

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**"ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA DE POZOS,
RESIDUAL, TRATADA Y DE RIEGO UTILIZADA
EN CIUDAD UNIVERSITARIA"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

MARÍA ISABEL SANTOS MÁRQUEZ



México, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: ROSA MARÍA RAMÍREZ GAMA

VOCAL: Profesor: MARÍA DEL CARMEN CORTES DECUIR

SECRETARIO: Profesor: MARÍA NEFTALÍ ROJAS VALENCIA

1er. SUPLENTE: Profesor: MARÍA DEL CARMEN URZÚA HERNÁNDEZ

2° SUPLENTE: Profesor: MÓNICA BERENICE HERAS CHAVARRÍA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: COORDINACIÓN DE INGENIERÍA
AMBIENTAL DEL INSTITUTO DE INGENIERÍA UNAM

ASESOR DEL TEMA: DRA. MARÍA NEFTALÍ ROJAS VALENCIA

(nombre y firma)

SUSTENTANTE (S): MARÍA ISABEL SANTOS MÁRQUEZ

(nombre (s) y firma (s))



CONTENIDO	Página
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE TABLAS	VI
ABREVIATURAS	VII
1. JUSTIFICACIÓN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. HIPÓTESIS	3
4. OBJETIVO GENERAL	3
4.1 Objetivos particulares	3
5. MARCO TEÓRICO	4
5.1 Clasificación de los seres vivos	4
5.1.1 Vías de entrada	4
5.2 Potabilización del agua	5
5.2.1 Indicadores de contaminación	5
5.2.1.1 Coliformes fecales	6
5.2.1.2 Huevos de helminto	7
5.3 Métodos de identificación de microorganismos	8
5.3.1 Sistema BBL crystal E/NF ID	8
5.4 Aguas residuales	10
5.4.1 Tratamiento de las aguas residuales	11
5.4.2 Uso de aguas residuales	11
5.4.3 Aspectos sanitarios	11
5.5 Normatividad en materia de aguas residuales en México	12
6. METODOLOGÍA	13
6.1 Puntos de muestreo en Ciudad Universitaria	13
6.2 Toma de muestra de agua de pozos y de agua de tanques de almacenamiento	14
6.3 Toma de muestra de las planta de tratamiento de Ciudad Universitaria	14
6.4 Toma de muestra del agua residual tratada reusada para riego de jardines en las zonas de las “Islas”, “Pumitas” y “Bigotes” metro Universidad.	14
6.5 Análisis microbiológico de agua en el laboratorio	15
6.6 Preparación de muestra para analisis microbiológico de pasto	17
6.6.1 Metodología	17
6.7 Análisis microbiológico de pasto.	18
6.8 Aislamiento de colonias e identificación de microorganismos patógenos	18
6.9 Determinación de huevos de helminto en agua residual, agua residual tratada y agua residual tratada utilizada para riego	19
6.10 Determinación de huevos de helminto en pastos	21



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
7.1 Temporada fría-seca (Febrero y Marzo 2009).....	22
7.1.1 Resultados del análisis microbiológico del agua	22
7.2 Temporada cálida-seca (Abril y Mayo 2009)	25
7.2.1 Resultados del análisis microbiológico del agua	25
7.2.2 Resultados del analisis microbiológico de pastos	27
7.3 Temporada cálida-lluviosa.....	29
7.3.1 Resultados del análisis microbiológico del agua	29
7.3.2 Resultados del análisis microbiológico de pastos	30
7.4 Identificación de microorganismos	31
7.5 Determinación de huevos de helminto en muestras de agua y pastos.....	34
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
9. BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXO A	40
ANEXO B	49



NÚMERO	FIGURA	PÁGINA
1	Esquema de diluciones.	15
2	Resultados de los parámetros microbiológicos detectados en medio selectivo del agua de pozos de la temporada Fría-seca.	22
3	Resultados de los parámetros microbiológicos del agua residual y agua tratada de la temporada fría-seca.	23
4	Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de riego de la temporada fría-seca.	24
5	Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de pozos de la temporada cálida-seca.	25
6	Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de residual y agua tratada de la temporada cálida-seca.	26
7	Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de riego de la temporada cálida-seca.	27
8	Resultados del análisis microbiológico del pasto y pasto con raíz de "Pumitas" en la temporada cálida-seca.	28
9	Resultados del análisis microbiológico del pasto y pasto con raíz de "Bigotes" en la temporada cálida seca.	28
10	Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de pozos en la temporada cálida-lluviosa.	29



LISTA DE TABLAS

NÚMERO	TABLA	PÁGINA
1	Límites permisibles de características bacteriológicas en agua para uso y consumo humano.	5
2	Características definitorias de las bacterias entéricas	6
3	Sustratos y principio empleados en el sistema BBL Crystal E/NF ID.	9
4	Medios de cultivo y microorganismos que se desarrollan.	16
5	Control de actividad de microorganismos.	19
6	Resultados microbiológicos del agua de los tanques de almacenamiento durante la temporada cálida-lluviosa	30
7	Resultados del análisis microbiológico de pastos y pasto con raíz en la temporada cálida-lluviosa.	31
8	Microorganismos identificados mediante la base de datos del sistema BBL	31
9	Microorganismos identificados en los medios de cultivo	32
10	Microorganismos que representan un riesgo a la salud	33
11	Presencia o ausencia de huevos de helminto	34



ABREVIATURAS

°C = Grados centígrados

CF = Coliformes fecales

CU = Ciudad Universitaria

CT = Coliformes totales

h = Horas

H/L = Huevos por litro

I = Incontable

L/s = Litros por segundo

mg/L = miligramos por litro

MSA = Agar salado manitol

MC = Agar de Mac Conkey

ND = No detectado

PTAR = Planta de tratamiento de aguas residuales

PTARCU = Planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria

ADS = Agar Dextrosa Sabouraud

SS = Agar Salmonella y Shigella

TSA = Agar soya tripticaseína

UFC = Unidades formadoras de colonias

UNAM = Universidad Nacional Autónoma de México

VB = Agar Verde Brillante



1. JUSTIFICACIÓN

Actualmente en el campus Universitario se utiliza agua residual tratada para el riego de áreas verdes destinadas para recreación específicamente en las llamadas “Islas”, “Pumitas” y “Bigotes” el cual se hace por aspersión; al momento de riego se percibe un olor desagradable lo que ha causado quejas y desconfianza por parte de la comunidad, por lo que es necesario determinar si esta agua utilizada cumple con la calidad microbiológica establecida por la normatividad mexicana en materia de protección a la salud pública con el fin de evitar un riesgo sanitario, desde el momento de extraer el agua de los pozos, cuando es clorada para su potabilización, como llega a la planta de tratamiento (influyente) y como sale (efluente) para poder ser reutilizada para riego.



2. INTRODUCCIÓN

Las actividades cotidianas en Ciudad Universitaria, sus laboratorios, aulas, espacios de consulta, de esparcimiento, instalaciones deportivas y áreas verdes requieren de una gran cantidad de agua.

Existen tres pozos de extracción ubicados dentro de ciudad universitaria uno de ellos es el pozo de la facultad de Química, otro es el pozo del Multifamiliar, y el último pozo es el del Vivero Alto, juntos satisfacen la demanda de la extensa utilización de este recurso.

Por otro lado, solo una parte del agua residual generada en el campus universitario es tratada en las 29 plantas de tratamiento de agua residual existentes. La más grande es la planta de tratamiento del Cerro del Agua, seguida por la planta de la Facultad de Ciencias Políticas, posteriormente la planta del edificio 12 del Instituto de Ingeniería, por último hay 26 miniplantas tipo BRAIN.

El agua tratada obtenida de las plantas de tratamiento (agua residual tratada) se reutiliza para el riego de áreas verdes de Ciudad Universitaria. La necesidad de evaluar la calidad microbiológica de esta agua se justifica principalmente por las quejas realizadas por el mal olor y color al momento de riego.

Con base en lo anterior se procedió a determinar si el agua se encuentra dentro de los límites máximos permisibles y estén libres de contaminantes patógenos y parasitarios de acuerdo a los lineamientos establecidos por las Normas Oficiales Mexicanas, en materia de protección a la salud pública con el fin de evitar la contaminación del medio ambiente.



3. HIPÓTESIS

Si el agua extraída de los pozos y agua residual tratada utilizada para riego de áreas verdes en Ciudad Universitaria cumple con la calidad microbiológica que establece la normatividad mexicana, se evitarán problemas de contaminación del medio ambiente así como de la salud de la comunidad Universitaria.

4. OBJETIVO GENERAL

En base a la problemática observada el objetivo de este trabajo fue determinar la calidad microbiológica del agua subterránea (pozos de CU) y agua potable (tanque bajo, tanque alto y tanque de vivero alto), agua residual (influyente de la PTARCU) y agua residual tratada (efluente de la PTARCU).

4.1 Objetivos particulares

1. Evaluar la calidad del agua de pozo y agua potable de acuerdo a lo especificado con la NMX-AA-102-SCFI-2006 calidad del agua – detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* presuntiva – método de filtración en membrana; en lo que refiere a los coliformes fecales.
2. Evaluar si el efluente de la planta de tratamiento de agua residual de Ciudad Universitaria PTARCU cumple con lo especificado en la NOM-003-ECOL-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público; en lo que se refiere a los coliformes fecales.
3. Definir si existe algún patógeno en el agua residual tratada, así como en pastos, cuando se lleva a cabo el riego por aspersión en “Las Islas” en Rectoría, “Pumitas” y “Bigotes” en metro Universidad.
4. Identificar la presencia o ausencia de huevos de helminto en las muestras de agua y pastos, de acuerdo a las especificaciones de la NMX-AA-113-SCFI-1999.



5. MARCO TEÓRICO

5.1 Clasificación de los seres vivos

La clasificación de los seres vivos se basa en una determinación de tipo “evolutiva”, estos se clasifican en los siguientes reinos: *Animalia*, *Plantae*, *Monera*, *Fungi* y *Protista*. En la naturaleza los microorganismos tienen una estrecha relación con el hombre, algunas veces estos pueden ser patógenos, entre ellos están los virus que son parásitos obligados y además de infectar al hombre tienen la capacidad de infectar bacterias, animales, etc. Las bacterias son organismos unicelulares y estructuralmente tienen elementos como la cápsula, pared celular, membrana citoplasmática y material nuclear. Otros agentes patógenos de importancia médica son los hongos que pertenecen al Reino Fungi. Los protozoos tienen diferentes tamaños y formas pero entre sí comparten características como el núcleo, vacuolas digestivas, mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplásmico; estructuras que se encuentran dentro del citoplasma de la célula. Los helmintos que son también llamados “gusanos o vermes” son invertebrados, la mayoría de ellos en fase adulta se pueden ver a simple vista aunque su tamaño es variable desde milímetros hasta metros de longitud. Su ciclo de vida se inicia con los huevos que se transforman en larvas microscópicas. Hay helmintos planos y redondos, Platelmintos y Nematelmintos, respectivamente (Romero, 1993).

5.1.1 Vías de entrada

Para que la presencia de estas partículas biológicas, que se encuentran en suspensión en el ambiente, pueda suponer un riesgo para el hombre, además de la propia patogenicidad del microorganismo, es necesario que este encuentre una vía de entrada al cuerpo y que se desarrolle una respuesta inmunológica, que dependerá de cada individuo (Constans *et al.*, 1998).

Estos microorganismos pueden penetrar por diferentes vías en el organismo humano:

- Oral (ingestión)



- Respiratoria (inhalación)
- Ocular (a través de la conjuntiva)
- Dérmica (a través de lesiones en la piel)

De todas ellas la vía respiratoria presenta la mayor probabilidad de entrada al cuerpo. Las dosis infectivas para el hombre varían con: el agente biológico, la vía de entrada y la resistencia del huésped, es decir, el grado de integridad de sus sistemas defensivos.

5.2 Potabilización del agua

El abastecimiento de agua para uso y consumo humano con calidad adecuada es fundamental para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades gastrointestinales, por lo tanto la potabilización del agua es la principal medida de salud pública, la cual comprende tratamientos físicos y químicos. Para valorar la calidad microbiológica del agua se utilizan métodos perfectamente estandarizados. El contenido de microorganismos resultante del examen de una muestra de agua, debe ajustarse a lo establecido en la tabla 1.

