

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS FUENTES DE
ABASTECIMIENTO DEL ACUEDUCTO RURAL EL SALADITO, TIMBÍO,
CAUCA**



JOSÉ FERNANDO ORDOÑEZ PAJA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE INGENIERIA CIVIL
PROGRAMA INGENIERIA AMBIENTAL
POPAYAN
2016**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS FUENTES DE
ABASTECIMIENTO DEL ACUEDUCTO RURAL EL SALADITO, TIMBÍO,
CAUCA**

JOSÉ FERNANDO ORDOÑEZ PAJA

**Informe final de trabajo de grado modalidad investigación como requisito
parcial para optar al título de Ingeniero Ambiental**

DIRECTOR:

**Hernán Sierra, PhD.
Profesor Titular
Facultad Ciencias de la Salud**

Asesor:

**Juan Carlos Casas, PhD
Profesor Titular
Facultad de Ingeniería Civil**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE INGENIERIA CIVIL
PROGRAMA INGENIERIA AMBIENTAL
POPAYAN
2016**

Nota de aceptación:

Firma del director

Firma del jurado

Firma del jurado

Popayán, febrero de 2016

DEDICATORIA

A mi mamá, Liliana Paja.

A mi papá, José Vicente Ordoñez.

A la abuela, María Lilia Hurtado.

A la memoria de mi abuelo Marino Paja.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Cauca, programa de Ingeniería Ambiental, a todos sus profesores por sus enseñanzas, con especial gratitud para el ingeniero Guillermo Chaux, Q.E.P.D.

A Colciencias por la financiación del proyecto código 110356934947.

Al Dr. Carlos Hernán Sierra por la confianza, dedicación, apoyo y consejos en la dirección de este trabajo.

A la Dra. Claudia Patricia por la oportunidad de articular el presente trabajo con su tesis doctoral.

Al Dr. Juan Carlos Casas por el apoyo y su orientación.

Al acueducto rural El Saladito por la colaboración para la realización de este trabajo.

A Felipe Astudillo, fontanero del acueducto, por su acompañamiento y buena disposición en las jornadas de muestreo y visitas de campo.

A la profesora Sulma Muñoz, a Walter González, a BSc. Fabián Hurtado, a Msc. Andrés Quiroga y las auxiliares de laboratorio Milena Romero y Mireya Valencia por su acompañamiento y apoyo en los ensayos realizados en el Laboratorio de Genética Humana.

A la Ing. Victoria Muñoz por la colaboración en la realización de las pruebas en el Laboratorio de Materiales, Suelos y Pavimentos.

A Ricardo Viveros por el apoyo técnico en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental.

