, en la planta de tratamiento de aguas residuales de Cerro del Agua y en las áreas verdes de uso común. Como resultado de esto, Silva-Magaña (2013) demostró que el tratamiento del agua residual realizado por la planta de tratamiento de aguas residuales de cerro del agua en el campus Ciudad Universitaria, logró remover significativamente a las bacterias fecales, pero los virus entéricos, como adenovirus humano, no fueron removidos en cantidades adecuadas para que el agua se reutilizará en riego de áreas verdes, constituyendo un riesgo potencial para la salud pública de la comunidad, ya que, la exposición de usuarios por permanencia en áreas verdes es de al menos una hora diaria y una de las actividades que se lleva a cabo es el consumo de alimentos (PUMAGUA, 2009).

Como resultado de este trabajo a partir del año 2012, se implementaron, nuevas tecnologías en el tratamiento de aguas residuales, haciendo una remodelación de la planta de tratamiento de aguas residuales de Cerro del Agua para mejorar el tratamiento. Esta tecnología implementada a partir del año 2012, consiste en un sistema de membranas de 0.038 μ m que aseguran un mejor tratamiento de

las aguas para riego reduciendo la cantidad de microorganismos presentes, en comparación con el método de filtración y sedimentación usado antiguamente.

3. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que en Ciudad Universitaria, el riego con agua tratada es una práctica actualmente empleada, la contaminación que puede ocurrir por contacto directo o indirecto implica un riesgo potencial para la salud de los jardineros en primera instancia, así como a toda la comunidad universitaria.

Aunque los microorganismo patógenos transmitidos por el agua incluyen bacterias, protozoos y helmintos, los virus son las principales amenazas para la salud humana (Schijven, *et al.* 2000), adenovirus se caracteriza por tener una alta resistencia en el medio ambiente y a los procesos de depuración, por lo que al evaluar la eficacia de remoción de este patógeno, será un factor determinante para evaluar el proceso del tratamiento, y así, poder inferir el nivel de riesgo, aunado a opciones de manejo que conduzcan al reuso seguro del agua.

4. OBJETIVOS

4.1 General.

Analizar la capacidad de remoción de microorganismos del sistema de microfiltración de agua residual tratada que se reutiliza en riego en Ciudad Universitaria.

4.2 Particulares.

- Cuantificar bacterias fecales, bacteriófagos (con *E. coli* HS y K12 como bacteria hospedera) y genomas virales de Adenovirus humano, en el influente y efluente de la PTARCA durante un ciclo anual de operación para establecer la eficiencia del método de microfiltración.
- Cuantificar bacterias fecales, bacteriófagos (con *E. coli* HS y K12 como bacteria hospedera) y genomas virales de Adenovirus humano, en cisternas y aspersores de agua residual tratada para determinar si existe alguna diferencia significativa entre el agua residual tratada de efluente con respecto a las cisternas y aspersores.

5. HIPÓTESIS.

El sistema de tratamiento de aguas residuales empleado en la PTARCA, hace una diferencia entre el influente y el efluente, por lo que la presencia y ausencia de microorganismos respectivamente, es significativo, manteniendo esta condición durante su almacenamiento y reuso.

6. ÁREA DE ESTUDIO

El campus Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Autónoma de México se encuentra al sur de la ciudad, sobre una zona de roca basáltica producto de la erupción del volcán Xitle hace aproximadamente 2,300 años. El Xitle forma parte del Eje Volcánico Transversal que atraviesa el país aproximadamente por el paralelo 19 del Pacífico al Golfo de México. Este eje ha sido el factor principal del modelado del paisaje, formando el llamado "malpais" o pedregal, nombre que se da a las áreas cubiertas de lava que, después de permanecer prácticamente desiertas de vida, inician una etapa de depósito de sedimentos producto de la erosión y la acción de organismos pioneros que prepara las condiciones para una sucesión ecológica (Castillo-Argüero *et al.*, 2004).

El clima es templado sub húmedo con régimen de lluvias en verano, una temperatura media anual de 15.5°C. La época de lluvias va de junio a octubre y la de secas de noviembre a mayo. La comunidad se caracteriza por un gran número de hierbas y una pobreza de elementos arbóreos (Castillo-Argüero *et al.*, 2004).

Por lo descrito anteriormente, es evidente que la biodiversidad (vegetación, geología, fauna) del campus de Ciudad Universitaria proporciona servicios ecosistémicos de regulación como: la recarga de los mantos acuíferos, el control de la contaminación del aire, la reducción del calor y el ruido, entre otros; además de culturales (recreación) a toda la comunidad.

Actualmente Ciudad Universitaria cuenta con una extensión de más de 700 hectáreas de las cuales 240 son parte de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, 305 son de área física y 155 de riego. (Rocha, 2010). Para el abastecimiento del agua se utilizan tres pozos profundos; se desinfecta el agua que se extrae, se almacena y se distribuye. (Chavarría, 2004). En el campus se genera agua residual de una población mayor a 130,000 personas. La mayor parte del agua residual es tratada en la PTARCA (Planta de Tratamiento de Agua Residual de Cerro del Agua) una vez tratada es almacenada en

una de las 12 cisternas para su posterior utilización en el riego de áreas verdes. Se estima que el agua producida en la PTARCA es reutilizada en 50 hectáreas son regadas, las restantes 105 se riegan con agua de la red de distribución potable. (Rocha, 2010).

7. MÉTODOS

7.1. Diseño de muestreo.

Se realizó un muestreo de agua residual durante la época de estiaje que comprendió los meses de febrero del 2012 a junio del 2013 que corresponde con la temporada de riego de áreas verdes del campus. Uno de los sitios que fueron monitoreados fue la planta de tratamiento de aguas residuales que se localiza a la salida de Cerro del Agua, en Ciudad Universitaria, la cual, colecta las agua residual y pluvial de la zona central del campus (PUMAGUA, 2009).

El agua residual que ingresa pasa a un sistema de separación física de partículas, a través de cribas de limpieza automática, la primera de 6mm y la segunda de 200 μ m, a continuación pasa a un tanque de aireación por difusores de membrana donde se disminuye la cantidad de materia orgánica para finalmente pasar a un biorreactor de membranas planas rotatorias (0.048 μ m) HUBER VMR® con un tanque en el interior, por lo que dicha membrana queda sumergida en fango activado. El principio del funcionamiento se basa en la separación del sólido contenido en una solución líquida al aplicar una presión diferencial entre ambos lados de la membrana. Al tiempo que la fase líquida (iones y agua) atraviesan la membrana, sólidos, bacterias y la mayor parte de virus quedan retenidos. El lavado para el funcionamiento continuo de las membranas es por aireación (HUVER VMR®).

Posteriormente el permeado viaja a través de la red hidráulica de agua tratada para riego, donde el líquido es almacenado en alguna de las 12 cisternas, con el que se riegan 50 hectáreas de áreas verdes a través de aspersores (Figura 2).

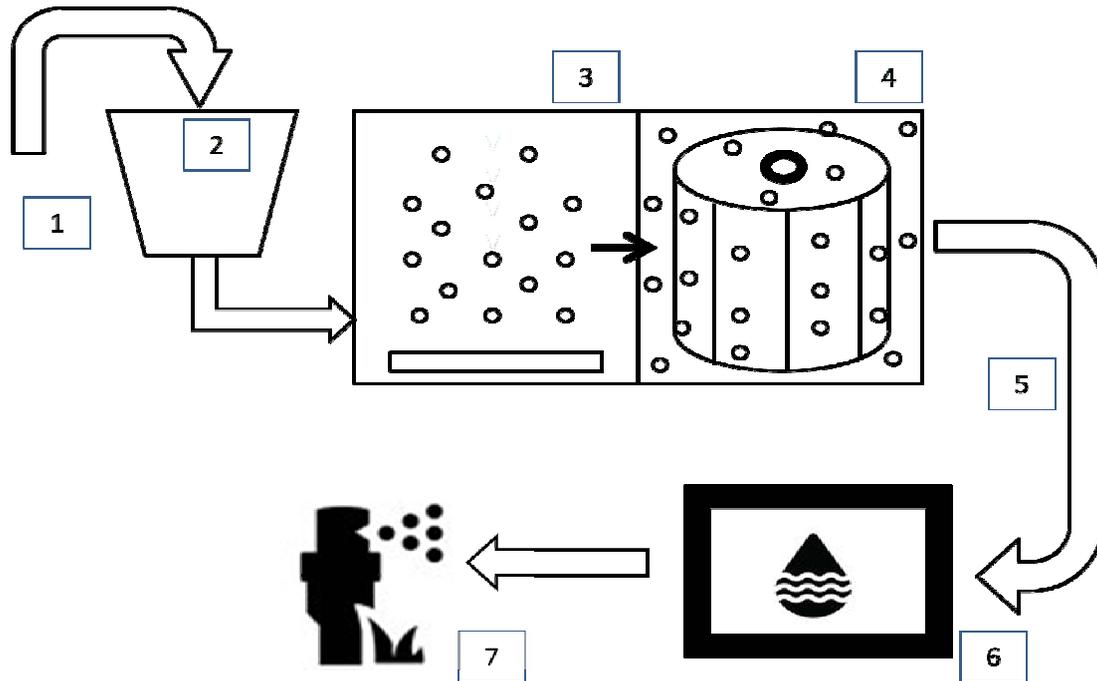


Figura 2. Descripción del proceso de depuración de agua residual. 1. Entrada a la PTAR, 2. Pretratamiento, 3. Reactor aeróbico con difusores de membrana, 4. Biorreactor de membrana, 5. Salida de la PTAR, 6. Cisternas de almacenamiento de agua residual tratada, 7. Aspersor de agua residual tratada para riego.

7.2. Sitios de monitoreo.

Los sitios de monitoreo fueron el influente y el efluente de la planta de tratamiento de agua residual, 6 cisternas de almacenamiento y 3 sitios donde hay aspersores para riego de áreas verdes. (Tabla 4)(Figura 3).

Tabla 4. Sitios de monitoreo

Sitio	Clave	Ubicación
Planta de Tratamiento de Agua Residual	PTARCA	Influente y Efluente
Cisternas de Almacenamiento de Agua Residual Tratada	CAARTB	Campo de Beisbol
	CAARTPC	Pista de Calentamiento
	CAARTCM	Centro Médico
	CAARTC	Biblioteca Central
	CAARTV	Facultad de Veterinaria
	CAARTQ	Facultad de Química
Aspersores de Agua Residual Tratada*	AARTI	"Las islas"
	AARTB	"Los Bigotes"
	AARTPU	"Campo Pumitas"

*En áreas verdes regadas con agua residual tratada de reuso.