Tabla 1. Límites permisibles de características bacteriológicas en agua para uso y consumo humano.

Microorganismos	Límite permisible
Coliformes totales	2 UFC/100 ml
Coliformes fecales	Cero UFC/100 ml

Los resultados de los exámenes bacteriológicos se deben reportar en UFC/100 ml (unidades formadoras de colonias por 100 ml), al utilizar la técnica de filtración por membrana.

5.2.1 Indicadores de contaminación

La presencia de unos pocos microorganismos no patógenos en el agua es tolerable, en tanto que la presencia de organismos indicadores generalmente asociados al tracto gastrointestinal no es tolerable debido a que indican



contaminación fecal además de que esa agua puede estar contaminada con patógenos (Madigan *et. al*, 2004).

5.2.1.1 Coliformes fecales

Los coliformes fecales incluyen *Escherichia coli*, son miembros de la familia Enterobacteriaceae, en la tabla 2 se observan las características definitorias de las bacterias de esta familia. Estas bacterias constituyen aproximadamente el 10% de los microorganismos intestinales de los seres humanos y otros animales, y se utilizan ampliamente como organismos indicadores. Pierden viabilidad en agua dulce a una velocidad inferior a la de la mayoría de las bacterias patógenas. Cuando esta bacteria indicadora no se detecta en un volumen específico (100mL) de agua, esta se considera potable [del Latín *potabilis*, adecuada para beber] o adecuada para el consumo humano (Prescott *et al.*, 2000).

Tabla 2. Características definitorias de las bacterias entéricas

Características generales	Pruebas clave para distinguir las bacterias entéricas de otras semejantes morfológicamente:
Bacilos rectos Gram negativos; móviles por flagelos peritricos o inmóviles; no esporulados; anaerobios facultativos, producen Acido de glucosa; el sodio no es requerido para crecimiento; lactosa positivo, catalasa positivo y oxidasa negativo y normalmente reducen nitrato a nitrito (nunca a N ₂); 16S rRNA pertenecen a las gamma Proteobacteria.	Prueba de la oxidasa, ya que en las entéricas es siempre negativa. Separa las enterobacterias de bacterias oxidasa positiva de los géneros <i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Cardiobacterium</i> , que tienen morfología similar. Reducción de nitrato a nitrito (detección de nitrito después del cultivo), esta prueba distingue las bacterias entéricas de otras que reducen el nitrato hasta N ₂ (formación de gas) como es el caso de <i>Pseudomonas</i> ; la capacidad de fermentar la lactosa y glucosa distingue las bacterias entéricas de las bacterias aerobias estrictas.

Adaptado de Madigan, 2004



Dentro de este grupo de estudio, las especies de mayor relevancia son: *Escherichia coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* y *Citrobacter freundii*, Clasificadas como fermentadoras de lactosa y *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, consideradas como no fermentadoras de lactosa.

Exceptuando los géneros *Salmonella* y *Shigella*, las especies señaladas son integrantes regulares de la flora intestinal lo cual establece su notable distribución en aire, suelo y agua, principalmente en las zonas geográficas en donde se practica el fecalismo al aire libre.

En cuanto a las enfermedades que ocasionan al ser humano, es oportuno tomar en cuenta que estos microorganismos destacan entre los principales agentes causales de septicemia e infecciones urinarias (exceptuando el género *Shigella*).

Adicionalmente, *E. coli* origina diarrea (enteritis epidémica) con elevados índices de mortalidad entre la población infantil, así como meningitis y algunos casos de neumonía; *K. pneumoniae* provoca neumonías hemorrágicas muy graves en pacientes inmunocomprometidos; *Salmonella* provoca cuadros de gastroenteritis, y fiebres entericas (tifoidea y paratifoidea); *Shigella* es el agente etiológico de la disentería bacilar; *Proteus* produce oftalmías y otitis medias con serias consecuencias meníngeas; y *P. aeruginosa* se relaciona con la fibrosis quística, con la ulceración de la córnea e infecciones en meninges y pulmones.

5.2.1.2 Huevos de helminto

Los helmintos representan un elevado riesgo a la salud humana debido a que sus diversos estadios infecciosos (huevos embrionados o larvas) son altamente persistentes en el agua contaminada. Así, el agua constituye un vehículo directo o indirecto de diseminación de helmintos, aun cuando se encuentren en bajas concentraciones, dando lugar a enfermedades gastrointestinales, sobre todo cuando ésta se emplea para el riego de cultivos.



5.3 Métodos de identificación de microorganismos

5.3.1 Sistema BBL Crystal E/NF ID

El sistema de identificación BBL Crystal (ID) de bacterias entéricas/no fermentadoras (E/NF) sirve para diferenciar bacterias aerobias Gram negativas de la familia *Enterobacteriaceae* de los bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores de glucosa aislados con más frecuencia.

El sistema BBL es un método miniaturizado de identificación. Muchos de los análisis utilizados son modificaciones de los métodos clásicos. Estos incluyen test para la fermentación, oxidación, degradación e hidrólisis de diversos sustratos. Además contienen sustratos unidos a un cromógeno para detectar las enzimas que utilizan los microbios para metabolizar distintos sustratos.

Los análisis utilizados en el sistema BBL Crystal E/NF ID están basados en la utilización y degradación de sustratos específicos por parte de los microorganismos. Las reacciones de fermentación detectan la capacidad de un organismo para metabolizar los carbohidratos en ausencia de oxígeno atmosférico y las reacciones de oxidación están basadas en la capacidad de un organismo para metabolizar el sustrato siendo el oxígeno el aceptor final de electrones. Ambas reacciones se detectan normalmente mediante el uso de un indicador de pH en el sustrato del análisis.

Los sustratos cromógenos al ser hidrolizados producen cambios de color que son detectados visualmente, además, existen otros análisis que detectan la capacidad de un organismo de hidrolizar, degradar, reducir o utilizar de otro modo un sustrato en el sistema BBL crystal ID. En la tabla 3 se puede observar los diferentes sustratos, los cambios de color que producen y los principios empleados para las reacciones mencionadas.

**Tabla 3.** Sustratos y principios empleados en el sistema BBL Crystal E/NF ID.

Ingrediente activo	Positivo	Negativo	Principio	
Arabinosa	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	La utilización de carbohidratos produce un descenso de pH y un cambio del indicador (rojo fenol).	
Manosa	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
Sacarosa	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
Melibiosa	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
Ramnosa	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
Sorbitol	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
Manitol	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
Adonitol	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
Inositol	Dorado/amarillo	Naranja/rojo		
p-n-p fostato	Amarillo	Incoloro		La hidrólisis enzimática del glucósido incoloro aril sustituido o ester de fosfato libera p-nitrofenol amarillo.
p-n-p a-b- glucósido	Amarillo	Incoloro		
p-n-p-b- galactosido	Amarillo	Incoloro		
Prolina nitroanilida	Amarillo	Incoloro	La hidrólisis enzimática del sustrato amida incoloro libera p-nitroanilina de color amarillo.	
p-n-p bis-fosfato	Amarillo	Incoloro	La hidrólisis enzimática del glucósido incoloro aril sustituido o éster de fosfato libera p-nitrofenol amarillo.	
p-n-p-xilósido	Amarillo	Incoloro		
p-n-p-a- arabinósido	Amarillo	Incoloro		
p-n-p-fosforilcolina	Amarillo	Incoloro		
p-n-p-β- glucorónido	Amarillo	Incoloro		
p-n-p-N-acetil glucosamidina	Amarillo	Incoloro		
γ-L- glutamil p-	Amarillo	Incoloro	La hidrólisis del sustrato amida incoloro libera p-	



nitroanilida			nitroanilina de color amarillo.
Esculina	Pardo/marron	Transparente/paja	La hidrólisis de esculina produce un precipitado negro en presencia de iones férricos.
p-nitro-DL-fenilalanina	Dorado/naranja	Amarillo	La desaminación oxidativa de la fenilalanina produce un color pardo en presencia de iones férricos.
Urea	Turqueza/azul	Amarillo/verde	La hidrólisis de la urea y el amonio resultante cambia de color el indicador de pH (azul de bromotimol).
Glicina	Turqueza/azul	Amarillo/verde	La degradación de la glicina libera metabolitos alcalinos que cambian el color del indicador de pH (azul de bromotimol).
Citrato	Turqueza/azul	Amarillo/verde	La degradación de citrato libera metabolitos alcalinos que cambian el color del indicador de pH (azul de bromotimol).
Ácido malónico	Turqueza/azul	Amarillo/verde	La degradación del malonato libera metabolitos alcalinos que cambian el color del indicador de pH (azul de bromotimol).
Cloruro de trifetil tetrazoilo	Rosa/rojo	Transparente	La reducción del compuesto de tetrazoilo produce la formación de un formazán rojo.
Arginina	Rojo/púrpura	Amarillo/pardo	El catabolismo anaerobio produce una elevación de pH y un cambio en el color del indicador (púrpura bromocresol).
Lisina	Rojo/púrpura	Amarillo/pardo	

5.4 Aguas residuales

Toda comunidad genera residuos líquidos y sólidos. La parte líquida o agua residual, procede principalmente del agua suministrada a la población después de haber sido utilizada. Desde el punto de vista de su generación, las aguas residuales se definen como aguas portadoras de residuos, procedentes de residencias, de instituciones públicas y establecimientos comerciales e industriales, a los que pueden agregarse eventualmente aguas superficiales, subterráneas y pluviales (Metcalf y Eddy, 1996).



El agua residual está formada esencialmente por agua (99.9%), más una pequeña cantidad de sólidos (0.1%) que son orgánicos e inorgánicos, lo que se encuentran disueltos o en suspensión.

5.4.1 Tratamiento de las aguas residuales

El objetivo del tratamiento de las aguas residuales es la remoción de los contaminantes que pongan en peligro el equilibrio natural del sitio de disposición o rebasen los límites establecidos para su disposición o reúso. Esto implica estabilizar la materia orgánica biodegradable, eliminar los organismos patógenos y separar la materia en suspensión y flotante, de forma que se alcance la calidad que se requiera para su reúso o la disposición del recurso en algún cuerpo receptor (Villa, 2000).

5.4.2 Uso de aguas residuales.

La escasez cada vez mayor de las aguas dulces debido al crecimiento demográfico, a la urbanización y, probablemente, a los cambios climáticos, ha dado lugar al uso creciente de aguas residuales para la agricultura, la acuicultura, la recarga de aguas subterráneas y otras áreas (WHO, 2006).

En Ciudad Universitaria, el principal uso que se le da a los efluentes de las plantas de tratamiento es el riego de áreas verdes y la recarga de acuíferos.

5.4.3 Aspectos sanitarios

La reutilización de aguas residuales en riego implica cierto riesgo sanitario debido a los agentes biológicos que contienen. Los tratamientos de depuración reducen la concentración inicial de organismos patógenos, pero asegurar una eliminación eficaz e incluso la eliminación continua de éstos, es difícil. Por ello es necesario conocer en detalle la presencia, concentración y supervivencia en distintos medios –suelo, agua, aire – de los diferentes microorganismos.



Los principales agentes infecciosos son bacterias, virus y parásitos intestinales (protozoos y helmintos). La supervivencia de estos organismos en las aguas, suelos y aire es variable ya que depende de varios factores ambientales.

5.5 Normatividad en materia de aguas residuales en México.

En la actualidad, las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) publicadas en el Diario Oficial de la Federación regulan legalmente todo lo que respecta a aguas nacionales, tanto potables como no potables, residuales y residuales tratadas. En México, la autoridad y administración en materia de aguas nacionales corresponde al ejecutivo Federal, el cual la ejerce a través de la Comisión Nacional del Agua. Las disposiciones establecidas por la CONAGUA en materia de regulación, explotación, uso y aprovechamiento de las aguas nacionales, así como su distribución, control y preservación de su cantidad y calidad, se encuentran contenidas en la Ley de Aguas Nacionales y en su reglamento. Así mismo la CONAGUA por medio de la Ley Federal de Derechos en Materia de Agua, establece los derechos y obligaciones de los habitantes y del estado en materia de aguas de la Nación (CONAGUA, Gaceta de administración del agua, 2007). Se ha hecho una serie de normatividades en materia de aguas residuales, con la finalidad de establecer uniformidad en los límites máximos permitidos en descargas de aguas residuales y límites máximos permitidos en aguas tratadas para distintos usos. Estas normatividades están establecidas en las Normas Mexicanas (NMX) y en las Normas Oficiales Mexicanas (NOM).