**“Sólo si nos detenemos a pensar en las pequeñas cosas
llegaremos a comprender las grandes.”**

José Saramago

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| INTRODUCCION | 1 |
| 1. MARCO CONCEPTUAL..... | 3 |
| 1.1 EL AGUA DULCE COMO RECURSO | 3 |
| 1.2 CRISIS DEL AGUA Y EL RIESGO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN EL MUNDO EN VÍA DE DESARROLLO | 4 |
| 1.3 ¿CÓMO SE CONTAMINA EL AGUA?..... | 5 |
| 1.3.1 Sedimentos potencial reservorio de bacterias de origen fecal y patógenos..... | 7 |
| 1.4 PATÓGENOS EN EL AGUA..... | 8 |
| 1.5 <i>HELICOBACTER PYLORI</i> , PATÓGENO EMERGENTE Y SU RELACIÓN CON EL CONSUMO AGUA CONTAMINADA | 8 |
| 1.5.1 Rutas de trasmisión..... | 9 |
| 1.5.2 Detección de <i>H. pylori</i> en ambientes acuáticos..... | 9 |
| 1.6 USO DE BACTERIAS COMO INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL..... | 11 |
| 1.6.1 Bacterias coliformes | 12 |
| 1.6.2 <i>Clostridium perfringens</i> | 12 |
| 1.7 PRUEBAS PARA ENUMERACIÓN DE BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN FECAL, MÉTODO BASADO EN CULTIVOS..... | 13 |
| 1.8 NORMATIVIDAD COLOMBIANA, CRITERIOS DE CALIDAD EN AGUAS Y NIVELES PERMITIDOS DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINACIÓN FECAL. | 14 |
| 2. OBJETIVOS | 15 |
| 2.1 OBJETIVO GENERAL..... | 15 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 15 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| 3.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO | 16 |
| 3.2 IDENTIFICACIÓN DE FUENTES DE CONTAMINACIÓN | 17 |
| 3.3 COLECCIÓN DE MUESTRAS..... | 17 |
| 3.4 REGISTRO DE LLUVIAS | 18 |
| 3.5 MEDICIÓN DE CAUDAL | 18 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.6 | ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DEL SEDIMENTO | 19 |
| 3.6.1 | Determinación del porcentaje de humedad del sedimento... | 19 |
| 3.6.2 | Determinación del porcentaje de materia orgánica del sedimento..... | 19 |
| 3.6.3 | Análisis granulométrico de sedimento por tamizado: | 19 |
| 3.6.4 | Determinación de la Textura de sedimento por el método de Bouyoucos..... | 20 |
| 3.7 | ANÁLISIS FÍSICOS DE LAS MUESTRAS DE AGUA..... | 20 |
| 3.7.1 | pH..... | 20 |
| 3.7.2 | Turbiedad | 20 |
| 3.7.3 | Color aparente | 21 |
| 3.7.4 | Conductividad eléctrica | 21 |
| 3.8 | ENUMERACIÓN BACTERIAS INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL..... | 21 |
| 3.8.1 | Pre-tratamiento del sedimento para análisis microbiológicos | 21 |
| 3.8.2 | Coliformes totales y <i>E. coli</i> | 21 |
| 3.8.3 | <i>Clostridium perfringens</i> | 22 |
| 3.9 | DETECCIÓN DE ADN DE <i>H. PYLORI</i> | 22 |
| 3.9.1 | Extracción de ADN genómico bacteriano..... | 22 |
| 3.9.2 | Multiplex PCR..... | 22 |
| 3.10 | ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 23 |
| 4. | RESULTADOS | 24 |
| 4.1 | CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS MICROCUENCAS Y DESCRIPCIÓN DE LAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN | 24 |
| 4.2 | DESCRIPCIÓN DE LOS PERIODOS SECOS Y DE LLUVIAS .. | 28 |
| 4.3 | VARIACIÓN TEMPORAL DEL CAUDAL | 29 |
| 4.4 | CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SEDIMENTO | 30 |
| 4.4.1 | Granulometría y textura..... | 30 |
| 4.4.2 | Humedad..... | 31 |
| 4.4.3 | Materia orgánica..... | 32 |
| 4.5 | CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL AGUA | 33 |
| 4.5.1 | pH..... | 34 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.5.2 | Turbiedad | 34 |
| 4.5.3 | Color aparente | 35 |
| 4.5.4 | Conductividad eléctrica | 35 |
| 4.6 | ENUMERACIÓN BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN FECAL (BICF) | 38 |
| 4.6.1 | Sedimento | 38 |
| 4.6.2 | Agua..... | 42 |
| 4.7 | DETECCIÓN DE ADN DE <i>H. PYLORI</i> | 50 |
| 4.7.1 | Frecuencia de <i>H. pylori</i> , según estaciones de muestreo y periodo de lluvias | 50 |
| 4.7.2 | Frecuencia de <i>H. pylori</i> , según las características físicas del agua (turbiedad y color aparente) | 51 |
| 4.7.3 | Frecuencia de <i>H. pylori</i> , según concentración de BICF | 51 |
| 5. | DISCUSIÓN | 52 |
| 5.1 | CONTAMINACIÓN DE LOS CUERPOS DE AGUA | 52 |
| 5.2 | CALIDAD FÍSICA Y MICROBIOLÓGICA DE LOS CUERPOS DE AGUA | 52 |
| 5.3 | EL SEDIMENTO MATRIZ DE INTERÉS PARA LA SALUD PÚBLICA | 55 |
| 5.4 | <i>HELICOBACTER PYLORI</i> PRESENTE EN LAS FUENTES DE ABASTECIMIENTO..... | 56 |
| 6. | CONCLUSIONES..... | 59 |
| 7. | RECOMENDACIONES | 60 |
| | BIBLIOGRAFIA..... | 62 |
| | ABREVIATURAS | 72 |
| | ANEXOS..... | 73 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Diagrama conceptual de las fuentes primarias, secundarias y terciarias de bacterias de origen fecal en ambientes húmedo tropicales... | 7 |
| Figura 2. Localización del área de estudio..... | 16 |
| Figura 3. Distribución cobertura vegetal microcuencas Salinas y presidente..... | 26 |
| Figura 4. Distribución cobertura vegetal microcuencas Cristalares y Silencio..... | 26 |
| Figura 5. Bocatoma quebrada Cristalares, antes y después de un episodio de lluvia..... | 27 |
| Figura 6. Variación mensual del caudal..... | 30 |
| Figura 7. Variación mensual del porcentaje de humedad..... | 31 |
| Figura 8. Variación mensual del contenido de materia orgánica..... | 33 |
| Figura 9. Variación mensual del pH..... | 34 |
| Figura 10. Variación mensual de la turbiedad..... | 35 |
| Figura 11. Variación mensual del color aparente..... | 36 |
| Figura 12. Variación mensual de la conductividad eléctrica..... | 37 |
| Figura 13. Placas de cultivos microbiológicos..... | 38 |
| Figura 14. Variación mensual de la concentración de coliformes totales en las muestras de agua..... | 39 |
| Figura 15. Variación mensual de la concentración de <i>E. coli</i> en las muestras de agua..... | 40 |
| Figura 16. Variación mensual de la concentración de <i>C. perfringens</i> en las muestras de agua..... | 40 |
| Figura 17. Concentración de las BICF en las muestras de agua para periodo seco y de lluvias..... | 41 |
| Figura 18. Niveles de contaminación fecal..... | 43 |
| Figura 19. Variación mensual de la concentración de coliformes totales en las muestras de agua..... | 45 |
| Figura 20. Variación mensual de la concentración de <i>E. coli</i> en las muestras de agua..... | 45 |
| Figura 21. Variación mensual de la concentración de <i>C. perfringens</i> en las muestras de agua..... | 46 |
| Figura 22. Concentración de las BICF en las muestras de agua para periodo seco y de lluvias..... | 47 |
| Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa..... | 50 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Niveles guía de calidad microbiológica discriminado por el uso. Decreto 1594 de 1984. | 14 |
| Tabla 2. Jerarquización de las microcuencas. | 16 |
| Tabla 3. Primers utilizados en este estudio para detección de <i>H. pylori</i> en el ADN extraído. | 23 |
| Tabla 4. Principales características de las microcuencas Salinas, Presidentes, Cristalares y Silencio. | 25 |
| Tabla 5. Fuentes de contaminación encontradas durante el recorrido por las microcuencas Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio. | 28 |
| Tabla 6. Muestreos con lluvias los días previos. | 28 |
| Tabla 7. Distribución tamaño de partículas. | 31 |
| Tabla 8. Valores máximos aceptables de las características físicas del agua potable. Resolución 2115 de 2007. | 34 |
| Tabla 9. Correlación entre humedad, materia orgánica, coliformes totales, <i>E. coli</i> y <i>C. perfringens</i> | 42 |
| Tabla 10. Niveles de contaminación fecal. | 42 |
| Tabla 11. Matriz de Correlación entre turbiedad, color aparente, coliformes totales, <i>E. coli</i> y <i>C. perfringens</i> , para época seca. | 47 |
| Tabla 12. Matriz de correlación entre turbiedad, color aparente, coliformes totales, <i>E. coli</i> y <i>C. perfringens</i> , para época de lluvias. | 48 |
| Tabla 13. Matriz de correlación entre coliformes totales, <i>E. coli</i> y <i>C. perfringens</i> de agua y sedimento, para periodo seco. | 48 |
| Tabla 14. Matriz de correlación entre coliformes totales, <i>E. coli</i> y <i>C. perfringens</i> de agua y sedimento, para época de lluvias. | 49 |
| Tabla 15. Positividad de <i>H. pylori</i> según la estación de muestreo en periodo seco y de lluvias. | 51 |
| Tabla 16. Variación en la turbiedad y el color aparente de acuerdo a la positividad de <i>H. pylori</i> | 51 |
| Tabla 17. Variación en la concentración de coliformes totales, <i>E. coli</i> y <i>C. perfringens</i> de acuerdo a la positividad de <i>H. pylori</i> | 51 |