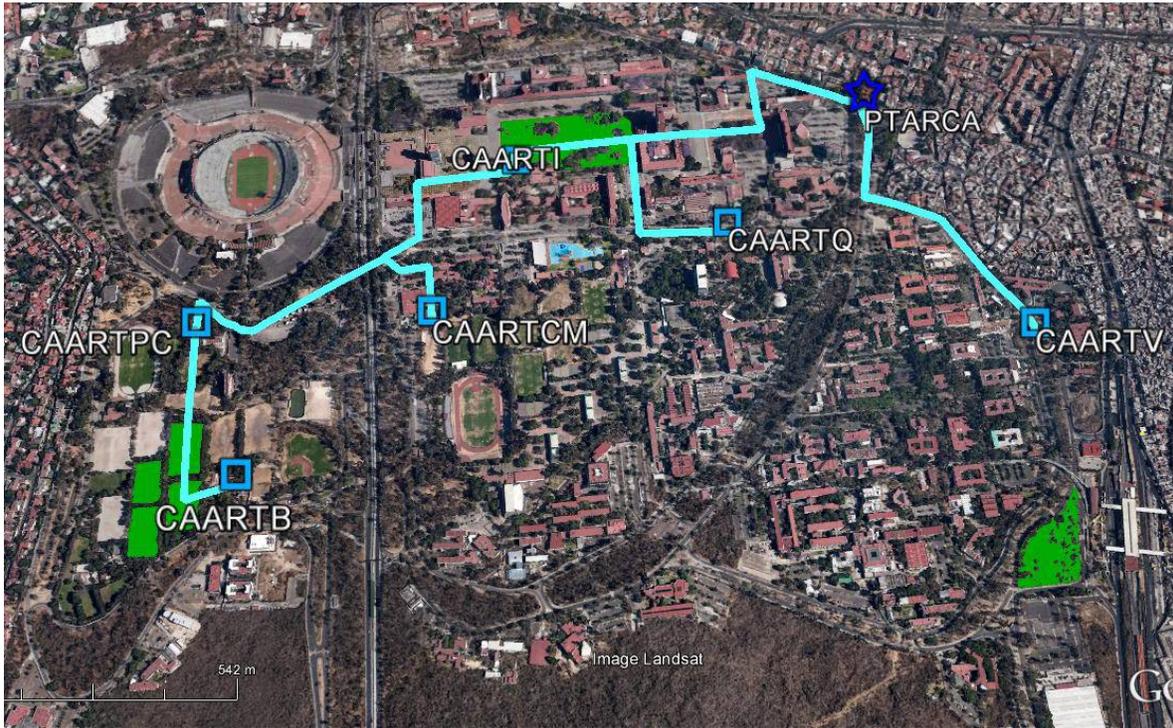


Figura 3. Sitios que fueron muestreados. Red hidráulica de cisternas de almacenamiento de agua residual tratada y áreas verdes donde se colectó agua de los aspersores.

7.3. Trabajo de campo.

Para la toma de muestras de agua se utilizaron botes de polipropileno previamente estériles (120°C-15 min), antes de tomar la muestra se limpió con alcohol la llave o cubeta, esta última fue enjuagada con agua destilada para posteriormente tomar la muestra. Para evitar la contaminación de la muestra y para la seguridad del personal técnico que colectó las muestras, se utilizaron guantes de nitrilo y batas.

En el influente de la planta de tratamiento el volumen colectado fue de 1L, en el efluente y cisternas de almacenamiento, fue de 5L. En los sitios de recreación, se colectaron muestras compuestas eligiendo diferentes aspersores de un mismo sitio de los que se tomó el mismo volumen de agua hasta conseguir un volumen final de muestra de 10L. Posteriormente las muestras fueron transportadas en refrigeración para ser procesadas en laboratorio.

Los volúmenes de agua fueron colectados de acuerdo a las recomendaciones de las técnicas propuestas en el manual de métodos estandarizados (APHA, 2005).

7.4. Concentración de las muestras por ultrafiltración.

Todas las muestras de agua residual tratada fueron concentradas por el método de ultrafiltración. Este método consiste en concentrar partículas (material orgánico e inorgánico, protozoarios, bacterias o virus) a partir de la eliminación de agua de las muestras de gran volumen mediante un filtro en un sistema de circulación de la muestra y eliminación tangencial del agua. Al final del procedimiento se obtiene un volumen reducido de agua, el cual se conserva a 0-4 °C para verificar la composición de los microorganismos (Heijnen *et al.*, 2009).

La concentración de las muestras se realizó a un flujo constante de 1,700 mL/min con una presión entre 15 y 20 psi, utilizando una bomba peristáltica marca Masterflex, Cole Palmer (USA) y ultrafiltros de polisulfona F80A (Hemoflow™, Fresenius Medical Care), que tienen una construcción de fibras huecas que permiten la retención de partículas mayores a 15 kDa.

Previo a esto se bloqueó el dispositivo de ultrafiltración, haciendo recircular 1L de solución de polifosfato de sodio (NaPP) a una concentración 0.1% por 30 min. Esto con el fin de generar una carga negativa entre la superficie del filtro y los microorganismos, evitando la adsorción de microorganismos a la superficie de las fibras huecas. Por otra parte, antes de someter las muestras al sistema de ultrafiltración, se agregó NaPP al 0.1% para disgregar los microorganismos que pudieran estar presentes en las muestras de agua (Polaczyk *et al.*, 2008). El volumen final que se obtuvo fue de 90 mL aproximadamente, el cual se preservó a una temperatura de -20°C para su posterior análisis.

7.5. Detección y cuantificación de bacterias fecales.

Se realizó un análisis bacteriológico para todas las muestras, empleando el método de filtración a través de membrana (Murray, 1995; APHA, 2005); con el fin de detectar la presencia de bacterias coliformes fecales (FC) y enterococos fecales (FE). Esta prueba se realizó por triplicado para cada sitio de muestreo.

Para el análisis de muestras de agua residual se realizaron 5 diluciones seriadas con proporción 1:10 (APHA, 2005) en un buffer de fosfatos a un pH 7. Para realizar la dilución se tomó un mililitro de la

muestra y se colocó en un tubo de ensaye con 9 mL de buffer; posteriormente, se homogenizaron las muestras mediante un vórtex (Modelo SI-T233S).

Se utilizaron membranas de acetato de celulosa de 0.45 µm (Millipore MF tipo HA, Millipore Corp Bedford). Para hacer pasar a través de un sistema de filtración que funciona con un matraz kitazato conectado a vacío, de manera que la muestra, por una diferencia de presión, atravesase dicha membrana, posteriormente fueron colocadas en diferentes medios, para ser incubadas en tiempo y temperatura adecuados (Tabla 5).

Tabla 5. Temperatura y tiempo de incubación para bacterias fecales

Coliformes fecales	Enterococos fecales	Estreptococos fecales
m-FC (BectonDikinson)	m-E (BectonDikinson)	Agar KF (BectonDikinson)
44°C / 24 hrs	37°C / 48hrs	37°C / 48hrs

Al término del periodo de incubación, las bacterias se cuantificaron y se reportaron en unidades formadoras de colonia en 100 mL (UFC/100mL) de acuerdo con el método estandarizado (APHA, 2005).

7.6. Detección y cuantificación de bacteriófagos.

Para la detección de bacteriófagos se empleó el método de doble capa de agar (USEPA 1602). El cual consiste por un lado en el cultivo de una bacteria hospedadora y por otro el ensayo de doble capa de agar. Se parte de la premisa de que si los bacteriófagos están presentes en las muestras de agua, infectarán a la bacteria que se emplea como hospedadora, de tal manera que este se verá reflejado en forma de placas en las cajas de cultivo bacteriano (USEPA, 2001).

Se utilizaron las bacterias *E. coli* K12- Hfr 3000 F⁺ (ATCC 23631) y *E. coli* HS (pFamp) R (ATCC 700891) como bacterias hospederas de bacteriófagos F-RNA y somáticos. El primer paso fue hacer recrecer en

un medio líquido selectivo estas bacterias. Para *E. coli* K12- Hfr 3000 F⁺, se utilizó el medio TGYB (Bioxon), con la adición de calcio glucosa a una proporción 1mL por cada 100 mL. Posteriormente, se inoculó 0.5 mL de stock de bacteria por cada 50 mL de medio para finalmente incubar durante 24 horas a 37 °C (ISO 10705, 1995). En el caso de HS (pFamp) R, se utilizó medio líquido TSB (Fluka) y se adicionó una solución de antibiótico constituido por ampicilina/estreptomicina (Sigma®, 1.5 % de concentración) en una proporción de 10mL por cada 100mL de medio. Se inoculó 0.5 mL de stock de bacteria por cada 50 mL de medio para finalmente incubar durante 3 horas a 37 °C con una agitación constante (USEPA, 2001) en un baño de agua orbital (DKSB020 Daiki Sciences, CO).

Para realizar el método de doble capa de agar, se mezcló 0.5 mL de la muestra y de la bacteria hospedadora *E. coli* K12- Hfr 3000 F⁺, esto en 5 mL del medio semisólido TGYB (Bioxon), posteriormente esta mezcla se vació en cajas de petri (100 x 15 cm) con medio sólido TGYB (previamente preparadas). Después de solidificar, se incubaron a 37 °C por un periodo de 18 horas. Al concluir el tiempo se realizó la cuantificación de las placas generadas y se reportó en unidades formadoras de placas en 100 mL (UFP/100mL) (USEPA, 2001).

Para la bacteria *E.Coli* HS HS (pFamp) R se realizó el mismo procedimiento, de tal forma que se mezcló 0.5 mL de la muestra y de la bacteria hospedadora *E.Coli* HS HS (pFamp) R en 5 mL del medio semisólido TSB (Fluka), posteriormente se vació en cajas de petri (100 x 15 cm) con medio sólido TSB (Fluka) (previamente preparadas). Se incubaron a 37 °C por un periodo de 18 horas. Al concluir el tiempo se realizó la cuantificación de las placas generadas y se reportó en unidades formadoras de placas en 100 mL (UFP/100mL) (USEPA, 2001).

7.7. Cuantificación de adenovirus por Q-PCR.

7.7.1. Extracción de ADN.

La extracción de ácidos nucleicos para la cuantificación de AdV se realizó con un mini kit de DNA QIAamp (QIAGEN) para obtener ADN libre de impurezas en un volumen final de 250 µL que fue conservado a -70°C.