6. METODOLOGÍA

6.1 Puntos de muestreo en Ciudad Universitaria

- Pozos: de Vivero Alto, del Multifamiliar y de la Facultad de Química.
- Tanques de almacenamiento: tanque alto, tanque bajo y cuatro tanques mas en el vivero alto (1, 2, 3 y 4).
- Influyente y efluente de la Planta De Tratamiento De Agua Residual De Ciudad Universitaria (PTARCU).
- Agua residual tratada reusada para riego de las “Islas”, “Pumitas” y “Bigotes”.
- Pastos de las “Islas”, “Pumitas” y “Bigotes” que son regados con agua residual tratada.

Los muestreos se llevaron a cabo durante tres temporadas del año: fría-seca (Febrero y Marzo), cálida-seca (Abril y Mayo) y calida-lluviosa (Mayo y Junio) durante el 2009.

6.2 Toma de muestra de agua de pozos y de agua de tanques de almacenamiento.

Para el muestreo de agua de los pozos se dejó correr el agua aproximadamente 3 minutos para vaciar el agua de las tuberías, cerca del orificio de salida se quito el tapón del frasco evitando su contaminación manteniéndolo hacia abajo, se procedió a tomar la muestra dejando un espacio libre aproximadamente del 10% del volumen del frasco para la agitación de la muestra previa al análisis, después se colocó el tapón, todas las muestras tomadas se colocaron en una hielera con bolsas refrigerantes o bolsas de hielo a una temperatura entre 4 y 10 °C para su transporte al laboratorio.

Para el muestreo del agua de los tanques de almacenamiento se sumergió una cubeta desinfectada con hipoclorito de sodio al 10% (NaClO) atada a un cordel limpio, la cual se enjuagó tres veces con el agua por muestrear posteriormente se



tomo la muestra a contracorriente y se distribuyo el contenido en bolsas estériles marca Nasco Whirl-Pak con capacidad de 532mL, se identificaron y se colocaron en hieleras con bolsas refrigerantes a una temperatura entre 4 y 10 °C.

Todas la muestras se transportaron al laboratorio de microbiología ambiental se introdujeron al cuarto frío cuidando que el análisis se efectuara antes de 6 h que es tiempo máximo que debe transcurrir entre la toma de muestra y su análisis.

6.3 Toma de muestra de las planta de tratamiento de Ciudad Universitaria

Todas las muestras del influente y del efluente se colectaron aproximadamente de 10:30 a 12:00 horas; para la toma de muestra del influente el recipiente muestreador con capacidad aproximada de un litro, se introdujo en el centro del colector de agua residual en una zona con flujo turbulento, se enjuago tres veces, después se tomo la muestra y se transfirió a bolsas estériles marca Nasco Whirl-Pak con capacidad de 532 mL, se identificaron y se colocaron en hieleras con bolsas refrigerantes a una temperatura entre 4 y 10 °C.

Para la toma de muestra del efluente se dejó fluir un volumen aproximadamente igual a 10 veces el volumen de la muestra y se tomó la muestra directamente en bolsas estériles marca Nasco Whirl-Pak con capacidad de 532 mL, se identificaron y se colocaron en hieleras con bolsas refrigerantes a una temperatura entre 4 y 10 °C, posteriormente se transportaron todas las muestras al laboratorio de microbiología ambiental del Instituto de Ingeniería.

6.4 Toma de muestra del agua residual tratada reusada para riego de jardines en las zonas de las “Islas”, “Pumitas” y “Bigotes” metro Universidad.

El agua se tomó agua de los aspersores en el momento del riego; con ayuda del personal de jardinería se disminuyó la presión del agua en el aspersor y se procedió a acercar la bolsa para la toma de muestra, identificación y colocación en hieleras con bolsas refrigerantes a una temperatura entre 4 y 10 °C, para su transportación e inmediato análisis.



6.5 Análisis microbiológico de agua en el laboratorio.

Para el agua de pozo antes y después de la cloración se filtraron 100 mL de agua sin realizar diluciones; para el análisis del influente como del efluente y del agua residual tratada reusada para riego se realizaron diluciones como se muestra en la figura 1.

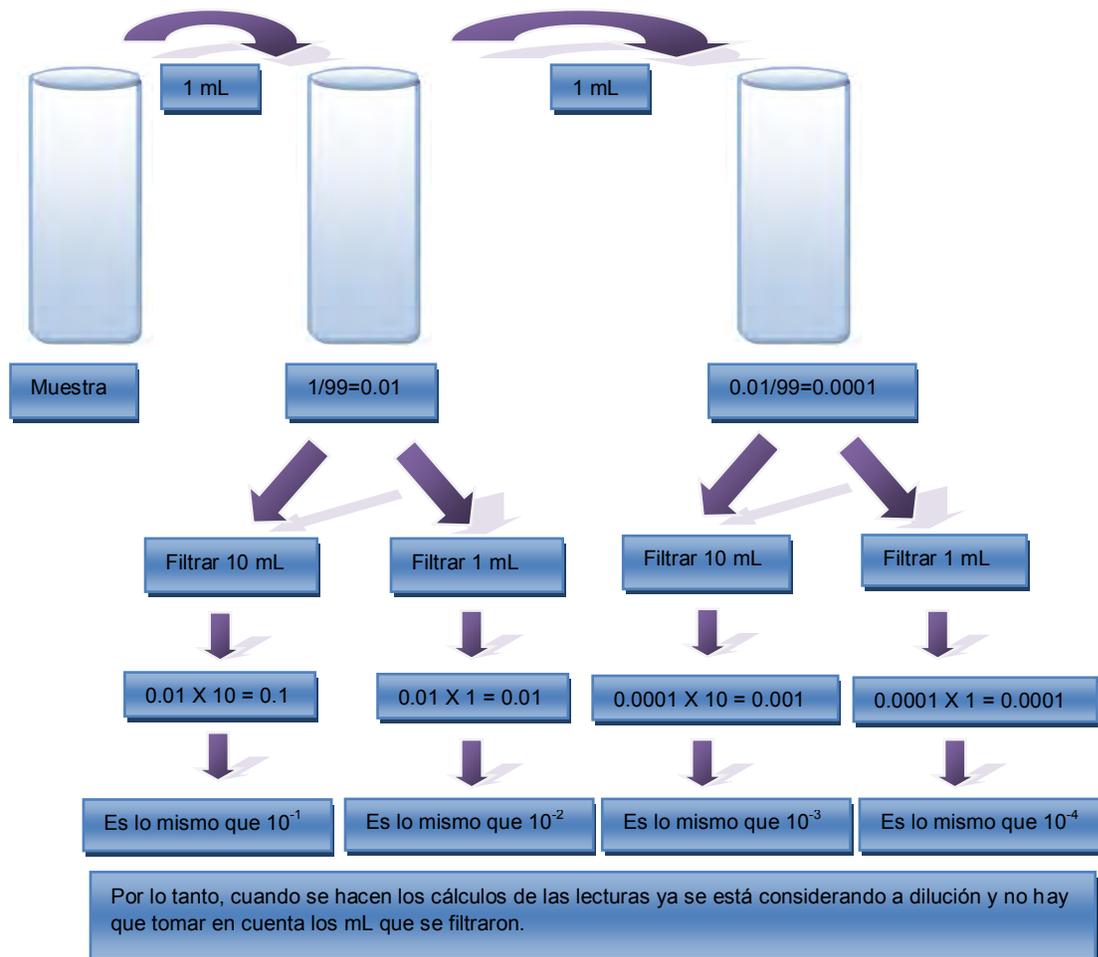


Figura 1. Esquema de diluciones.

El análisis microbiológico en el laboratorio se basó en la Norma NMX-AA-102-SCFI-2006 Calidad del agua – detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* presuntiva – método de filtración en membrana.



Se colocaron las bases del equipo de filtración en el kitasato, se colocó la membrana de aproximadamente 47 mm de diámetro con un poro de diámetro nominal de 0.45 μ con ayuda de las pinzas estériles cuidando que la cuadrícula de la membrana sea visible, después se colocó el embudo y se sujeto con pinzas. Después la muestra se agitó vigorosamente, se vertió en el embudo y se filtro con ayuda del vacío, terminada la filtración, se quitó el embudo y con ayuda de las pinzas estériles, se levantó la membrana y se colocó en la superficie del agar.

Se siguió la misma metodología que indica esta norma para la determinación de bacterias heterotróficas utilizando el medio de cultivo Agar soya tripticaseína (TSA), para enterobacterias se empleo el medio de Mc Conkey (MC), para Estafilococos el medio de manitol sal agar (MSA), para hongos y levaduras el medio de Sabouraud, para *Salmonella* y *Shigella* el medio de *Salmonella* y *Shigella* (SS) y para el aislamiento de *Salmonella* el agar verde brillante (VB). En la tabla 4 se muestran los medios empleados para el análisis microbiológico.

Tabla 4. Medios de cultivo y microorganismos que se desarrollan.

Medio de cultivo	Microorganismos probables
Agar MFC	Coliformes fecales.
Agar M Endo Les	Coliformes totales.
MC Agar de Mc Conkey	Medio recomendado para el aislamiento y diferenciación de enterobacterias como <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> y microorganismos coliformes.
MSA Agar sal manitol	Medio selectivo empleado para aislar Estafilococos.
Sabouraud	Hongos y levaduras.
SS <i>Salmonella</i> - <i>Shigella</i>	Medio selectivo y diferencial empleado para el aislamiento de <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> .
TSA Agar de soya y tripticaseina	Medio de cultivo selectivo para el aislamiento de bacterias heterotróficas.
VB Agar verde brillante	Medio de cultivo selectivo para el aislamiento de <i>Salmonella</i> .



Las cajas con el medio Agar m Endo Les, MC, ASM, SS, TSA y VB se invirtieron y se colocaron en una incubadora a una temperatura de 35-37°C por 24h, las cajas con el medio selectivo Agar MFC para coliformes fecales, se invirtieron y se colocaron en un baño de agua a 44.5°C por 24h y las cajas con medio Sabouraud se invirtieron y se colocaron en una incubadora a 28 °C durante 24 h.

Después de la incubación se contaron las colonias para obtener las UFC en cada medio.

Para determinar las UFC en cada medio utilizado, se realizaron los siguientes cálculos:

Por ejemplo si se cuentan 56 colonias y se filtraron 10mL de la dilución 10^{-5} de acuerdo al esquema de dilución (figura 1) se tiene 56×10^5 UFC/1mL de muestra, de acuerdo a la norma, pide que se reporte en UFC/100mL por lo tanto se tienen 5.6×10^8 UFC/100mL.

$$\frac{UFC}{100mL} = \frac{56 UFC}{1mL} \times 10^5 \times 100mL = 5.6 \times 10^8 UFC/100mL$$

6.6 Preparación de muestra para análisis microbiológico de pasto

Para el análisis microbiológico de los pastos se siguió el método que se describe a continuación:

6.6.1 Metodología

- Recolectar hojas y raíz de pasto por separado.
- Pesar 10 g de cada muestra.
- Licuar los 10 g de cada muestra con 90 mL de SSI estéril (corresponde a la dilución 10^{-1})
- Filtrar y utilizar el filtrado para el análisis microbiológico.



6.7 Análisis microbiológico de pasto

Se diluyó hasta el orden de 10^{-6} , y a partir de cada dilución se tomó un volumen de 0.1 ml y se extendió uniformemente sobre la superficie del agar con una asa de vidrio estéril. Este procedimiento se repitió para las cajas con el medio Agar M Endo Les, MC, ASM, SS, TSA y VB se invirtieron y se colocaron en una incubadora a una temperatura de 35 a 37°C por 24h, las cajas con el medio selectivo Agar MFC para coliformes fecales, se invirtieron y se colocaron en un baño de agua a 44.5°C por 24h y las cajas con medio Sabouraud también se invirtieron y se colocaron en una incubadora a 28 °C durante 24 h.