LISTA DE ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo A. Registro fotográfico colección de muestras..... | 73 |
| Anexo B. Registro fotográfico Aforos de caudal. | 73 |
| Anexo C. Formatos de captura de datos en campo..... | 75 |
| Anexo D. Formato de registro cálculo de porcentaje de humedad y materia orgánica sedimento..... | 77 |
| Anexo E. Formato de registro análisis granulométrico sedimento. | 78 |
| Anexo F. Registro fotográfico pruebas fisicoquímicas del sedimento. Laboratorio de Ingeniería Ambiental y Laboratorio de Materiales, Suelos y Pavimentos, Universidad del Cauca. | 79 |
| Anexo G. Registro fotográfico pruebas físicas del agua. Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Universidad del Cauca. | 81 |
| Anexo H. Formato de registro análisis físicos del agua. | 82 |
| Anexo I. Registro fotográficos análisis microbiológicos. Laboratorio de Genética Humana, Universidad del Cauca | 83 |
| Anexo J. Formato de registro análisis microbiológicos. | 84 |
| Anexo K. Registro fotográfico pruebas moleculares. | 87 |
| Anexo L. Formato de registro pruebas moleculares, multiplex PCR..... | 89 |
| Anexo M. Registró fotográfico de los recorridos por las microcuencas Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio..... | 90 |
| Anexo N. Comportamiento del caudal durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones..... | 94 |
| Anexo O. Tabla de muestreos por mes. | 95 |
| Anexo P. Análisis de varianza ANOVA para el caudal..... | 96 |
| Anexo Q. Curvas granulométricas del sedimento..... | 99 |
| Anexo R. Comportamiento de la humedad del sedimento durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones..... | 103 |
| Anexo S Análisis de varianza ANOVA para humedad. | 104 |
| Anexo T Comportamiento del contenido de materia orgánica en el sedimento durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones | 108 |
| Anexo U Análisis de varianza ANOVA para materia orgánica | 109 |
| Anexo V. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en el sedimento durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones. | 113 |