7.7.2. Curva patrón.

Para la cuantificación de AdV 40 y 41 se utilizó como control positivo DNA de AdV humano 41 de ATCC (VR-931D) con un título estimado de 1.67×10^7 genomas/mL a partir de los ng/mL reportados en las especificaciones de American Type Culture Collection (ATCC) (Figura 4)

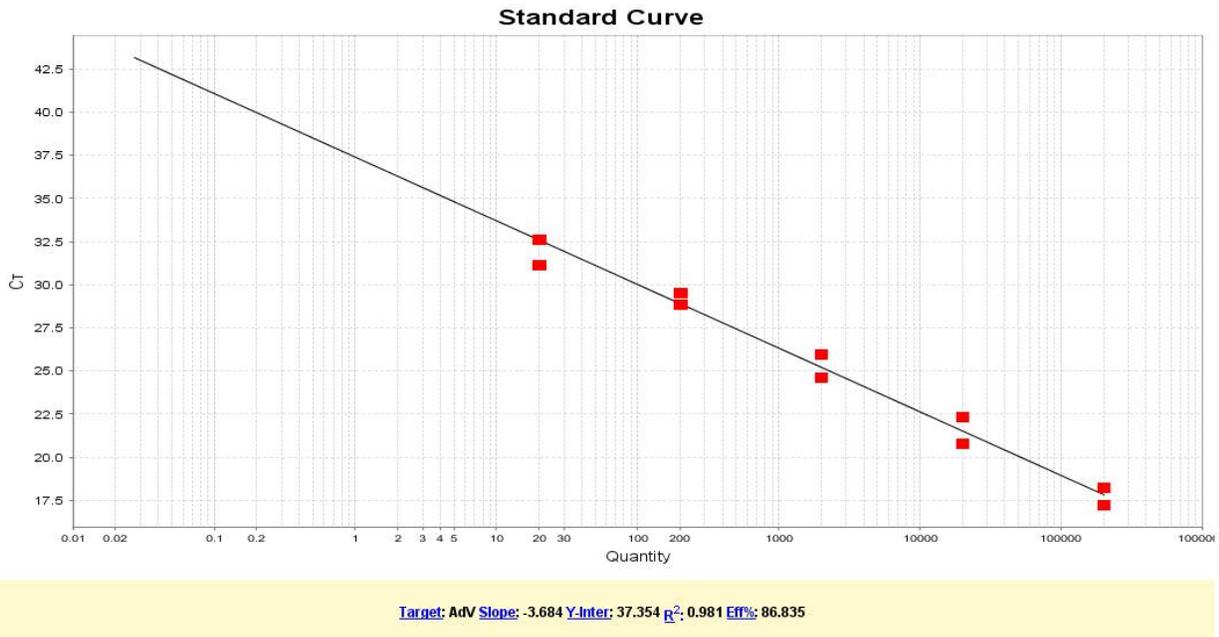


Figura 4. Curva patrón. CT es el número de ciclo en el cual la fluorescencia alcanza el threshold fijado y en el eje X se encuentra la cantidad de gen/μL a partir del título viral calculado.

7.7.3. Cuantificación de genomas virales de AdVF por Q-PCR.

Se utilizó el protocolo para la cuantificación de segmentos de genoma de adenovirus 40 y 41 reportado por Xagorarakis y colaboradores (2007) y modificado por Silva-Magaña, 2013.

Se utilizó la técnica de PCR-Q con un volumen de reacción de 20μL que contenía 10μL de TaqMan Universal PCR Master Mix with UNG 2X (Applied Biosystems), 1μL de Primer HAdV-F4041-hex157, 1μL de Primer HAdV-F40-hex245 500nM, 1μL de Primer HAdV-F41-hex246 500nM, 1μL de sonda marcada HAdV-F4041-hex214-r 120nM, 1μL de agua estéril y 5μL de DNA extraído. La sonda utilizó como reportero FAM.

La reacción se llevó a cabo a 50°C por 2 minutos seguido de 95°C 15 minutos para la inactivación de la enzima uracil-N- Glucosilasa que evita la reamplificación de fragmentos de DNA promueve la desnaturalización de DNA y la activación de la polimerasa. Posteriormente se realizarán 45 ciclos a 95°C por 15 segundos, 60°C por 30 segundos y 72°C por 10 segundos, este protocolo fue modificado del reportado por Xagorarakí y colaboradores (2007) en donde se colocaba un paso final de 30°C 10 segundos.

Los oligonucleótidos y la sonda utilizados hibridan en la zona que codifica para el hexon de adenovirus F (serotipos 40 y 41). El oligonucleótido forward y la sonda marcada utilizado para adenovirus F será el mismo para ambos serotipos virales, mientras que para el oligonucleótido reverse se utilizará un diseño específico para cada tipo viral (Xagorarakí et al., 2007) (Tabla 6).

Tabla 6. Oligonucleótidos utilizados en este estudio y sus características relevantes.

OLIGONUCLEOTIDO	TAMAÑO pb	SECUENCIA	REFERENCIA
Adeovirus F			Xagorarakí et al., 2007
HAdV-F4041-hex157 (forward AdV 40 y 41)	21	5'- ACCCACGATGTAACCACAGAC -'3	
HAdV-F4041-hex214 (sonda)	22	5' -FAM- CGACKGGCACGAAKCGCAGCGT- BHQ1-'3	
HAdV-F40-hex245 (reverse AdV40)	23	5'- ACTTTGTAAGAGTAGGCGGTTTC-'3	

(reverse AdV41)

La sonda será modificada colocando el apagador BHQ1 para poder realizar la detección en el equipo.

Como pruebas de control del resultado de Q-PCR para las muestras del efluente, cisternas y aspersores, se inocularon AdV provenientes de muestras positivas en muestras negativas, de tal manera que la concentración de la muestra fue: 2.5µL de muestra positiva + 2.5µL de muestra negativa, para saber si existía algún tipo de inhibición. Se realizó una prueba más de control de la inhibición añadiendo 2µL de BSA como coadyuvante.

7.7.4. Análisis estadístico.

Para comenzar el análisis de datos se utilizó el programa R versión 3.1.1 para obtener un modelo de distribución. Previamente se realizó una transformación de los datos, utilizando al logaritmo base 10 (Hair *et al*, 1999), con el objetivo de disminuir la variabilidad.

Debido a que la distribución de los datos no es normal, se utilizaron pruebas de estadística no paramétrica. Se realizó una prueba de Wilcoxon y una de Kruskal-Wallis para saber si existe diferencia significativa entre el agua del influente y del efluente, entre cisternas y entre aspersores para cada microorganismo analizado.

7.7.5. Esquema general de trabajo.

Se presenta un resumen de todo el trabajo (Figura 5).

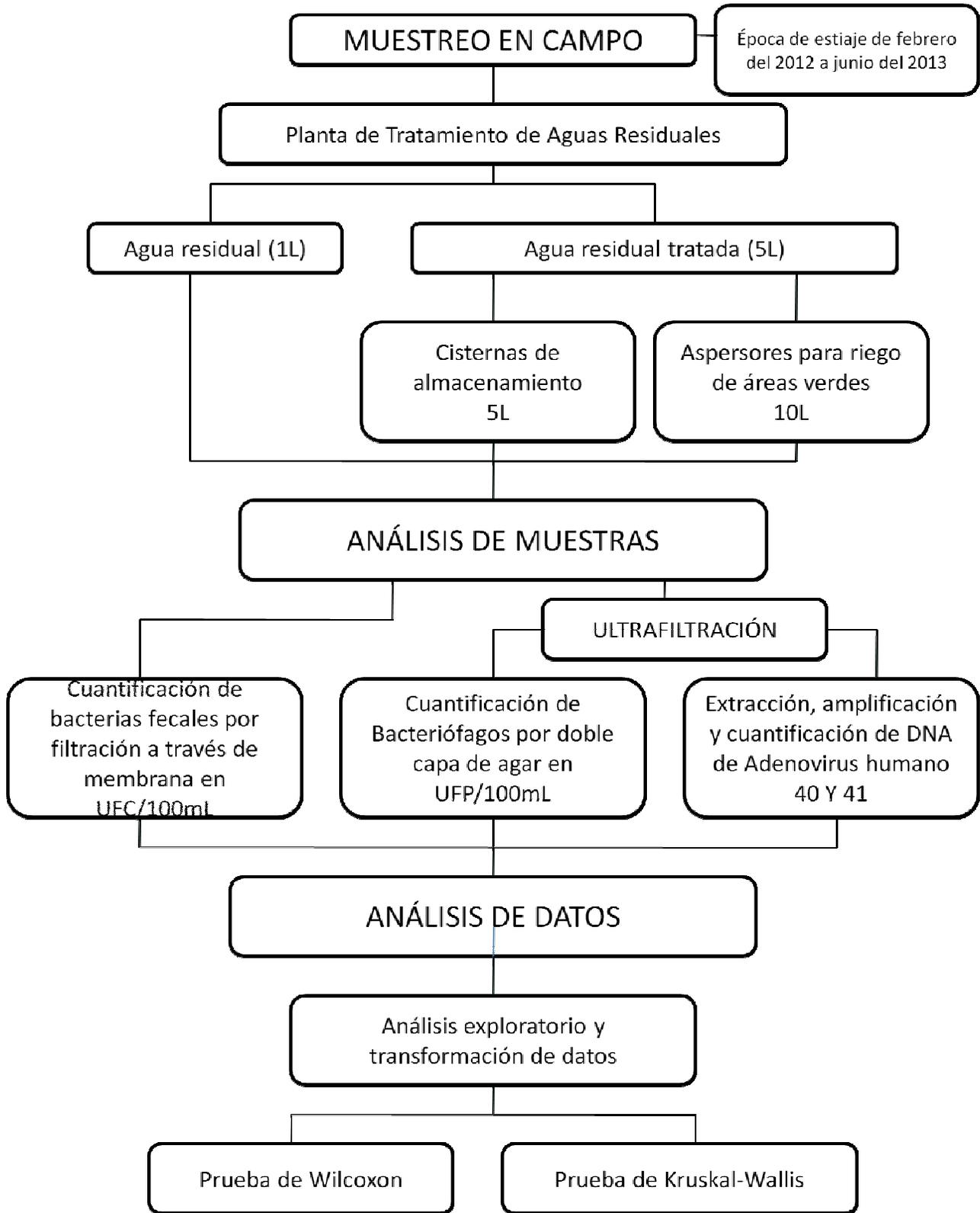


Figura 5. Descripción general del trabajo.

8. RESULTADOS

Para visualizar de manera gráfica los datos posteriores a la transformación se realizaron diagramas de caja y bigote en el programa R versión 3.1.1 para apreciar el comportamiento de los mismos. Estas graficas se analizaran de particular para cada organismo y resaltando las comparaciones entre sitios de muestreo.

Previamente y a modo de acotación se muestra la siguiente tabla con el fin de dar a conocer la codificación para el análisis estadístico (Tabla 7).

Tabla 7. Claves para visualizar las graficas.

Sitio		Clave
Planta de Tratamiento de Aguas Residuales	Influente	1
	Efluente	2
Cisternas de Almacenamiento de Agua Residual Tratada	Campo de Beisbol	3
	Pista de Calentamiento	4
	Centro Médico	5
	Biblioteca Central	6
	Facultad de Veterinaria	7
	Facultad de Química	8
Aspersores de Agua Residual Tratada	"Las Islas"	9
	"Campo Pumitas"	10
	"Los Bigotes"	11

8.1. Coliformes fecales (CF).

En la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Cerro del Agua (PTARCA), se removieron ocho unidades logarítmicas, con respecto al influente, el 90% de los datos se encuentran por debajo del límite de detección. (Figura 6).