Después de la incubación se contaron las colonias para obtener las UFC en cada medio.

6.8 Aislamiento de colonias e identificación de microorganismos patógenos

Se seleccionaron colonias considerando la morfología descrita en la tabla 5 a partir de cada medio de cultivo y se resembró cinco veces con el fin de obtener un cultivo puro, para las primeras cuatro resiembras se utilizó el medio del cual fueron aisladas y para la última resiembra se utilizó el medio TSA, después se utilizó el sistema BBL Crystal de identificación de patógenos entéricos no fermentadores que es un sistema miniaturizado de pruebas bioquímicas.

Este kit está compuesto por tapas, bases y tubos de fluido. La tapa contiene 30 sustratos deshidratados, la base tiene 30 pocillos de reacción, el inóculo se preparó en los tubos de fluido y se utilizó para llenar los pocillos de la base, cuando se alineó la tapa con la base y se cierra, el inóculo del análisis rehidrata los sustratos secos, después se incuban y examinan los pocillos para observar cambios de color como resultado de las actividades metabólicas de los microorganismo, el patrón resultante de las 30 reacciones se convierte en un número de perfil de diez dígitos que se utiliza para la identificación utilizando la base de datos BBL Crystal E/NF ID.

**Tabla 5.** Control de actividad de microorganismos.

Medio de cultivo	Microorganismo	Crecimiento
MFC	<i>Escherichia coli</i>	Bueno, colonias azules
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Bueno, colonias crema a grises
M ENDO LES	<i>Escherichia coli</i>	Bueno, colonias rojo intenso con brillo metálico
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Bueno, colonias rojo intenso con o sin brillo metálico
	<i>Salmonella typhi</i>	Bueno, colonias translúcidas, rosa o del color del medio
MC CONKEY	<i>Escherichia coli</i>	Colonias grandes, rosa intenso con halo de precipitación
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Colonias medianas, incoloras transparentes
	<i>Proteus mirabilis</i>	Colonias grandes, incoloras opacas, inhibición total o parcial del swarming
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición parcial
MSA	<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonias con pigmento amarillo característico y halo de color amarillo (manitol positivo)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Colonias blancas, sin halo amarillo (manitol negativo)
SS	<i>Escherichia coli</i>	Marcada inhibición o colonias rosa intenso con halo de precipitación
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Colonias medianas, incoloras transparentes con centro negro
	<i>Shigella flexneri</i>	Colonias pequeñas, incoloras transparentes
	<i>Salmonella typhi</i>	Colonias pequeñas, incoloras transparentes con o sin centro negro
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Crecimiento inhibido o colonias puntiformes, rosa opacas
ADS	<i>Candida albicans</i>	Bueno
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Bueno
	<i>Trichophyton rubrum</i>	Bueno
TSA	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bueno
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Bueno
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Bueno
VB	<i>Escherichia coli</i>	Inhibido o colonias amarillas a verdes
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Bueno, colonias rosa a rojas , translúcidas con halo rojo brillante
	<i>Proteus mirabilis</i>	Inhibido o colonias rosa a rojas, translúcidas, pueden presentar swarming

6.9 Determinación de huevos de helminto en agua residual, agua residual tratada y agua residual tratada utilizada para riego

Para la toma de muestra del influente el recipiente muestreador con capacidad aproximada de un litro, se introdujo en el centro del colector de agua residual en



una zona con flujo turbulento, se enjuago tres veces, después se colectaron 5L de la misma en un recipiente con esa capacidad.

Para la toma de muestra del efluente se dejó fluir un volumen aproximadamente igual a 50 L y en un recipiente se tomaron 5L de la muestra.

La toma de muestra del agua tratada reusada para riego se realizó como se describe en el punto 6.4.

La prueba de determinación de huevos de helminto se baso en la técnica descrita en la norma NMX-AA-113-SCFI-1999. Análisis de agua - determinación de huevos de helminto - método de prueba. El cual se describe a continuación.

- Día 1

Después de tomar la muestra se deajo reposar toda la noche.

- Día 2

Sin agitar se aspiró con vacio y desechó el sobrenadante, se lavaron las pareces del recipiente con agua destilada y se recuperó el sedimento, se dejó reposar toda la noche.

- Día 3

Al día siguiente se aspiró el sobrenadante al máximo y se desechó, el sedimento se depositó en los recipientes para la centrífuga, el recipiente se enjuagó 3 veces con poca agua destilada, el agua de enjuague se junto con el sedimento para centrifugar a 400 g de 3 min a 5 min., se decantó el sobrenadante por vacío observándose la presencia de una pastilla en el fondo del recipiente la cual se resuspendió en 150 ml de la solución de sulfato de zinc ($ZnSO_4$).con ayuda del agitador de tubos y se centrifugó a 400 g de 3 min a 5 min, se recuperó el sobrenadante y se vertió en un recipiente de plástico de 2 000 ml. Se diluyó en 1000 ml de agua destilada, y se dejó sedimentar toda la noche.

- Día 4

Después se aspiró con cuidado y al máximo el sobrenadante por vacío, y se resuspendió el sedimento por agitación, utilizando poca agua destilada; se vertió la suspensión resultante en un tubo de centrífuga de 200 ml, incluyendo el agua



de enjuague del recipiente y se centrifugó a 480 g durante 3 min. Se Decantó nuevamente el sobrenadante y se resuspendió la pastilla con agua destilada en un tubo de 50 ml y se centrifugó a 480 g durante 3 min. Se Decantó nuevamente el sobrenadante por vacío y se resuspendió la pastilla en 15 ml de la solución de alcohol-ácido por medio de un agitador de tubos, y se agregó 10 ml de acetato de etilo. Se Agitó suavemente y se destaparon los tubos para dejar escapar el gas que se desprende. En la campana de extracción, se centrifugó una última vez a 660 g durante 3 min. Se aspiró al máximo el sobrenadante, dejando menos de 1 ml del mismo y evitando la pérdida de la pastilla; homogeneizar la pastilla, y se procedió a la identificación de huevos de helminto.

6.10 Determinación de huevos de helminto en pastos

Se tomó una muestra de 10 g de pasto se licuó con aproximadamente 500 mL y se filtró para eliminar la materia orgánica, el filtrado obtenido se diluyó a 1 L con agua destilada en un recipiente de plástico con capacidad de 2 L, posteriormente se siguió el procedimiento descrito en el punto 6.9 a partir del día 1 hasta el día 4.



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Temporada fría-seca (Febrero y Marzo 2009)

7.1.1 Resultados del análisis microbiológico del agua

En la figura 2 se observa que el agua de pozo de la facultad de química, existe un mayor número de bacterias detectadas en comparación con el pozo de vivero alto y el del multifamiliar. En los tres pozos se detectaron menos de 100 UFC/100 mL, excepto para el medio TSA en el pozo de la Facultad de Química en el cual se detectaron 453 UFC/100 mL y en el medio verde brillante para el pozo del Vivero Alto en el cual se encontraron 504 UFC/100 mL, el límite máximo permisible es de 2 UFC/100 mL para coliformes totales y de cero UFC/100 mL para coliformes fecales y en ambas determinaciones no se cumplió con lo establecido.

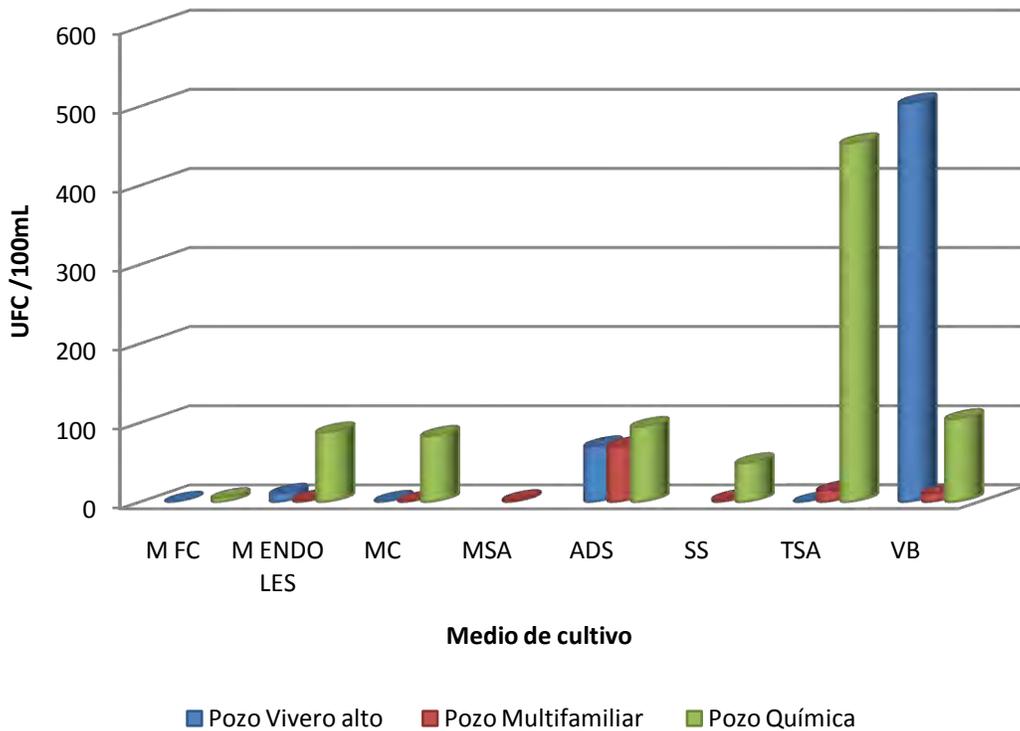


Figura 2. Resultados de los parámetros microbiológicos detectados en medio selectivo del agua de pozos de la temporada fría-seca.



En la figura 3 se observa que la contaminación detectada del agua residual es del orden de 10^7 , al tratar esta agua disminuyen en el orden de 10^3 pero aún así no cumple con la calidad microbiológica de la NOM-003-ECOL-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público ya que el límite máximo permisible es de 240 UFC/100 mL.

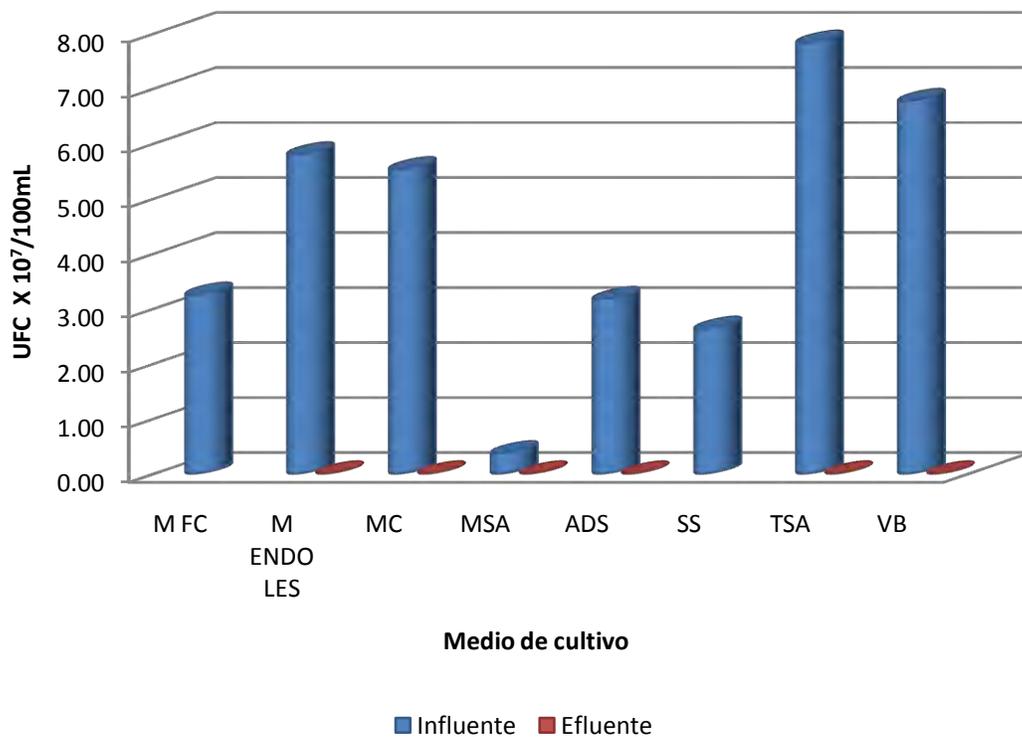


Figura 3. Resultados de los parámetros microbiológicos del agua residual y agua tratada de la temporada fría-seca.