INTRODUCCION

Las aguas superficiales pueden contener una gran variedad de microorganismos patógenos, incluyendo bacterias, virus y protozoos (Girones et al., 2010). La contaminación de los cuerpos naturales de agua destinados para consumo humano con microorganismos patógenos es un problema importante en muchas partes del mundo, especialmente en países en desarrollo. Las enfermedades diarreicas, debidas principalmente al consumo de agua contaminada microbiológicamente, causan cerca de 1,000 millones de enfermedades y 2.2 millones de muertes por año (Montgomery y Elimelech, 2007).

En relación con las enfermedades transmitidas por el agua, las infecciones agudas relacionadas con la diarrea y la desnutrición a menudo son la prioridad para las organizaciones de salud (OMS, 2013). Sin embargo, poco se consideran enfermedades crónicas, tales como las que resultan de la infección por *H. pylori*. Este patógeno humano infecta a más del 50% de la población mundial (Ahmed et al., 2009), de los cuales el 70% se encuentran en países en desarrollo (Gião et al., 2008; Janzon et al., 2009; Kim et al., 2011). Numerosos estudios mencionan como causa importante el consumo de agua contaminada (Aziz et al., 2013). Bain et al. (2014a) sugieren que 1800 millones de personas utilizan fuentes de agua de consumo con de algún grado de contaminación fecal.

La calidad del agua superficial es particularmente sensible al uso del suelo y los fenómenos climáticos que afectan el área de captación (cuenca hidrográfica) (Delpla y Rodriguez, 2014). El uso del suelo se ha identificado como una importante fuente de contaminación relacionada con la concentración microorganismos de origen fecal (Kelsey et al., 2004). La mayoría de estos microorganismos no son patógenos, pero indican la posible presencia de microorganismos que sí lo son. Algunas fuentes de estos microorganismos son: la escorrentía agrícola, las aguas residuales y las heces de animales silvestres y domésticos (Servais et al., 2007, Cho et al., 2010). Otra potencial fuente de contaminación fecal está relacionada con las bacterias fecales presentes en el sedimento de los lechos de las corrientes de agua (Cho et al., 2010a; Pachepsky y Shelton, 2011).