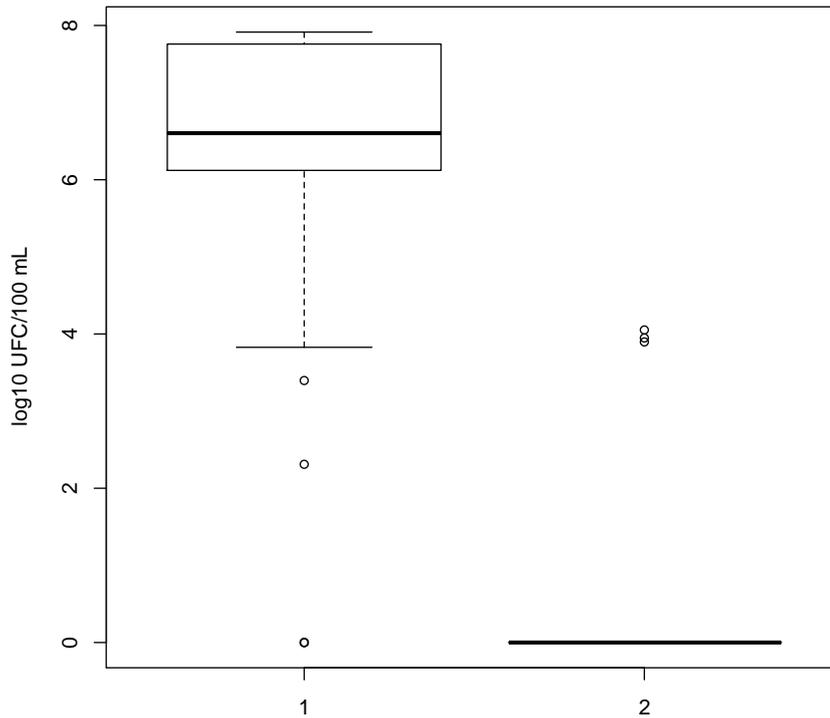


Figura 6. Coliformes fecales en PTARCA

Para el caso de cisternas, los resultados (Figura 7) mostraron un comportamiento similar en las correspondientes a los sitios tres y seis respectivamente, la remoción fue de ocho unidades logarítmicas, ya que el 90% de los datos, son menores a 1 UFC/100 mL.

La cuatro y siete tuvieron un incremento de cuatro y tres unidades logarítmicas respectivamente, con respecto al efluente.

La cinco, tuvo un incremento de 2 unidades logarítmicas con respecto al efluente, el 90% de los datos se encuentra entre 10-100 UFC/100 mL y el 10% restante es cercano al límite de detección.

Finalmente la ocho, tuvo un aumento de más de una unidad logarítmica, con respecto al efluente, el 50% de los datos están por debajo del límite de detección y el 35% no rebasa las 100 UFC/100mL.

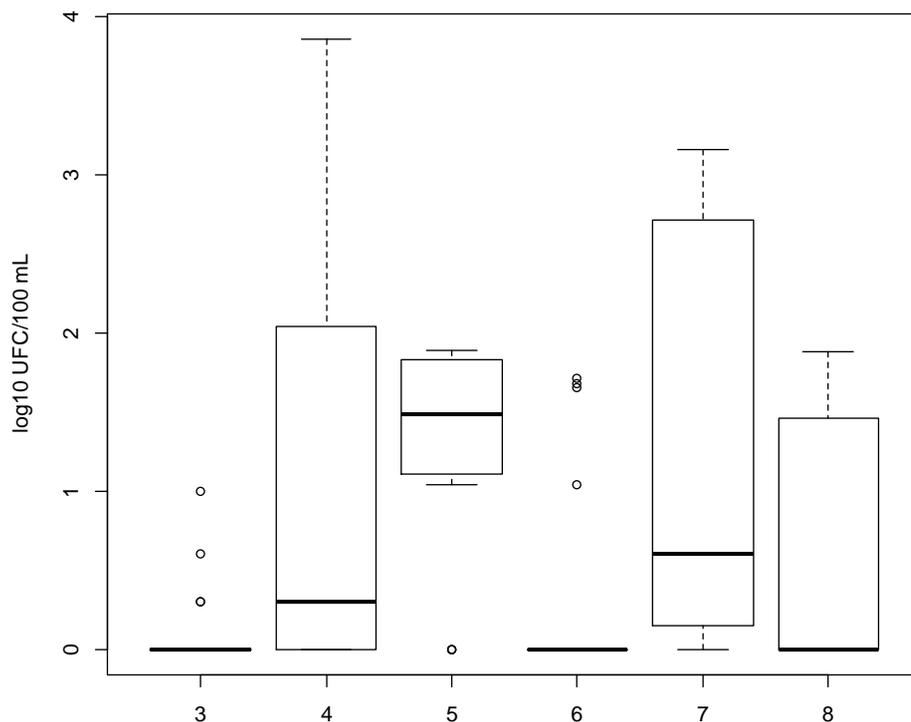


Figura 7. Coliformes fecales en CAART.

Por último, (Figura 8), se muestran los resultados para aspersores. En el sitio nueve, se observó un aumento de casi dos unidades logarítmicas, con respecto al efluente el 75% de los datos es cercano a 10 UFC/100 mL y el resto, no rebasa más de 100 UFC/100 mL.

En el 10, se observó un aumento de 2.5 unidades logarítmicas, con respecto al efluente el 50 % de los datos no rebasa 10 UFC/100 mL, el 25% no rebasa 100 UFC/100 mL y 15% no rebasa las 1000 UFC/100 mL.

El 11, tuvo un aumento de dos unidades logarítmicas, con respecto al efluente el 50% de los datos se encuentran por debajo del límite de detección, sin embargo el resto se distribuye hasta 100 UFC/100mL.

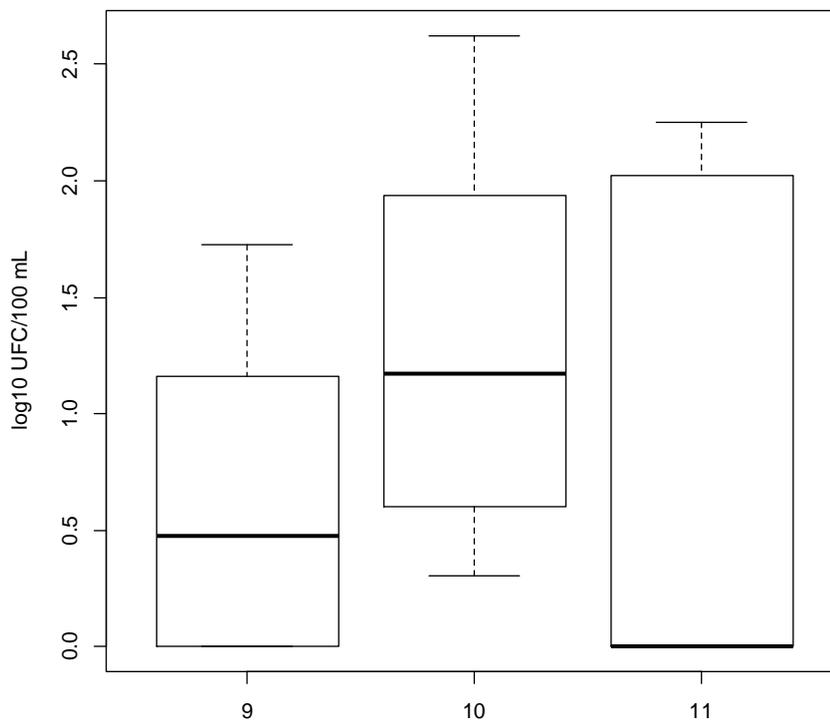


Figura 8. Coliformes fecales en AART.

8.2 Enterococos fecales (EF).

En PTARCA, se removieron seis unidades logarítmicas, con respecto al influente, el 90% de los datos se encuentran por debajo del límite de detección. (Figura 9).

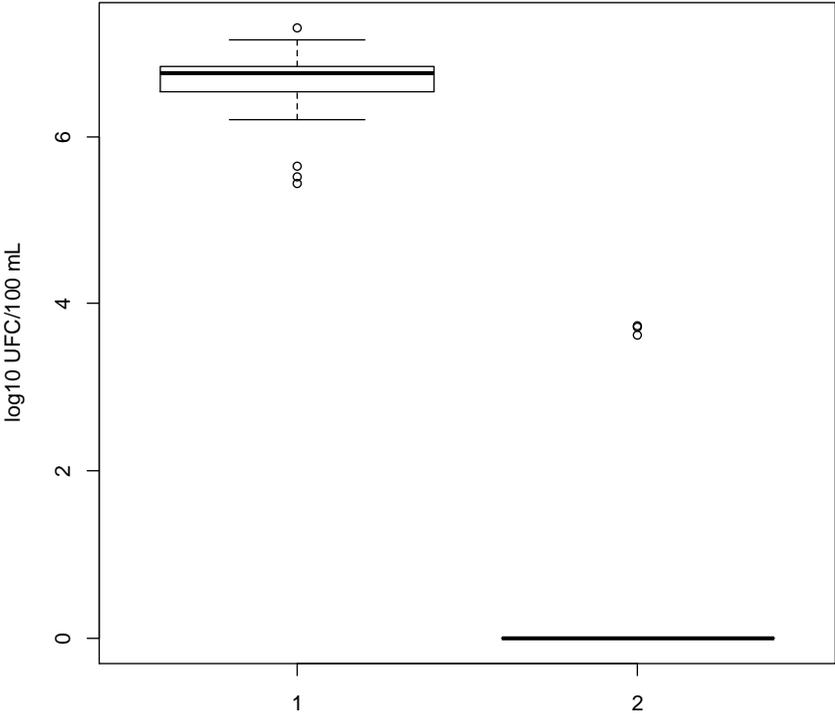


Figura 9. Enterococos fecales en PTAR.

En cisternas (Figura 10), la tres, tuvo una remoción de seis unidades logarítmicas ya que, el 90% de los datos, se encuentran por debajo del límite de detección.

La cuatro, mostró un incremento de al menos una unidad logarítmica, con respecto al efluente, el 75% de los datos se encuentra entre 1 y 10 UFC/100mL, el 15% entre 10 y 100 UFC/100mL y 10% presentan datos atípicos cercanos a los 10,000 UFC/100mL. La cinco y siete son las que presentan mayor incremento, siendo de casi tres unidades logarítmicas con respecto al efluente.

La cisterna seis, mostró un incremento de al menos una unidad logarítmica, con respecto al efluente, el 50 % de los datos son menores a 10 UFC/100mL, un 25% no rebasa las 10 UFC/100 mL y el resto no rebasa las 100 UFC/100mL.

Finalmente la ocho, mostró un incremento de al menos una unidad logarítmica, con respecto al efluente, el 50% de los datos se encuentran por debajo del límite de detección, el 35% no rebasa las 100 UFC/100mL.

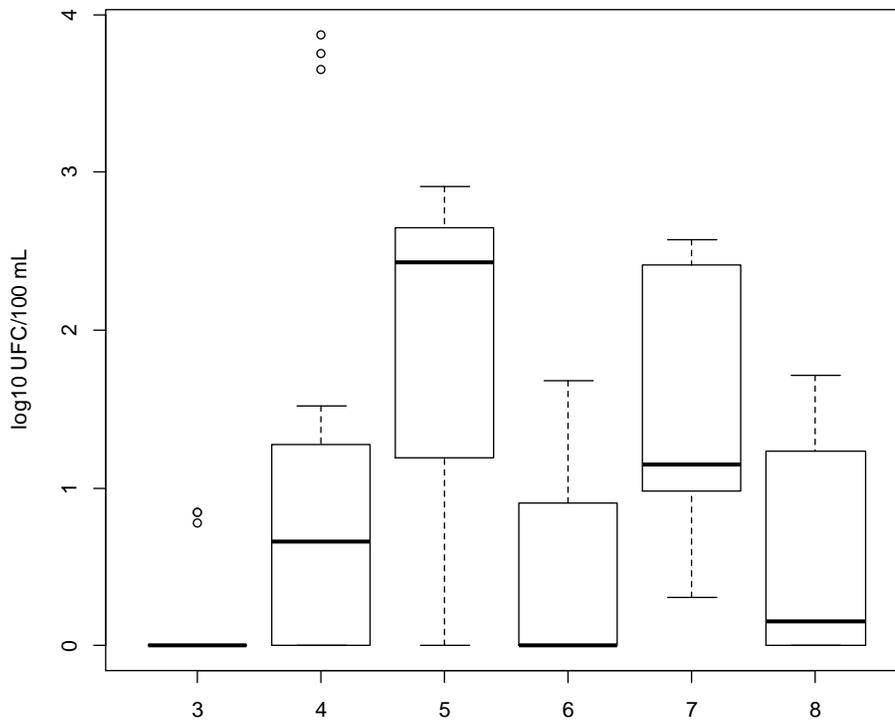


Figura 10. Enterococos fecales en CAART.