Para el agua utilizada para riego en las “Islas”, “Bigotes” y “Pumitas” la cuenta se realizó en la dilución 10^{-7} esto nos dice que el agua esta altamente contaminada y por lo tanto fuera del límite permitido. Esto puede deberse a que el agua tratada se almacena en cisternas a las que no se les da un mantenimiento periodico, es decir, puede pasar mas de un año sin que sean lavadas, esto provoca que las bacterias se mutipliquen y posteriormente sean dispersadas al medio ambiente.

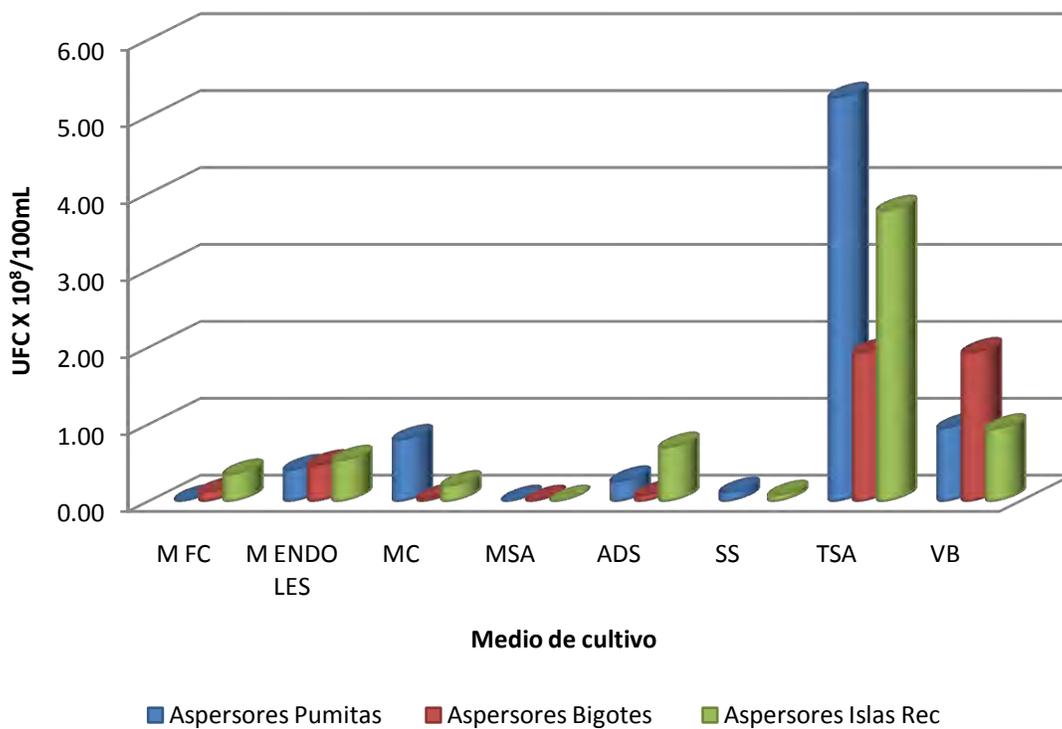


Figura 4. Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de riego de la temporada fría-seca.

7.2 Temporada cálida-seca (Abril y Mayo 2009)



7.2.1 Resultados del análisis microbiológico del agua

Como se puede observar en la figura 5 en el medio M FC para coliformes totales se detectaron 7 UFC/100mL en el pozo de Vivero alto, 24 UFC/100 mL para el pozo en el pozo de la Facultad de Química , lo cual se traduce en problema de contaminación fecal y 1 UFC/100mL detectadas en el pozo del Multifamiliar el agua de este pozo cumple con la norma ya que el límite es de 2 UFC/100mL, en el medio M ENDO LES también se observa un problema ya que el número de coliformes totales aumenta a más del doble en cada uno de los pozos mencionados.

Durante esta temporada es notorio el incremento de la cuenta microbiológica en los medios de cultivo, esto puede deberse a que la temperatura del medio ambiente aumenta, y esto favorece la multiplicación de bacterias.

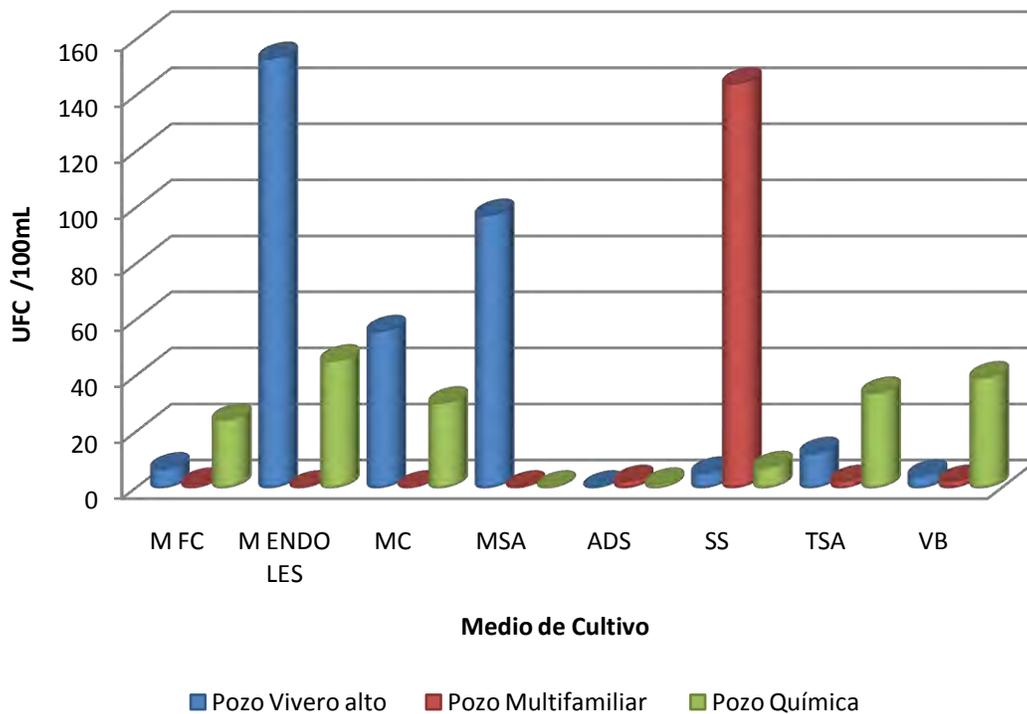


Figura 5. Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de pozos de la temporada cálida-seca.



En la figura 6 se observa que la contaminación detectada del agua residual es del orden de 10^7 al igual que en la temporada fría-seca, de la misma manera al tratar esta agua disminuyen en el orden de 10^3 pero esto aún no cumple con la calidad microbiológica de la NOM-003-ECOL-1997 que es de 240 UFC/100 mL. Se puede decir que la PTARCU trabaja de manera constante ya que no se detectó un cambio significativo al comparar las dos temporadas analizadas.

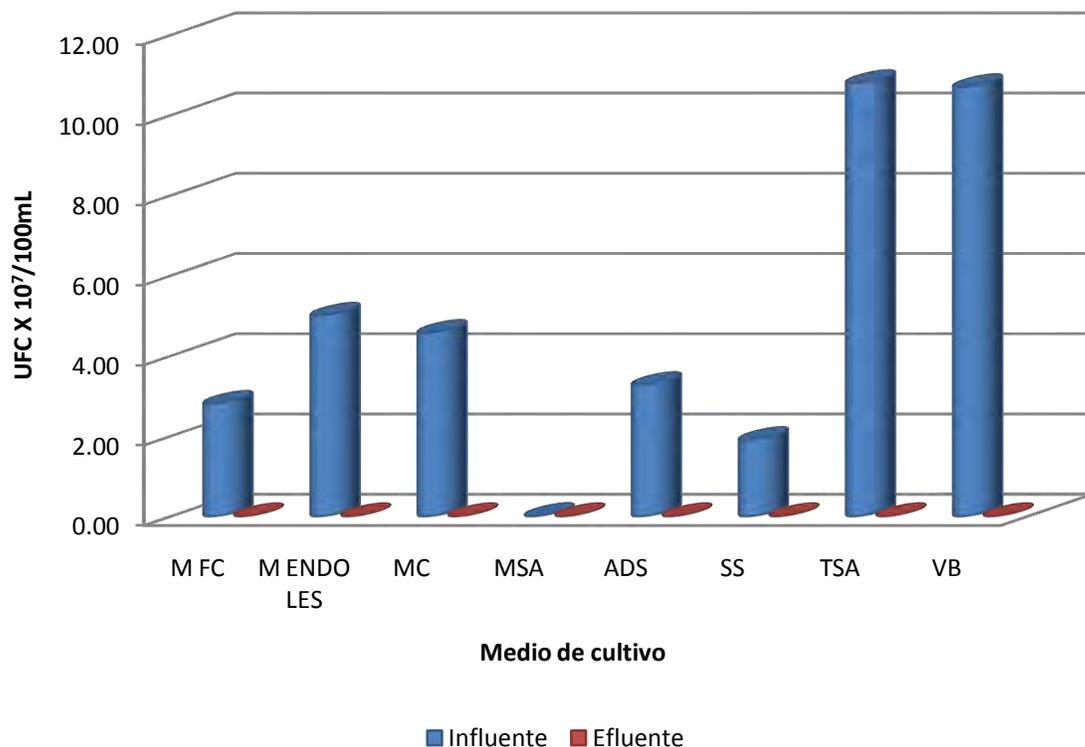


Figura 6. Resultados de los parámetros microbiológicos del agua residual y agua tratada de la temporada cálida-seca.

En el agua utilizada para riego en las “Islas”, “Bigotes” y “Pumitas” se realizó la cuenta microbiológica en la dilución 10^{-7} al igual que en la temporada Fría-seca, lo que nos demuestra que se encuentra fuera de las especificaciones de la norma. Esto se observa en la figura 7.

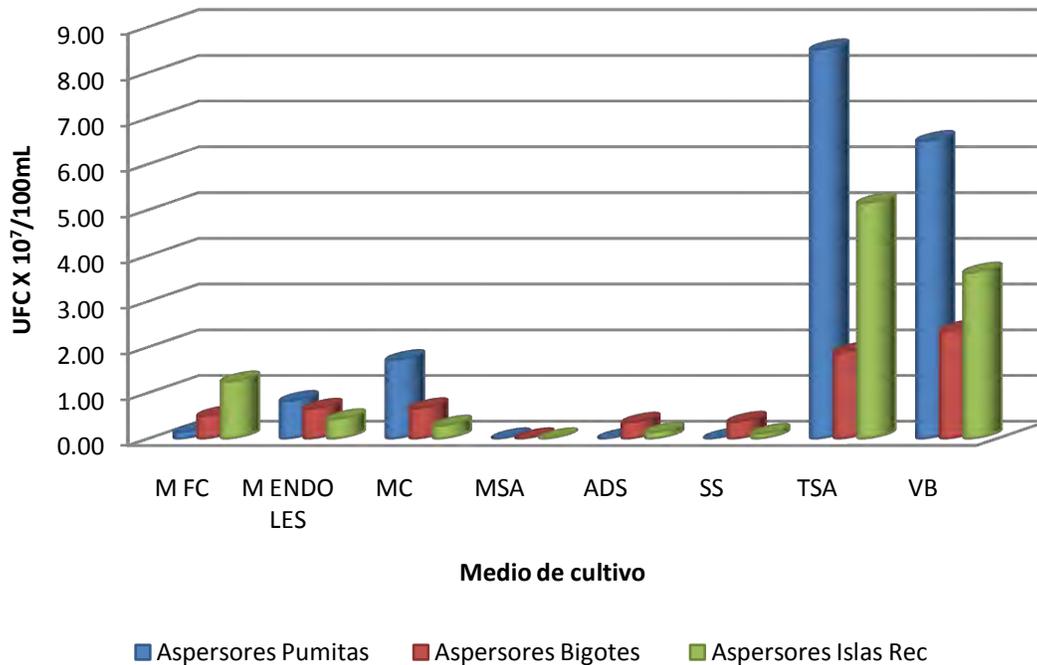


Figura 7. Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de riego de la temporada cálida-seca

7.2.2 Resultados del análisis microbiológico de pastos

Se realizó el análisis microbiológico de pasto únicamente de “Bigotes” y “Pumitas” en esta temporada y podemos observar que la cantidad de microorganismos detectados es del orden de 10^8 en todos los medios de medios de cultivo empleados para el análisis en las dos zonas analizadas, como se muestra en la figura 8 y 9, este resultado se debe a que estos pastos son regados con agua altamente contaminada, aunado a esto, estas áreas verdes son visitadas por animales (ardillas, pájaros, perros, etc.) los cuales defecan al aire libre, personas que tiran basura o escupen, o simplemente las bacterias del medio ambiente ocasionan que incremente el número de bacterias detectadas.