Por último (Figura 11), se encuentran los aspersores. En el número nueve hay un incremento de al menos 1.5 unidades logarítmicas, con respecto al efluente, el 75% de los datos es cercano a 10 UFC/100mL, 15 % no rebasa más de 100 UFC/100mL.

El sitio 10, mostró un incremento de al menos dos unidades logarítmicas, con respecto al efluente, el 50 % de los datos contiene alrededor de 10 UFC/100mL, el 25% no rebasa 100 UFC/100mL y más del 15% no rebasa las 1000 UFC/100mL.

El 11, mostró un incremento de dos unidades logarítmicas, el 50% de los datos se encuentran por debajo del límite de detección, sin embargo el resto se distribuye hasta 100 UFC/100mL.

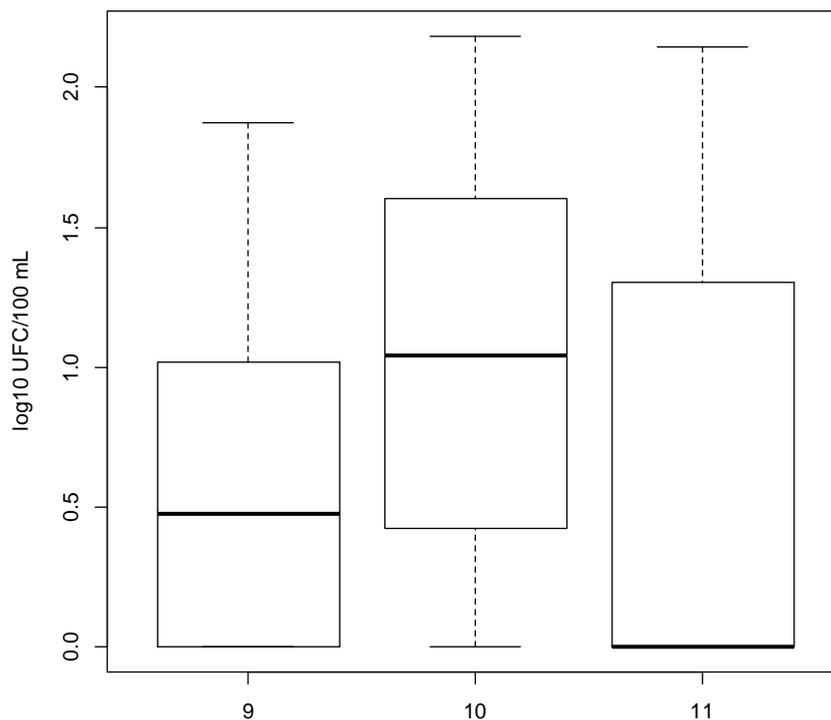


Figura 11. Enterococos fecales en AART.

8.3. Streptococos fecales (EsF)

En la PTARCA (Figura 12), el efluente mostró un incremento de hasta cuatro unidades logarítmicas, con respecto a los resultados obtenidos para coliformes y enterococos, el 50% de los datos se encuentran por debajo del límite de detección, 25 % se encuentra entre 1 y 100 UFC/100 mL, 15 % hasta 10,000 UFC/100 mL y un 10% presenta datos aberrantes que alcanzan los 10,000,000 UFC/100 mL.

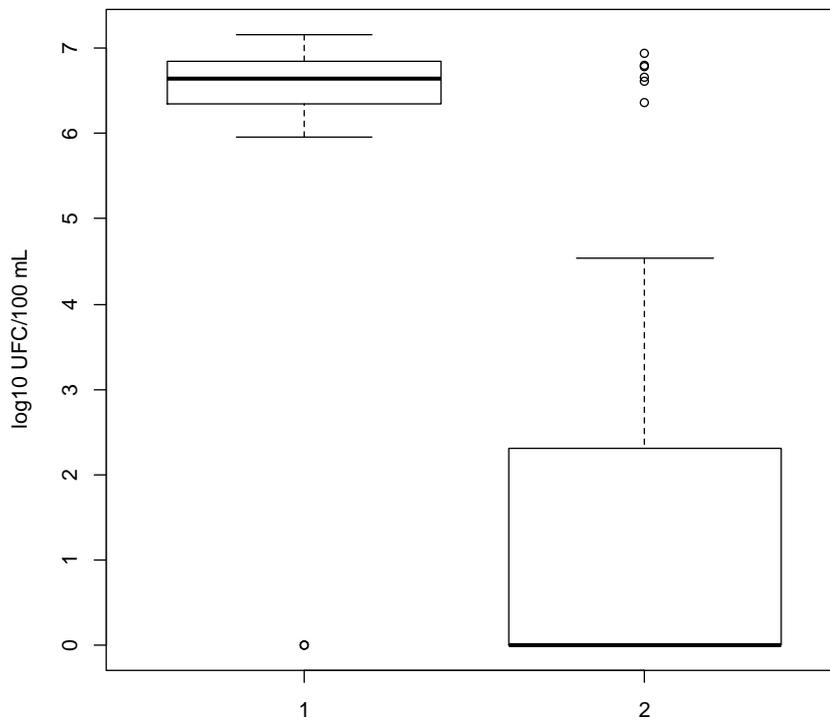


Figura 12. Streptococos fecales en PTAR.

En las cisternas (Figura 13), la número tres mostró que 100 % de los datos no rebasan 1 UFC/100 mL, incluyendo los datos extremos. La cinco y siete presentan los incrementos más altos, siendo de casi 1,000 UFC/100 mL.

Las cisternas cuatro, seis y ocho, no rebasan las 100 UFC/100 mL, por lo que hubo una remoción de al menos dos unidades logarítmicas con respecto al efluente

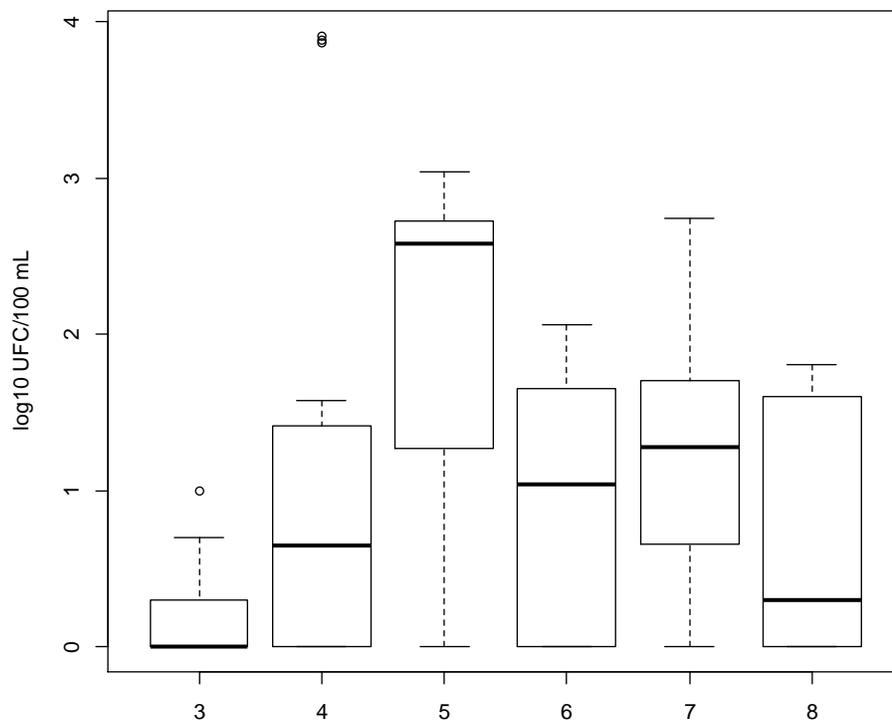


Figura 13. Estreptococos fecales en CAART.

Por último (Figura 14), se encuentran los aspersores, todos muestran una remoción de dos unidades logarítmicas, con respecto al efluente.

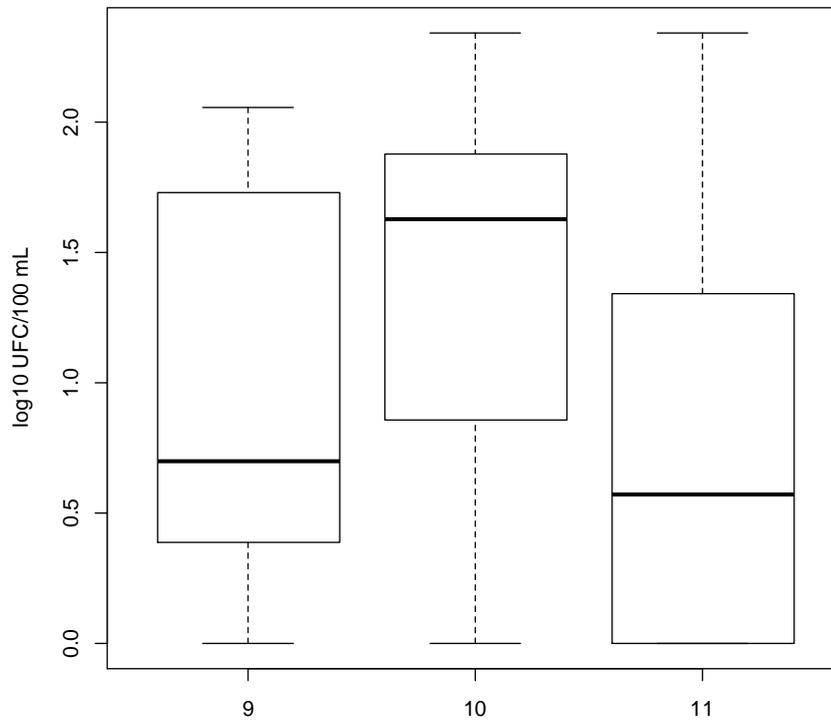


Figura 14. Estreptococos fecales en AART.

8.4. Bacteriófagos con *E. coli* HS como hospedera (BHS).

En PTARCA (Figura 15), el efluente contiene datos que se encuentran por debajo del límite de detección, por lo que la remoción fue de al menos cuatro unidades logarítmicas. Esta condición del efluente se conservó en cisternas y aspersores.