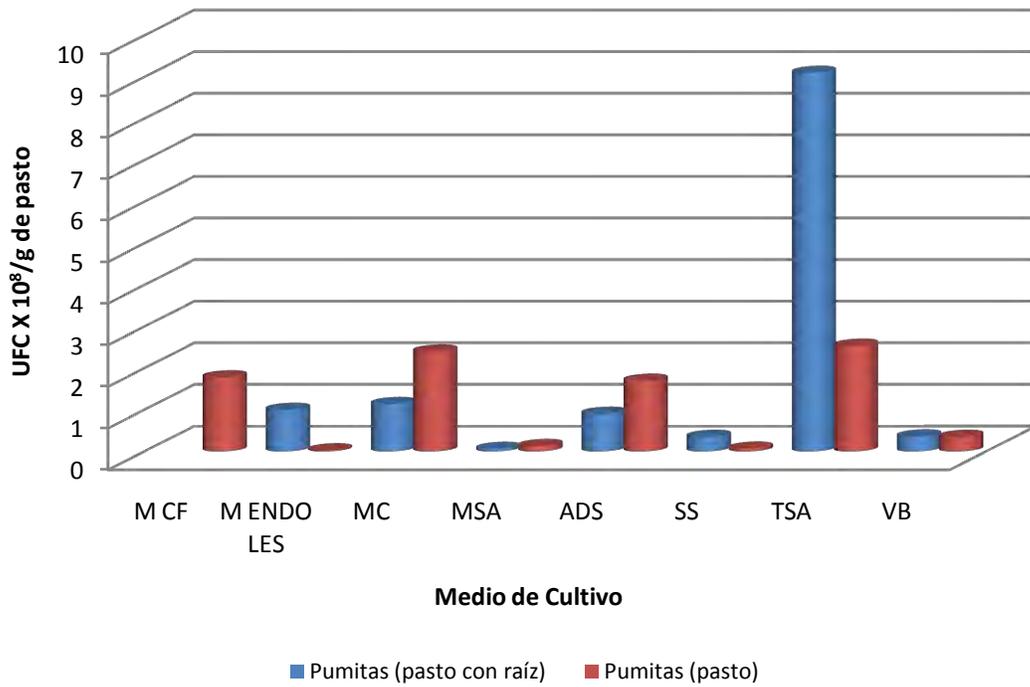


Figura 8 . Resultados del análisis microbiológico del pasto y pasto con raíz de “Pumitas” en la temporada cálida-seca.

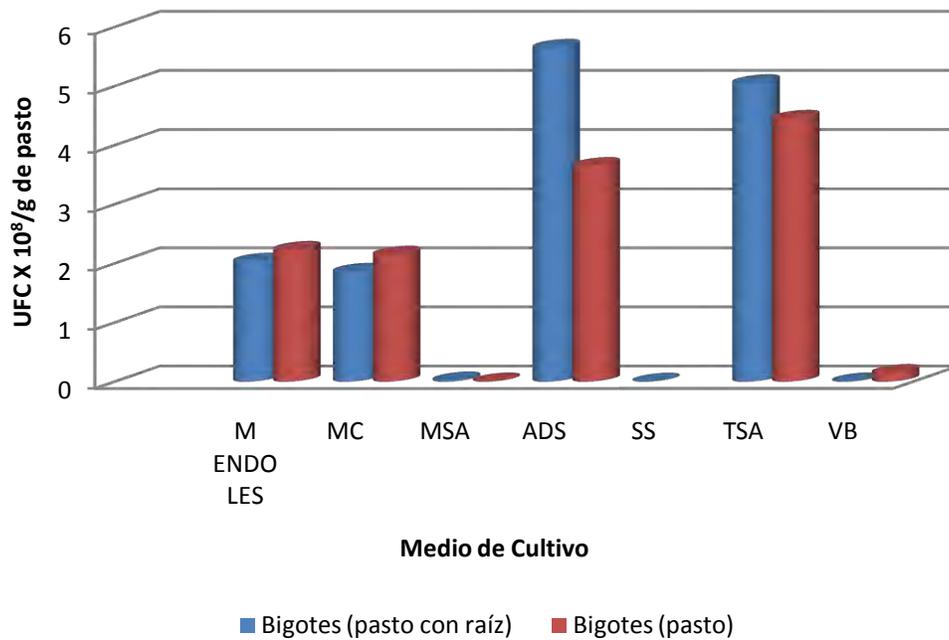


Figura 9. Resultados del análisis microbiológico del pasto y pasto con raíz de “Bigotes” en la temporada cálida seca.



7.3 Temporada cálida-lluviosa

7.3.1 Resultados del análisis microbiológico del agua

Durante esta temporada la PTARCU no se encuentra en funcionamiento debido a que no se requiere el riego de pastos. En esta temporada se realizó el análisis microbiológico del agua subterránea, en la figura 10 podemos observar el número de bacterias que se detectaron en los tres pozos de extracción de Ciudad Universitaria. En el pozo de la Facultad de Química se detectó mayor crecimiento en segundo lugar el pozo del multifamiliar y por último en el pozo del vivero alto.

A pesar de que en esta temporada la cuenta microbiológica disminuyó notablemente en los medios M FC, M ENDO LES, MC, TSA Y VB, aún no cumple con lo establecido con la norma que debe ser de 2 UFC/ 100 mL para coliformes totales (medio M ENDO LES) y de cero UFC/100 mL para coliformes fecales (medio M FC).

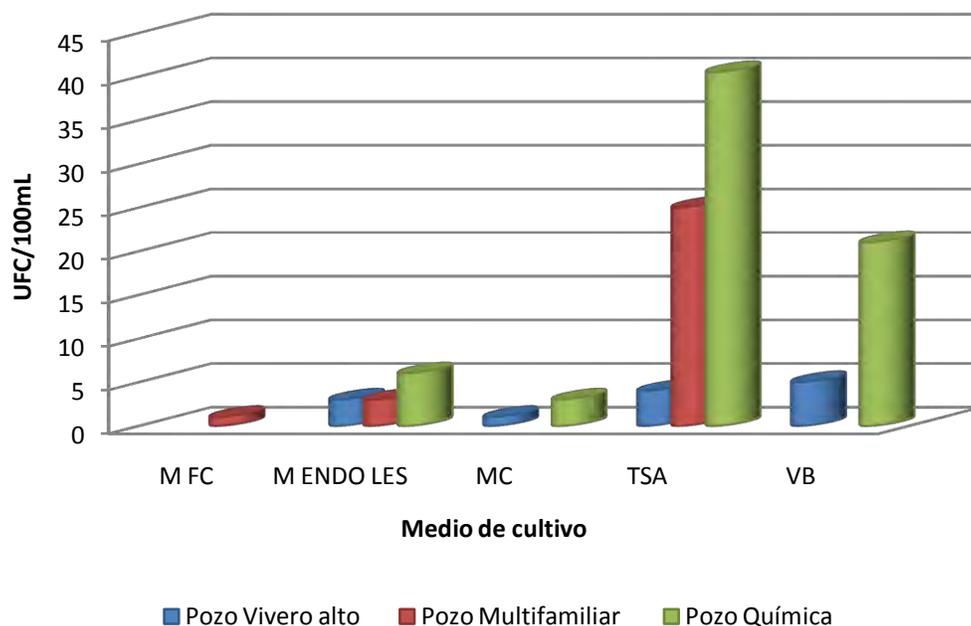


Figura 10. Resultados de los parámetros microbiológicos del agua de pozos subterránea en la temporada cálida-lluviosa.



El agua obtenida de los pozos se reserva en tanques de almacenamiento a partir de los cuales se distribuye a los diferentes sitios de Ciudad Universitaria donde es utilizada, en esta temporada se realizó el muestreo del agua de esos tanques de almacenamiento y en la tabla 7 se observa que los resultados son satisfactorios debido a la ausencia de microorganismos, por lo tanto, cumple con lo establecido con la NOM-127-SSA1-1994 “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano - límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse e agua para su potabilización”.

Tabla 6. Resultados microbiológicos del agua de los tanques de almacenamiento durante la temporada cálida-lluviosa.

Medio de cultivo	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque bajo	Tanque alto
M FC	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M ENDO LES	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MC	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TSA	ND	ND	ND	ND	ND	<1 UFC/100 mL
VB	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND= No detectado

7.3.2 Resultados del análisis microbiológico de pastos

En esta temporada la cuenta microbiológica disminuye (ver tabla 7), aunque esto también se debe a la constante lluvia, ya que el pasto es lavado de forma natural, lo que ocasiona que la concentración de bacterias se diluya de tal modo que no se detectó su presencia.



Tabla 7. Resultados del análisis microbiológico de pastos y pasto con raíz en la temporada cálida-lluviosa.

Parámetro	Pasto "Islas"	Pasto con raíz "Islas"
M FC	ND	ND
M ENDO LES	ND	ND
MC	39x10 ² UFC/g	17x10 ⁴ UFC/g
MSA	60x10 ² UFC/g	I
SAB	96x10 ³ UFC/g	I
TSA	25x10 ³ UFC/g	I
VB	ND	I

ND= No detectado, I= Incontable.

7.4 Identificación de microorganismos

Al emplear el sistema BBL Crystal E/NF ID se obtuvo el número de perfil de diez dígitos y al utilizar su base de datos se logró identificar a los microorganismos que se mencionan a continuación en la tabla 8.

Tabla 8. Microorganismos identificados mediante la base de datos del sistema BBL Crystal E/NF ID

Número de perfil	Microorganismos detectados		
	1er lugar	2º lugar	3er lugar
1200201000	<i>Pseudomonas stutzeri</i>		
5240607157	<i>Pantoea aglomerans</i>	<i>Enterobacter sakasakii</i>	<i>Cedecea lapagei</i>
5726677557	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Serratia fonticola</i>
5764477554	<i>Klebsiella pneumonie</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
7544476153	<i>Enterobacter cloacae</i>		
7544676555	<i>Klebsiella pneumonie</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
7560616153	<i>Enterobacter sakasakii</i>	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	<i>Pantoea aglomerans</i>
7764607166	<i>Pantoea aglomerans</i>		
7764676157	<i>Enterobacter sakasakii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	
7764676551	<i>Enterobacter cloacae</i>		
7764676555	<i>Klebsiella pneumonie</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
7766276155	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Enterobacter sakasakii</i>	
7766627353	<i>Enterobacter sakasakii</i>	<i>Pantoea aglomerans</i>	
7766676157	<i>Enterobacter sakasakii</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	



7766676117	<i>Enterobacter sakasakii</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	
7766677157	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter sakasakii</i>	
7767677557	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
7776676157	<i>Enterobacter sakasakii</i>		

Las bacterias identificadas con la base de datos se compararon las características observadas en los medios de cultivo con lo cual se logró identificar a los siguientes microorganismos.

Tabla 9. Microorganismos identificados en los medios de cultivo.