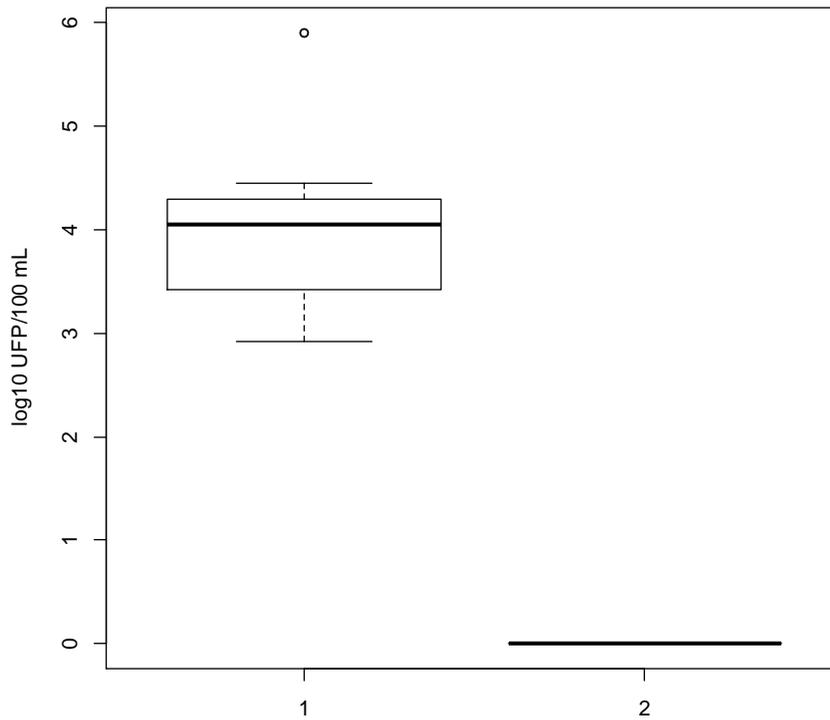


Figura 15. Bacteriófagos HS en PTAR.

8.5. Bacteriófagos con E. coli K12 como hospedera (BK12).

En la PTARCA (Figura 16), todos los datos del efluente se encuentran por debajo del límite de detección, por lo que la remoción fue de cinco unidades logarítmicas. Esta condición del efluente se conservó en cisternas y aspersores.

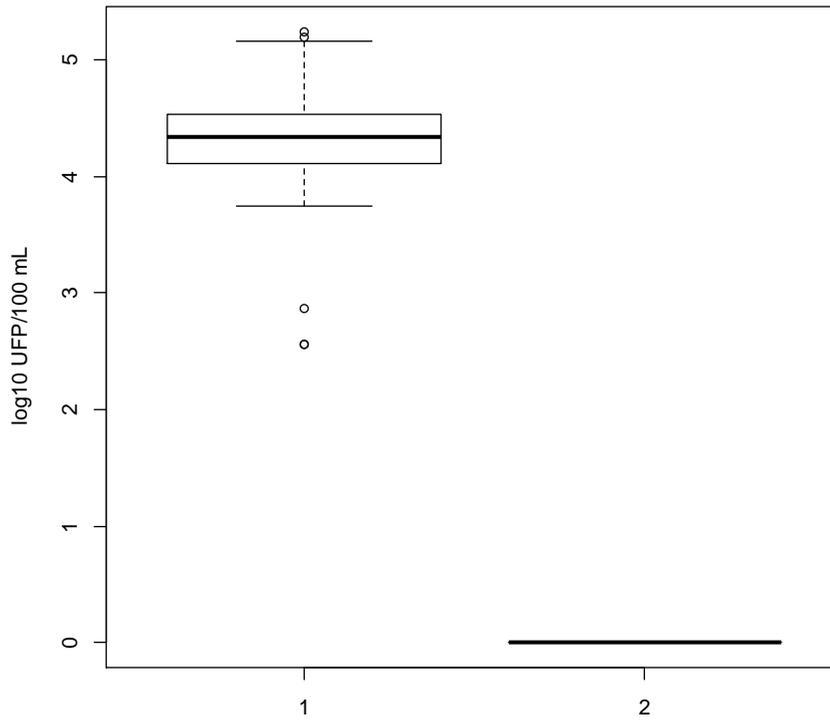


Figura 16. Bacteriófagos K12 en PTAR.

8.6. Adenovirus humano (serotipos 40 y 41).

En la PTARCA (Figura 17), los datos del efluente se encuentran por debajo del límite de detección, por lo que la remoción fue de al menos una unidad logarítmica. Esta condición del efluente se conservó en cisternas y aspersores.

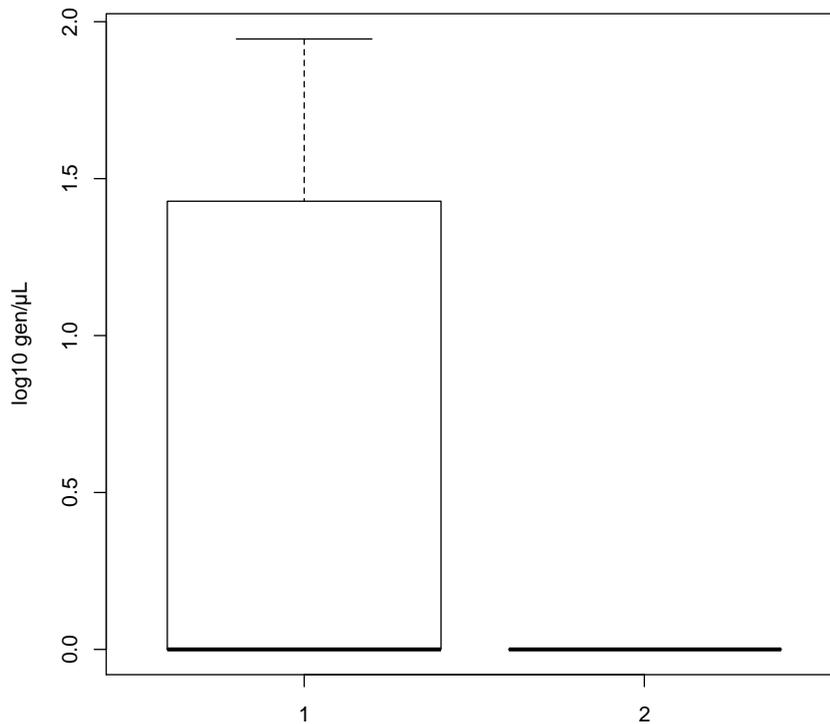


Figura 17. Adenovirus en PTAR.

8.7. Análisis de comparación de muestras dependientes no paramétricas.

Para complementar el análisis estadístico era necesario saber si existía alguna diferencia significativa en el agua del influente (antes del tratamiento) con respecto a la del efluente (después del tratamiento) por lo que se realizó una prueba de Wilcoxon en el programa SPSS versión 1.8, dicha prueba genera un análisis de comparación de dos muestras dependientes en este caso, la planta de tratamiento (influyente y efluente), que utiliza el valor de p, para señalar la probabilidad estimada de rechazar la hipótesis nula, esto se logra cuando dicho valor es <0.05 .

Hipótesis nula (H0): No existen diferencias significativas.

Hipótesis alternativa (Ha): Existen diferencias significativas.

En la tabla 8 podemos ver que en todos los casos se rechazó la hipótesis nula, por lo que podemos decir, con un 95% de certeza que hay diferencias significativas en el influente con respecto al efluente.

Tabla 8. Relación entre influente y efluente en la PTAR

INFLUENTE/EFLUENTE						
	CF	EF	EsF	BHS	BK12	AdVF
Valor p	0.000276	0.000961	0.000000	0.0019	0.001927	0.000000
n	85	47	85	85	85	85

8.8. Prueba de comparación múltiple de muestras independientes, no paramétricas.

8.8.1. Cisternas.

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para conocer si existe alguna diferencia significativa entre las cisternas, dicha prueba utiliza el valor de p para señalar la probabilidad estimada de rechazar la hipótesis nula, esto se logra cuando el valor de p es <0.05

Hipótesis nula (H0): No existen diferencias significativas.

Hipótesis alternativa (Ha): Existen diferencias significativas.

Como resultado de esta prueba obtuvimos que para todas las bacterias fecales analizadas existen diferencias significativas entre las cisternas, esto quiere decir que los datos no se comportan de manera similar estadísticamente (Tabla 9).

Tabla 9. Relación entre cisternas de agua residual tratada.

CISTERNAS						
	CF	EF	EsF	BHS	BK12	AdVF
VALOR DE P	0.0004	0.0000	0.0004	*	*	*
N	85	47	85	*	*	*

* Esta prueba no pudo ser realizada debido a que los resultados tienen un valor de cero y por lo tanto no son susceptibles a un análisis estadístico.

Para complementar el análisis, se realizó una prueba de comparación múltiple en el programa SPSS versión 1.8, para saber que sitios tienen diferencias significativas, dicha prueba utiliza el valor de p para señalar la probabilidad estimada de rechazar la hipótesis nula, esto se logra cuando el valor de p es <0.05.

Hipótesis nula (H0): No existen diferencias significativas.

Hipótesis alternativa (Ha): Existen diferencias significativas.

En la tabla 10 observamos que la relación entre la cisterna tres y cinco es diferente significativamente, ya que la p es de 0.0183, lo mismo pasa con la número tres y siete pero con una p de 0.0412, esto quiere decir que las cisternas cinco y siete, muestran diferencias significativas, con respecto a la número tres, por lo tanto, los sitios Centro Médico y Facultad de Veterinaria, son diferentes.

Tabla10. Prueba de comparación múltiple no paramétrica para coliformes fecales en cisternas.

CF	3	4	5	6	7	8
3		0.4679	0.0183	1.0	0.0412	1.0
4			1.0	1.0	1.0	1.0
5				0.0578	1.0	0.3489
6					0.1204	1.0
7						0.6343
8						

En la tabla 11 se muestra que la relación entre la cisterna tres y cinco es diferente significativamente, ya que la p es de 0.0001. La cisterna seis es significativamente diferente que la cinco con una p de 0.0057 y por último, la cisterna número siete es significativamente diferente a la tres con una p de 0.0004 y a la seis con una p de 0.0143. Nuevamente los sitios Centro Médico y Facultad de Veterinaria, son diferentes de los demás.

Tabla 11. Prueba de comparación múltiple no paramétrica para enterococos fecales en cisternas.

EF	3	4	5	6	7	8
3		0.1771	0.0001	1.0	0.0004	1.0
4			0.6635	1.0	1.0	1.0
5				0.0057	1.0	0.0763
6					0.0143	1.0
7						0.1601
8						

En la tabla 12 podemos ver que la relación entre la cisterna tres y cinco es diferente significativamente, ya que la p es de 0.0002, lo mismo pasa con la número tres y siete pero con una p de 0.0149, esto quiere decir que la cisterna cinco y siete muestran diferencias significativas, con respecto a la número uno. Por último comprobamos que los sitios Centro Médico y facultad de Veterinaria son diferentes.

Tabla12. Prueba de comparación múltiple no paramétrica para estreptococos fecales en cisternas.

EsF	3	4	5	6	7	8
3		0.6008	0.0002	0.1495	0.0149	1.0
4			0.2876	1.0	1.0	1.0
5				0.9806	1.0	0.1559
6					1.0	1.0
7						1.0
8						

8.8.2. Aspersores.

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis en el programa SPSS versión 1.8 para conocer si existe alguna diferencia significativa entre los aspersores.

Como resultado de esta prueba obtuvimos que para enterococos fecales y estreptococos fecales, el comportamiento de los datos en los tres aspersores es similar, es decir, no hay diferencias significativas estadísticamente, por el contrario, para los coliformes fecales, hay una diferencia significativa (Tabla 13), este resultado nos llevó a realizar la prueba de comparación múltiple no paramétrica para saber que aspersor es diferente (Tabla 14), donde pudimos observar que para la relación entre el 10 y 11 hay una diferencia significativa.

Tabla13. Relación entre aspersores de agua residual tratada.

ASPERSORES						
	CF	EF	SF	BHS	BK12	AdVF
VALOR DE P	0.0366	0.2489	0.1515	*	*	*
n	85	47	85	*	*	*

* Esta prueba no pudo ser realizada debido a que los resultados tienen un valor de cero y por lo tanto no son susceptibles a un análisis estadístico.

Tabla 14. Prueba de comparación múltiple no paramétrica para coliformes fecales en aspersores

CF	9	10	11
9		0.1627	1.0
10			0.0494
11			

9. DISCUSIÓN

El monitoreo microbiológico en aguas residuales tratadas, se utiliza comúnmente para garantizar la seguridad en relación a una gama de contaminación con heces humanas y animales, que podrían ser un factor de riesgo potencial por contacto directo o indirecto. La eficiencia de remoción que nos brinda una tecnología es evaluada comparando las concentraciones de los contaminantes antes y después del tratamiento (Levine y Asano, 2004).

De acuerdo con Noguez-Lugo (2012), la presencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal en el efluente de la PTAR fue, para bacterias seis unidades logarítmicas, en relación con los resultados obtenidos en el presente trabajo, no se detectaron bacterias coliformes y enterococos fecales en el efluente de la PTAR, sin embargo estreptococos fecales fueron detectados. Es importante

destacar que estos últimos a pesar de ser considerados como indicadores de contaminación fecal, pueden proceder de otros hábitats (Ashbolt *et al.*, 2001).

La detección de bacterias fecales en el sistema de almacenamiento después de haber salido del proceso de depuración, nos indica, de acuerdo con Ashbolt *et al* (2001), una fuente potencial de contaminación fecal reciente, por lo que con los resultados obtenidos podemos decir que el tratamiento dentro de la planta está funcionando, sin embargo, el manejo del agua residual, está cambiando las condiciones del permeado.

Por otra parte, las carencias en infraestructura hidráulica que presentan las cisternas, pudieron haber creado un ambiente propicio para formar biofilms. Gauthier *et al* (2000) y Byrd JJ y Colwell (1993), mencionan la capacidad que tienen las bacterias de permanecer en biofilms. Gauthier *et al* (2000) concluye que para analizar sistemas particulares de tratamiento, la determinación de coliformes y enterococos fecales es inútil y no tiene relación con la contaminación fecal real, dado que, los biofilms establecidos en las tuberías, tanques y maquinaria, donde las condiciones de pH y temperatura sean idóneas, pueden ser la fuente de estas bacterias. Además *E. coli* tiene un fuerte potencial de sobrevivir un largo tiempo en condiciones de inanición (Byrd JJ y Colwell, 1993).

Sin embargo, no se puede asegurar la existencia de biopelículas bacterianas dentro de las tuberías, por lo que, la investigación de las películas microbianas que se forman en la superficie del material de las tuberías y que pueden representar una oportunidad para una transferencia genética horizontal tanto dentro de una especie como entre varias, es indispensable para complementar este estudio. A pesar de todo, no debemos desacreditar a las bacterias como indicadores potenciales de contaminación fecal, ya que, en el presente estudio fueron indispensables para determinar una fuente de contagio.

La remoción de partículas virales es frecuente en sistemas con biorreactor de membrana debido a que se adhieren rápidamente a los sólidos en suspensión (Marti *et al.*, 2011). El análisis de dos tipos de bacteriófagos, F-RNA específico (*E. coli* HS) y somático (*E. coli* K12), como modelos de una amplia gama de virus entéricos e indicadores de contaminación fecal estuvieron ausentes en las muestras del efluente, cisternas y aspersores, pero presentes en las muestras del influente, por lo tanto, la técnica es viable, tiene un límite de detección de 1 UFP/100mL, además, Noguez-Lugo (2012) logró detectar

hasta dos unidades logarítmicas en muestras de agua del efluente, por lo que se corrobora la capacidad de remoción de estos microorganismos con el sistema de microfiltración, sin embargo, a diferencia de las técnicas moleculares, son menos costosas y precisas.

En este estudio se implementó la técnica de PCR tiempo real para detectar genomas virales de Adenovirus Humano y determinar la capacidad de remoción de este microorganismo en el tratamiento de aguas residuales.

De acuerdo con Silva-Magaña (2013) los conteos de adenovirus detectados en muestras de agua del efluente fueron de 4.41×10^4 y 6.2×10^4 , en este estudio, No se detectó AdVH en el efluente, cisternas y aspersores. El límite de detección fue de 20 gen/ μ L., a pesar de las pruebas de inhibición realizadas.

La probabilidad de detectar genomas virales en muestras de agua depende de las tasas de excreción de individuos infectados, con respecto a los resultados (<dos unidades logarítmicas) en el agua residual se puede decir que la prevalencia de este virus es baja en Ciudad Universitaria debido a que, los individuos infectados son generalmente niños.

La remoción de partículas virales se puede atribuir a que una porción significativa de virus son removidos debido a la formación de biopelículas en la membrana, a la absorción en la biomasa (Silva *et al.*, 2007) o a la formación de incrustaciones inamovibles (Marti *et al.*, 2011).

Las directrices actuales para el tratamiento de aguas residuales han llevado a la implementación de nuevas tecnologías para asegurar la calidad de los efluentes en el agua de reuso. Al mismo tiempo que un biorreactor de membrana tiene una capacidad de remoción de partículas virales, su costo de mantenimiento, operación y energía asciende a \$474,669.84, por lo que el costo por metro cúbico de agua residual tratada es de \$33.24 (Merari, 2007). Por lo anterior es necesario garantizar la calidad del agua tratada hasta el reuso, por lo que un monitoreo eficiente y continuo en cisternas de almacenamiento y aspersores es imprescindible para evitar un mayor riesgo potencial de contaminación y exposición de agentes patógenos a la comunidad universitaria, reflejado en una pérdida económica para la planta de tratamiento de aguas residuales.

10. CONCLUSIONES.

- La planta de tratamiento de aguas residuales ubicada en Cerro del Agua, Ciudad Universitaria, tiene una capacidad de remoción de microorganismos que supera la NOM003, por lo que, la implementación de un sistema de microfiltración empleando un biorreactor de membrana es eficiente.
- La detección de bacterias fecales como indicadores de contaminación fecal en los sistemas de almacenamiento y reutilización en riego, del agua residual tratada nos demostró que existe una diferencia significativa con respecto a la calidad del efluente, siendo afectados por múltiples variables, por lo que, el buen manejo del agua tratada, es indispensable para mantener la calidad hasta su reuso.
- La detección de un patógeno, en este caso, AdvH, aunado a la implementación de técnicas moleculares, así como, la detección de un modelo de virus entéricos (bacteriófagos), con metodologías menos costosas, permitieron establecer la eficiencia del proceso de microfiltración, por lo tanto estas técnicas son viables, además sirven de base para la toma de decisiones, conforme a los resultados obtenidos.

11. RECOMENDACIONES.

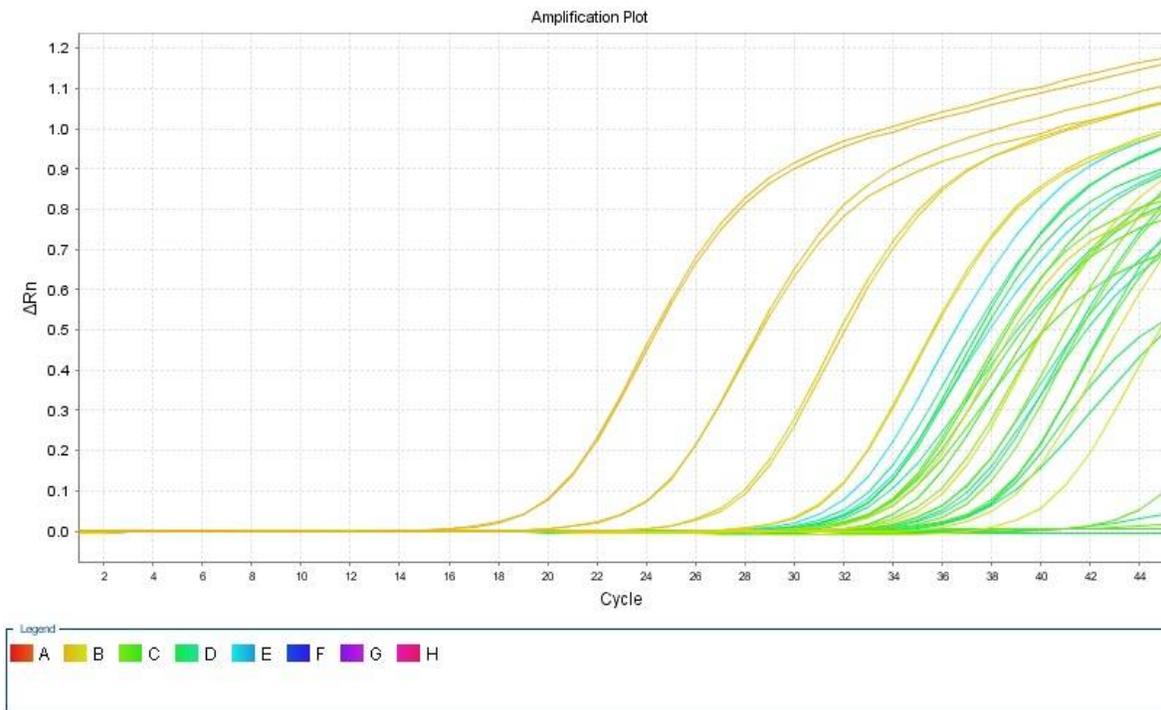
Para poder tener un mejor manejo del agua residual tratada que se almacena en cisternas, es necesario ajustar las condiciones de recuperación de efluentes con respecto a la NOM 230 SSA1 2002. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo. Aunque esta norma se utiliza como base en sistemas de agua potable, es importante considerar algunas recomendaciones sanitarias para mantener la calidad óptima el efluente producido. Algunas recomendaciones importantes son:

- Mantener las cisternas resguardadas con malla de alambre para impedir el paso de animales o personas ajenas al manejo.
- Colocar ductos de ventilación en forma de U de tal manera que la entrada y salida del aire apunte hacia el suelo.

- Debe contar con válvulas o dispositivos de salida con cierre hermético que permita el vaciado completo de la cisterna.
- La red hidráulica que conecta al efluente con las diferentes cisternas y hasta los aspersores como destino final, no deben presentar fugas ni puntos ciegos, además de que el material de dichas estructuras debe ser reemplazado cuando rebase su vida útil.
- Impermeabilizar las cisternas y lavarlas frecuentemente para evitar la formación de biopelículas.
- Las acciones de limpieza y mantenimiento deben llevar un registro.
- El almacenamiento del agua no debe prolongarse durante más de una semana.