Medio de cultivo	Microorganismos encontrados en pasto y pasto con raíz	Microorganismos encontrados en agua de riego
M FC	<i>Enterobacter cancerogenus</i> <i>Delftia acidovorans</i>	<i>Cedecea lappagei</i>
M ENDO LES	<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter sakasakii</i> <i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Aeromonas sp</i>
MC	<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	
ADS	<i>Pantoea agglomerans</i> <i>Enterobacter sakasakii</i> <i>Pantoea agglomerans</i>	
SS	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter sakasakii</i>	
TSA	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i> <i>Staphylococcus auricularis</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus cohnii</i> <i>Micrococcus sp</i> <i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Delftia acidovorans</i>
VB	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Enterobacter sakasakii</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Pantoea agglomerans</i>	



A partir de los microorganismos encontrados en agua y pasto se determinó, cuales son capaces de causar enfermedades en el ser humano; en la tabla 10 podemos ver que pueden causar enfermedades gastrointestinales, respiratorias, endocarditis, brotes de sepsis, meningitis, cerebritis y enterocolitis necrotizante, etc. las cuales representan un riesgo importante para la salud.

Tabla 10. Microorganismos que representan un riesgo a la salud.

Microorganismos que representan un riesgo a la salud	Enfermedades en las cuales están implicados
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Enfermedades gastrointestinales
<i>Cedecea lappagei</i>	Ventriculitis
<i>Delftia acidovorans</i>	Infecciones bacterianas
<i>Enterobacter agglomerans</i>	Infecciones intrahospitalarias
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	Osteomielitis
<i>Enterobacter cloacae</i>	Infecciones intrahospitalarias
<i>Enterobacter sakazakii</i>	Brotos de sepsis, meningitis, cerebritis y enterocolitis necrotizante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infecta el tracto pulmonar, el urinario, tejidos, heridas, y también causa otras infecciones de sangre.
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Fiebre entérica
<i>Pseudomonas sp.</i>	Infecciones nosocomiales
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Endocarditis, peritonitis, infecciones del tracto urinario, enfermedad pélvica inflamatoria e infecciones de heridas.
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Infecciones del tracto urinario
<i>Vibrio damsela</i>	Enfermedades gastrointestinales



7.5 Determinación de huevos de helminto en muestras de agua y pastos

Se determinó la presencia o ausencia de huevos de helminto en al menos tres muestras de pasto, pasto con raíz, agua residual, agua tratada y agua de riego en las cuales se observó la presencia de huevos de helminto en algunos lugares lo cual se muestra en la tabla 11.

En “Islas” se encontró que en el agua de riego hay presencia de huevos de helminto y al regar con esta agua son depositados en el pasto; en “Bigotes” y “Pumitas” aunque el agua de riego no contiene huevos de helminto, si se encontraron en las muestras de pasto y pasto con raíz respectivamente, como se mencionó las áreas verdes son visitadas por caninos los cuales defecan y si están parasitados con vermes, depositan huevos sobre el pasto, los cuales al regar se van hacia abajo y se acumulan en la raíz; para la PTARCU solo se detectaron huevos de helminto en el agua residual lo que indica que el tratamiento que se le da es efectivo para la eliminación este tipo de estructuras parasitarias.

Tabla 11. Presencia o ausencia de huevos de helminto

Lugar	Muestra	Presencia o ausencia de huevos de helminto
Islas	Pasto con raíz	Ausentes
	Pasto	Presentes
	Agua de riego	Presentes
Bigotes	Pasto con raíz	Presentes
	Pasto	Presentes
	Agua de riego	Ausentes
Pumitas	Pasto con raíz	Presentes
	Pasto	Ausentes
	Agua de riego	Ausentes
PTARCU	Agua tratada	Ausentes
	Agua residual	Presentes



8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La calidad del agua extraída de los pozos no se encuentra dentro de lo especificado con la norma la cloración es un método eficaz de potabilización del agua.

El agua residual tratada que se genera en la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria y que se emplea en el riego de áreas verdes, no cumple con la calidad microbiológica que establece la normatividad mexicana, por lo tanto existe un riesgo de contaminación del medio ambiente lo que puede afectar la salud de los universitarios, debido a la existencia de patógenos que se dispersan en la zona de riego.

Se detectó la presencia de huevos de helminto en las muestras analizadas lo cual tiene implicaciones negativas desde el punto de vista sanitario ya que representa un riesgo a la salud como se pudo observar son altamente persistentes en el agua y los pastos que son regados con agua contaminada, lo que puede dar lugar a enfermedades gastrointestinales en especial cuando se tiene contacto directo, por lo cual, se sugiere un análisis en el que se cuantifiquen los huevos de helminto para los lugares donde estuvieron presentes.

Se recomienda dar el mantenimiento correspondiente a la PTARCU y hacer la evaluación oportuna para definir las reparaciones que se requieran y también se les debe adicionar un sistema de tratamiento que proporcione un efluente con la calidad que especifica la NOM-003-SEMARNAT-1997. Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público.

Es importante dar mantenimiento periódico de las cisternas donde se almacena el agua tratada utilizada para riego con el fin de evitar la proliferación de bacterias, y posteriormente dispersarlas al momento de riego.

Por otro lado es necesaria realizar frecuentemente el mantenimiento de los pozos de extracción para mejorar calidad microbiológica que tienen actualmente.



Así se protegerá la salud de la Comunidad Universitaria y se disminuirá la contaminación del medio ambiente.



9. BIBLIOGRAFÍA

1. Altord, Wiere and Gunter S. J. Bact.(1955), 69: 516, 1955. (Citado en <http://www.dibico.com>).
2. American Public Health Association (1960). Standard methods for the examination of water and wastewater. 11th.edition apha, New York. (Citado en <http://www.dibico.com>).
3. Constans A., Alonso R. y Martí M. (1998) Estaciones depuradoras de aguas residuales: riesgo biológico. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. España. http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_473.htm Consultado 12/11/2009.
4. DIBICO (2010). Medios de cultivo deshidratados y preparados para uso microbiológico. <http://www.dibico.com/> (consultado13/01/2010).
5. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (1994). Limites microbianos. Sexta edición pp 190-192.
6. Garza R. (2004), Manual de prácticas bacteriología departamento de biología, Facultad de Química, pp. 69-70.
7. Georg. Ajello and Gordon (1951). Science, 114: 387. 1951. (Citado en <http://www.dibico.com>).
8. Georg. J. Lab. And Clin. Med. (1953). 67: 355. (Citado en <http://www.dibico.com>).
9. Joseph Md State. Dept Health. Procedures, (1960). (Citado en <http://www.dibico.com>).
10. Kevelerck and Gunderson (1959). Applied microbiol. 22: 299.
11. Mac Conkey J. Hyg 5 : 33 1905.
12. Mac Faddin Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Wilkins, & Wilkins, Baltimore. 1985.
13. Mc Carthy, de Laney and Grasso, Water and sewage works, 108 : 238, 1961.
14. Mc. Colloch, Am. J. Vet. Research 8 : 173, 1987. (Citado en <http://www.dibico.com>)
15. Madigan, Martinko y Parker (2004). Brock. Biología de los microorganismos 10ª edición. Pearson Educación S.A. Madrid, pp. 927.



16. Metcalf y Eddy. (1996) Ingeniería de las aguas residuales: Tratamiento, vertido y reutilización. 3ª Edición Volúmenes 1 y 2. Mc. Graw Hill. México.
17. NCCLS M – 22 A2 Vol. 16 No. 16 pp 8, 9. Dec. 1996. (Citado en <http://www.dibico.com>).
18. NMX-AA-003-1980 Aguas residuales.- Muestreo. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de Marzo de 1980.
19. NMX-AA-102-SCFI-2006 Calidad del agua – detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* presuntiva – método de filtración en membrana. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 21 de Agosto de 2006.
20. NMX-AA-113-SCFI-1999 Análisis de agua - determinación de huevos de helminto - método de prueba. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 5 de agosto de 1999.
21. NOM-003-SEMARNAT-1997. Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 21 de septiembre de 1998.
22. NOM 014-SSA1-1993 "Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados".
23. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
24. NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización".
25. Organización Mundial de la Salud (1990) Indoor air quality: Biological contaminants, Report on a WHO Meeting, Rautavaara, Finland, August 29-September 2, 1988. WHO Regional Publications, European Series No. 31, Copenhagen. (Citado en <http://www.dibico.com>).
26. Prescott, Harley y Klein (2000). Microbiología 4ª edición. Mc Graw Hill. Interamericana. España, pp. 1137.
27. Pub. Health reports, 65 : 1075, 1950.



28. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media. Second edition approved standard. Nccls m22 a2 vol. 16 pp 8 1996. (Citado en <http://www.dibico.com>).
29. Romero R. 1993. Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2a edición. Médica Panamericana,. Mexico. 1575, 1599, 1607 pp.
30. Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed., Washington, D. C. 1985.
31. Standard methods for the examination of dairy products 11^a. Ed. Apha. Inc. New York, 1960.
32. USP 26 nf 21 rev. "Microbiological tests" pp 2006, 2003
33. Velilla, Faber y Pelczar Am. J. Vet. Vet. Research 8 : 275, 1987.
34. Villa O. (2000) Estudios preliminares para la localización de planta de tratamiento de aguas residuales en la zona de los GEOS de Ciudad Universitaria. Facultad de Ingeniería, UNAM. Tesis de Licenciatura. México. 136pp.
35. World Health Organization. (2006) Guidelines for the safe use of wastewater, Excreta and Greywater. Vol.2 Wastewater use in agriculture, pp.191.



ANEXO A



LUGARES DE MUESTREO



Figura 11. Riego por aspersión con agua tratada en “Las Islas”



Figura 12. Campo 8 “Pumitas”



Figura 13. Metro Universidad “Bigotes”.



Figura 14. Planta de Tratamiento de Agua Residual de Ciudad Universitaria (PTARCU).



Figura 15. Influyente de la PTARCU.



Figura 16. Efluente de la PTARCU.



Figura 17. Pozo de la facultad de Química.



Figura 18. Pozo del Multifamiliar.



Figura 19. Pozo del vivero alto.

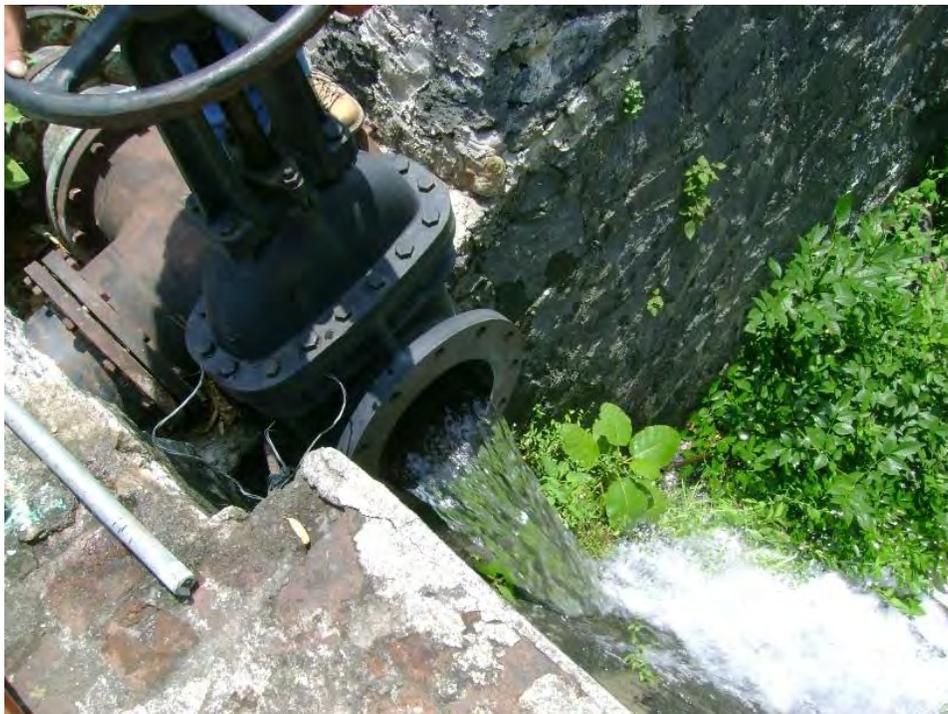


Figura 20. Salida de agua del tanque bajo



TRABAJO EN EL LABORATORIO



Figura 21. Material necesario para el análisis microbiológico de agua.



Figura 22. Uso de licuadora para moler el pasto.



Figura 23. Filtrado de pasto para realizar el análisis microbiológico.



Figura 24. Técnica de extensión en placa, para análisis microbiológico de pasto.



Figura 25. Aspiración por vacío del sobrenadante para la determinación de huevos de helminto.