ANEXO

Anexo 1. Amplificación de Adenovirus humano (serotipos 40 y 41) en muestras de agua residual. ΔRN es la intensidad de la emisión de la fluorescencia del reportero dividida entre la intensidad de la emisión de la fluorescencia de la referencia pasiva y CT es el número de ciclo en el cual la fluorescencia alcanza el threshold fijado.



REFERENCIAS

- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation (APHA). 2005. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. United Book Press. Washington, D. C. 9-60 9-63.
- Ashbolt N., Grabow W., Snozzi M. 2001. *Indicators of microbial water quality*. In Guidelines, Standards and Health: Assessment of risk and risk management for water related infectious disease. WHO. IWA publishing. London. 290-306.
- Byrd JJ y Colwell RR. 1993. *Long term survival an plasmid maintenance ok E. coli in marine microcosms*. FEMS Microbiology Ecol. 12:9-14.
- Cabral J. 2010. *Water microbiology. Bacterial pathogens and water*. International Journal of Environmental Research and Public Health. 7: 3657-3703.
- Carducci A., Morici P., Pizzi F., Battistini R., Rovini E., Verani M. 2008. *Study of the viral removal efficiency in a urban wastewater treatment plant*. Water Science and Technology. 58(4):893-897.
- Castillo-Argüero S., Montes-Cartas G., Romero-Romero M., Martínez-Orea M., Guadarrama-Chávez P., Sánchez-Gallén I., Núñez-Castillo O. 2004. *Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (D.F, México)*. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 54:51-75.
- Chavarría, Rosa Ma. 2004. *Innovador sistema para tratar aguas residuales CU*. En gaceta UNAM. México. No 3,687. 1,8.
- Comisión Nacional del Agua. 2010. *Manual para el manejo de zonas de riego con aguas residuales*. México. 3-44.
- Comisión Nacional del Agua. 2014. *Estadísticas del agua en México*. Edición 2014. CONAGUA. México. 1-164.
- Coronel, C. 2010. *Justificación del empleo de nuevos indicadores microbiológicos en relación con la calidad de las aguas*. Dirigida por Dr. Aurelio Hernández Muñoz. Tesis de Doctorado. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica
- Diario Oficial de la Federación (DOF) NOM 230 SSA1. 2002. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de

abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo. México D,F.

- Diario Oficial de la Federación (DOF).1998. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. México, D. F.
- Enriquez C., Hurst C., Gerba C. 1995. *Survival of the enteric adenoviruses 40 and 41 in tap sea, and wastewater*. Water Research. 29(11):2548-2553.
- Ford, T. 2010. *Agua y salud*. En Salud ambiental: de lo global a lo local. Organización Panamericana de la Salud. Mc G raw Hill. 494-561
- Gauthier F., Neufeld J.D., Driscoll B.T., Archibald F.S. 2000. *Coliform bacteria and nitrogen fixation in pulp and mill effluent treatment systems*. Applied Environmental Microbiology. 66:5155-5160.
- Gerba C. P_a. 2009. *Environmentally Transmitted Pathogens*. In Maier R., Pepper I., Gerba C. P. 2009. Environmental microbiology. 2a ed. Academic Press. 445-484.
- Gerba C. P_b. 2009. *Indicator Microorganisms*. In Maier R., Pepper I., Gerba C. P. 2009. Environmental microbiology. 2a ed. Academic Press. 485-499.
- Gerba C. P_c. 2009. *Wastewater Treatment and Biosolids Reuse*. In Maier R., Pepper I., Gerba C. P. 2009. Environmental microbiology. 2a ed. Academic Press. 499-530.
- Gómez, T. 2012. *Microbiota asociada a un taponamiento de un biorreactor anaerobio de membrana sumergida*. Dirigida por Dr. Adalberto Noyola Flores. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ingeniería.
- Hair, J., Anderson, R., Tatham, R. y Black, W. (1999). *Análisis Multivariante*. España. Prentice Hall. 4^a ed.
- Heijnenet L., Brouwer A y Veenendaal H.2009. *Concentration method using Hemoflow ultrafiltration*. TECHNEAU. 3.2.11: 2-11.
- Helios. 2014. *El agua en las ciudades inteligentes*. H₂O Gestión del agua. CONAGUA. 4: 4-10.
- Hernández R. 2014. *Favorecer el ciclo hidrológico en el siglo XXI*. H₂O Gestión del agua. CONAGUA. 4: 26-38.

- ISO 10705-1:1995. *Detection and enumeration of bacteriophages*. Part 1: Enumeration of F-specific RNA bacteriophages. Geneva Switzerland. International Organization for Standardization.
- Jiang S., Noble R., Chu W. 2001. *Human Adenoviruses and coliphages in urban runoff-impacted coastal waters of southern California*. Applied and Environmental Microbiology. 67(1): 179-184.
- Katayama H., Haramoto E., Oguma K., Yamashita H., Tajima A., Nakajima H. 2008. *One-year monthly quantitative survey of noroviruses, enteroviruses and adenoviruses in wastewater collected from six plants in Japan*. Water Research. 42:1441-1448.
- Lee S., Kim S. 2002. *Detection of infectious enteroviruses and adenoviruses in tap water in urban areas in Korea*. Water Research. 36(1):248-256.
- Lee S., Kim S. 2008. *Molecular detection of enteric viruses in urban rivers in Korea*. Journal of Microbiology and Biotechnology. 18(6):1156-1163.
- Levine A y Asano T. 2004. *Recovering sustainable water from wastewater*. Environmental Science and Technology. June1: 201 A-208A.
- Liden K., Thurson J., Schaefer R., Malley J. 2007. *Enhance UV inactivation of adenoviruses under polychromatic UV lamps*. Applied and Environmental Microbiology. 73(23):7571-7574.
- Luther K., Fujioka R. 2004. *Usefulness of monitoring tropical streams for male-specific RNA coliphages*. Journal of water and health. 02.3: 171-181.
- Madigan M., John M. y Jack P. 2004. Brock. *Biología de los microorganismos*. Décima Edición. Edit. Pearson Education. Madrid. 927-939.
- Marti E., Monclús H., Jofre J., Rodriguez-Roda I., Comas J., Balcazar J. 2011. *Removal of microbial indicators from municipal wastewater by a membrane bioreactor (MBR)*. BioresourceTechnology. 102: 5004-5009.
- Mena K., Gerba C. 2008. *Waterborne adenoviruses*. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 198:103-167.
- Merari, D. 2007. *Tratamiento de agua residual municipal mediante un biorreactor anaerobio de membrana a escala piloto*. Dirigida por Dr. Adalberto Noyola Flores. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ingeniería.

- Mesquita, M y Emelko, M. 2012. Bacteriophages as surrogates for the fate and transport of pathogens in source water and drinking water treatment process. In Kurtboke, I (Ed.). 2012. Bacteriophages. ISBN: 978-953-51-0272-4, InTech
- Monclús, H., Sipma, J., Ferrero, G., Rodriguez-Roda, I., Comas, J. 2010. Biological nutrient removal in an MBR treating municipal wastewater with special focus on biological phosphorus removal. *Bioresource. Technology.* 101, 3984–3991.
- Murray R., Baron J., Faller A., Tenover C. y Yolken H. (eds). 1995. *Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology.* Washington, D. C.
- Nazar A., Zapata E., Ramírez V. 2010. *Género y agua. Estrategias para alcanzar la sustentabilidad con equidad.* En *El agua en México: Causes y Encauses.* Academia Mexicana de Ciencias. 383-410.
- Noguez-Lugo, J. 2012. *Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* como indicadores de la calidad del agua en Ciudad Universitaria.* Dirigida por Dra. Marisa Mazari Hiriart. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias.
- Pelaéz D., Rodríguez J.A., Rocha E.L. y Rey G.J. 2010. *Estandarización de un método de concentración y detección de virus entéricos en aguas de consumo.* *Biomédica.* 30:276-82.
- Pérez-Parra J. 2003. Depuración y reutilización de las aguas residuales para riego. Curso superior de especialización. Mejora en la eficiencia en el uso del agua en cultivos. Estación Experimental de Cajamar "Las Palmerillas". 447-469.
- Polaczyk L., Narayanan J., Cromeans L., Hahn D., Roberts M., Amburgey E., y Hill R. 2008. *Ultrafiltration-based techniques for rapid and simultaneous concentration of multiple microbe classes from 100-L tap water samples.* *Journal of Microbiological Methods* 73: 92-99.
- Restrepo, I. 2007. "Sin una solución global al problema del agua". La jornada. México D.F.
- Reynolds K. 2004. *Adenovirus: Balancing Water Treatment Challenges.* *Water conditioning and purification.* 52:42-43.
- Rocha, J. 2010. *Diagnóstico y sectorización del sistema de agua potable de Ciudad Universitaria de la UNAM. PUMAGUA.* Dirigida por Dr. Fernando J. González Villarreal. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de ingeniería.
- Schijven J.F., Hassanizadeh M.S., Dowd S.E. y Pillai S.D. 2000. *Modeling Virus.*

- Silva A., Le Saux J., Parmadeau S., Pommepuy M., Elimelech M., Le Guyader M. 2007. *Evaluation of removal of noroviruses during wastewater treatment using real time reverse transcription PCR: Different behaviors of genogroups I and II*. Applied Environmental Microbiology. 73:7891-7897.
- Silva H., Wosnjuk L., Santos S., Vilanova-Costa C., Pereira F., Silveira-Lacerda E. 2010. *Molecular detection of adenoviruses in lakes and rivers of Goiania Goiás, Brazil*. Food and Environmental Microbiology. 2(1):35-40.
- Silva, M. 2013. *Uso de indicadores virales para la evaluación de la calidad e agua potable y de reuso en Ciudad Universitaria, México*. Dirigida por Dra. Ana Cecilia Espinosa García. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias.
- Strauss J., Straus E.G. 2008. *Viruses and human disease*. 2a Ed. Academic Press. 295-300. Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos.
- Szewzyk U., Szewzyk R., Manz W., Schleifer H. 2000. *Microbiological safety drinking water*. Annu Rev. Microbiol. 54:81-127.
- USEPA-A, Method 1602: *Male-specific (F+) and Somatic Coliphages in Water by Single Agar Layer (SAL) Procedure Office of Water*. USEPA, Washington, D.C., EPA 821-R-01-030, 2001.
- Valencia-Vargas J., Díaz-Nigenda J., Vargas-Martínez L. 2005. *La gestión integrada de los recursos hídricos en México: Un nuevo paradigma en el manejo del agua*. En Gestión y política de Cuencas. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. México. 217-258.
- WHO, 2004. *Guías para la calidad del agua potable*. Vol 1. 3ª Edición. Ginebra. 3-96.
- World Health Organization. 2011. *Guidelines for drinking water quality*. 4th ed. WHO, Press Geneva, Switzerland. 49-93.
- Xagorarakis I., Kuo D.H., Wong K., Wong M. y Rose J.B. 2007. *Ocurrence of human adenoviruses at two recreational beaches of the Great Lakes*. Applied and Environmental Microbiology. 73: 7874-7881.