Figura 26. Comparación con código de colores para identificación de bacterias.



ANEXO B



En cada medio de cultivo pueden desarrollar diversos microorganismos con morfología diversa, a continuación se presentan los medios de cultivo con las características de cada uno, lo cual es muy importante para el conteo en placa.

Agar FC – M (Agar para coliformes fecales)

Uso

Para la cuenta y detección de organismos Coliformes fecales en agua y bebidas por la técnica de filtración en membrana.

Principio

Las peptonas y el extracto de levadura proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento de microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico. Las sales biliares inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas.

Los Coliformes fecales tienen la capacidad de fermentar la lactosa del medio de cultivo a una temperatura elevada (44°C). La adición del ácido rosólico proporciona a las colonias de Coliformes fecales color azul y los otros microorganismos desarrollan colonias crema a grises.

El método se basa en la filtración por membrana de una muestra para concentrar células viables sobre la superficie de una membrana y transferirlas al medio de cultivo. Incubar 18-24 h a 44°C y posteriormente contar el número de unidades formadoras de colonias.

Formula en gramos por litro de agua destilada

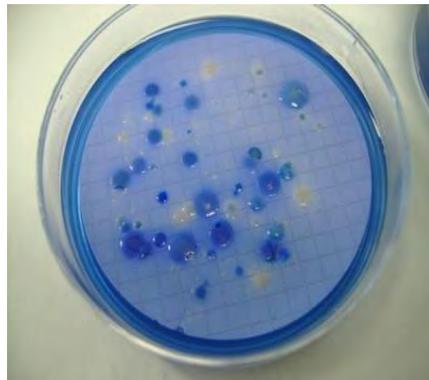
Acido rosolico	0.1	Peptona de caseína	6.5
Agar	15.0	Polipeptona CAS	5.0
Anilina azul	0.1	Extracto de levadura	6.5
Cloruro de sodio	5.0	Sales biliares	1.5
Lactosa	12.5		

pH 7.4 ± 0.2



Preparación

Rehidratar 52 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 116 - 118°C (aproximadamente 12 lbs. de presión) durante 15 minutos. No sobreesterilizar. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles de 60x15 mm de diámetro. Conservar en refrigeración de 2° a 8°C.



Agar endo LES

Uso

Para la cuenta de microorganismos Coliformes en agua por la técnica de filtración en membrana.

Principio

La tiopeptona, triptosa, casitona y el extracto de levadura aportan la fuente de nitrógeno, carbono, sulfuro y vitaminas para el soporte de crecimiento. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico. El desoxicolato de sodio, sulfito de sodio y lauril sulfato de sodio, inhiben a las bacterias Gram positivas. Los fosfatos amortiguan el pH. La lactosa es el carbohidrato que fermentan los coliformes formando aldehído y ácido. A partir de la combinación fucsina básica-sulfito de sodio, da lugar a la coloración roja de las colonias. En el caso de *Escherichia coli* esta reacción es tan intensa que la fucsina llega a cristalizar y por este motivo, confiere a dichas colonias brillo metálico estable, con reflejo verde.



La técnica que se aplica es de acuerdo a lo descrito en “métodos estándar para el análisis de agua y de agua residual”.

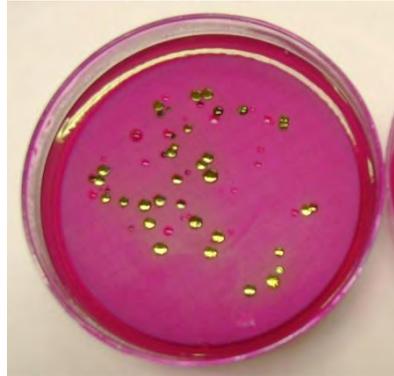
Formula en gramos por litro de agua destilada

Agar	15.0	Fucsina básica	1.1.1.1	0.8
Casitona	3.7	1.1.1.2 Lactosa		9.4
Cloruro de sodio	3.7	1.1.1.3 Lauril sulfato de sodio		0.05
Desoxicolato de sodio	0.1	Sulfito de sodio		1.6
Extracto de levadura	1.1.1.4 1.2	Tiopeptona		3.7
Fosfato de potasio dibásico	3.3	Triptosa		7.5
Fosfato de potasio monobásico	1.0			

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Pesar 51 g del medio y adicionar 40 ml de etanol absoluto. Reposar 10 a 15 minutos. Agregar un litro de agua destilada. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante un minuto para disolverlo por completo. Evitar sobrecalentamiento. No esterilizar en autoclave. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles de 60x15 mm en volúmenes de 11 ± 1 ml. Dejar solidificar. Es importante proteger de la luz directa. Conservar en refrigeración de 2° a 8°C.-



Agar de Mac Conkey

Uso

Es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de organismos coliformes, *salmonella* y *shigella* a partir de diversas muestras.

Principio

Las sales biliares y el cristal violeta inhiben el crecimiento de gérmenes Gram positivos. La lactosa y el indicador de pH rojo neutro, permiten la diferenciación de las bacterias lactosa positiva (colonias rosa intenso con halo de precipitación), de las no fermentadoras (colonias transparentes o ámbar).

Sembrar el medio de cultivo con la muestra problema por estría cruzada. Incubar 24 h a 35°C.

Formula en gramos por litro de agua destilada

Agar	13.5	Cristal violeta	0.001
Mezcla de sales biliares	1.5	Peptona de gelatina	17.0
Cloruro de sodio	5.0	Lactosa	10.0
Peptona especial	3.0	Rojo neutro	0.03

pH 7.1 ± 0.2



Preparación

Rehidratar 50 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs. de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.

Agar de sal y manitol

Uso

Medio selectivo empleado para aislamiento de estafilococos a partir de diversas muestras.

Principio

La degradación del manitol con producción de ácido cambia el color del medio, de rosado a amarillo. La formación de colonias de estafilococos no patógenos son de tamaño pequeño rodeadas de una zona roja. Los estafilococos patógenos producen ácido del manitol, desarrollan colonias más grandes rodeadas de una zona amarilla. Si se agrega a cada litro de medio, una yema de huevo en condiciones de esterilidad, los estafilococos, que además de fermentar el manitol producen lipasa, darán un precipitado amarillento de ácidos grasos alrededor de la colonia. Este fenómeno comprueba la propiedad de coagular el plasma que presentan los estafilococos patógenos coagulasa positivos. La elevada concentración de cloruro de sodio inhibe a la mayoría de las bacterias que son halo-sensibles y favorecen a los estafilococos halo-resistentes. Sembrar la muestra en estudio en la superficie del medio de cultivo por estría cerrada. Incubar 24 – 48 h a 35°C.



Formula en gramos por litro de agua destilada

Agar	15.0	Extracto de carne	1.0
Cloruro de sodio	75.0	1.1.2 Peptona especial	10.0
D-manitol	10.0	Rojo de fenol	0.025

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Rehidratar 111 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs. de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.

Agar para *Salmonella* y *Shigella*

Uso

Medio selectivo y diferencial para el aislamiento de *salmonella* y *shigella* a partir de diversas muestras.

Principio

Las bacterias Gram positivas, algunas especies de *Proteus* y bacilos coliformes son inhibidos por las sales biliares, citrato de sodio y verde brillante. La diferenciación de los microorganismos se logra por la lactosa. Las bacterias que fermentan la lactosa producen ácido, el cual al reaccionar con el indicador rojo neutro, forman colonias rojas a rosa intenso, las no fermentadoras observan incoloras a rosa pálido. El tiosulfato de sodio y el citrato férrico de amonio, facilitan la detección de sulfuro de hidrógeno, manifestándose por colonias con centro negro. Por ser un medio con alto poder de inhibición se recomienda utilizarlo



paralelamente a otros medios de cultivo menos inhibidores como Agar Mac Conkey, Agar eosina azul de metileno, agar tergitol 7 o agar XLD.

Sembrar por estría cruzada la superficie del medio de cultivo con la muestra problema. Incubar 24 h a 35°C.

Formula en gramos por litro de agua destilada

Agar	13.5	Peptona especial	5.0
Citrato férrico de amonio	1.0	Rojo neutro	0.025
Citrato de sodio	8.5	Sales biliares	8.5
Extracto de carne	5.0	Tiosulfato de sodio	8.5
Lactosa	10.0	Verde brillante	0.00033

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Rehidratar 60 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. No esterilizar en autoclave. Vaciar en cajas de Petri estériles. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.

Agar Dextrosa Sabouraud

Uso

Para cultivo y conservación de hongos patógenos y no patógenos, particularmente dermatofitos, levaduras y microorganismos acidúricos a partir de diversas muestras.



Principio

Las peptonas proporcionan factores de crecimiento y fuente de nitrógeno. La dextrosa es la fuente de energía para el crecimiento de microorganismos. El pH ácido de 5.6 favorece el crecimiento de hongos, especialmente dermatofitos y ayuda en la inhibición de flora contaminante. Cuando los materiales en estudio presentan abundantes contaminantes, el aislamiento mejora si se adiciona al medio de cultivo sustancias antimicrobianas selectivas, como lo reporta George y col., que recomienda agregar asépticamente cicloheximida, penicilina y estreptomina antes de usarlo, inhibiendo de esta forma la flora contaminante que interfiera en el cultivo de hongos.

La adición de antibióticos de amplio espectro inhibe una amplia gama de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

El medio de cultivo se siembra de acuerdo a las indicaciones con la muestra de ensayo. Los hongos desarrollados se examinan micro y macroscópicamente.

Preparación

Rehidratar 65 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs. de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles. Cuando se requiera el medio en tubo de ensayo, distribuir el volumen requerido antes de esterilizar y posteriormente enfriar en posición inclinada. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.

Agar de soya y tripticaseína

Uso

Para cultivo de microorganismos, aislamiento y pruebas de límite microbiano a partir de diversas muestras. Útil para conservación de cepas microbianas.



Principio

El contenido de peptonas de soya y caseína permiten el desarrollo de una gran variedad de microorganismos tanto aerobios como anaerobios. Carece de carbohidratos haciéndolo muy útil para estudiar reacciones de hemólisis y también en la preparación de agar chocolate. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico.

Sembrar el medio de cultivo con la muestra problema por estría cruzada. Incubar 24 - 48 h a 35°C.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada

Agar	15.0	Peptona de caseína	15.0
Cloruro de sodio	5.0	Peptona de soya	5.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Rehidratar 40 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs. de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Cuando se requiera utilizar con sangre adicionarla al 5% en condiciones de esterilidad, homogeneizar y vaciar en cajas de Petri estériles. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.

Agar verde brillante

Uso

Medio de cultivo selectivo y diferencial para el aislamiento de *salmonella* (excepto *S. typhi* y *Shigella*) a partir de diversas muestras.

Principio

La selectividad de este medio se basa en la concentración del verde brillante, que inhibe microorganismos Gram positivos y parcialmente a Gram negativos. La



lactosa y la sacarosa permiten diferenciar la flora acompañante que utiliza estos carbohidratos, del género *salmonella* que no los degrada.

La muestra debe inocularse en caldo tetrionato (no. Catálogo 1036), medio de enriquecimiento selectivo para el aislamiento del género *salmonella*. Los subcultivos, pueden efectuarse sembrando sobre la superficie del medio de cultivo por estría cruzada en agar de Mac Conkey, gar verde brillante y agar para *Salmonella* y *Shigella*. Incubar 24 h a 35°C.

Las colonias típicas de *Salmonella* son translúcidas, ligeramente rojas a rosa con halo rojo brillante. Los organismos fermentadores de lactosa y/o sacarosa que desarrollan en el medio se diferencian fácilmente por la formación de colonias amarillo verdosas rodeadas de una zona amarilla verdosa intensa.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada

Agar	20.0	Extracto de carne	3.0
Peptona especial	10.0	Sacarosa	10.0
Cloruro de sodio	5.0	Lactosa	10.0
Rojo de fenol	0.08	Verde brillante	0.0125

pH 6.9 ± 0.2

Preparación

Rehidratar 58 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs. de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Se puede agregar 3.0 ml de una solución de 2, 3,5- clorhidrato de trifeníl-tetrazolio estéril al 1%. Vaciar en cajas de Petri estériles. Es importante protegerlo de la luz. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.