En la actualidad se utilizan las bacterias indicadoras de contaminación fecal (BICF) para determinar la calidad microbiológica de los ecosistemas acuáticos. Entre las más utilizadas se encuentran los coliformes totales y fecales, aunque la abundancia de *Escherichia coli* se ha asociado más al riesgo sanitario en comparación con el resto de los coliformes (Prats et al., 2008). Las BICF han demostrado ser una buena alternativa para predecir la presencia de patógenos humanos, debido a las limitaciones de hacer un monitoreo directo (identificación y cuantificación) de muchos de éstos (Girones et al., 2010).

En Colombia, el acceso al agua potable alcanzó una cobertura del 92% en el 2012, con una importante diferencia entre el 99% de cobertura en el área urbana y el 72% en la rural, donde aún hay un elevado porcentaje de la población sin acceso al agua potable (OMS y UNICEF, 2014). El municipio de Timbio, Cauca, presenta una cobertura del 88,5%; sin embargo, se presentan problemas de calidad del agua, siendo su consumo uno de los principales factores en la aparición de patologías como diarrea y gastroenteritis, las cuales constituyen la segunda causa de consulta médica en el municipio (Centro de Salud Timbio E.S.E, 2014). En Timbio, el acueducto rural El Saladito suministra agua a 6515 usuarios, lo que corresponde aproximadamente al 19% de la población de municipio. El acueducto toma el agua de cuatro fuentes superficiales pero no realiza ningún tipo de tratamiento al agua.

Teniendo en cuenta lo anterior y con el objeto de contribuir al conocimiento de las condiciones microbiológicas de las fuentes de abastecimiento del acueducto rural El Saladito en el presente estudio: 1) se identificaron las principales fuentes de contaminación en las microcuencas abastecedoras, 2) se emplearon los grupos bacterianos: coliformes totales, *E. coli* y *Clostridium perfringens* como indicadores de contaminación fecal en el agua y el sedimento de las fuentes superficiales y 3). se evaluó la presencia del patógeno humano emergente *H. pylori* en el agua de las fuentes superficiales.

1. MARCO CONCEPTUAL

1.1 EL AGUA DULCE COMO RECURSO

La Tierra contiene aproximadamente $1,385 \times 10^6$ millones de Km^3 de agua. Sin embargo, solo el 2,5% es agua dulce; el resto (97,5%) es salada (Shiklomanov et al., 2004). Los recursos hídricos del planeta participan infinitamente en un ciclo: el ciclo del agua, el cual constituye el mayor movimiento de materia en el planeta. El agua es el elemento básico del sistema que soporta la vida en el planeta y es el principal componente de los tejidos. Siendo el único compuesto que, en el intervalo de temperaturas presentes en la Tierra, se presenta en tres fases de la materia (sólida, líquida, y gaseosa). La presencia de agua en estado líquido es indispensable para el sostenimiento y la reproducción de la vida. Así, el agua no puede ser reemplazada por ninguna otra sustancia.

La distribución de las masas de agua dulce en el mundo indica que, además de ser escaso, este recurso se distribuye de manera muy irregularmente en la superficie de la Tierra. El crecimiento acelerado de la población humana y el notable desarrollo industrial han aumentado las demandas de agua. La demanda de agua proviene de cuatro fuentes principales, la agricultura, la producción de energía, usos industriales y de consumo humano. Desde principios del siglo XX la población mundial se ha triplicado pero la demanda de agua dulce se ha sextuplicado. De acuerdo con el Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2014, se prevé que la demanda mundial de agua (en términos de extracción de agua) aumentará cerca de un 55% para el año 2050, principalmente debido a la creciente demanda de la producción (400%), generación de energía térmica (140%) y consumo doméstico (130%) (UNESCO, 2014).

La supervivencia, bienestar y desarrollo socioeconómico de la humanidad requieren tener garantizando el acceso a un suministro adecuado de agua, tanto en cantidad como en calidad (Bartram et al., 2014). La contaminación de las fuentes de aguas naturales y la amenaza sobre la perpetuidad de las aguas superficiales, constituyen problemas centrales para la conservación de los hábitats acuáticos y para garantizar la disponibilidad del recurso hídrico de buena calidad y suficiente cantidad.

1.2 CRISIS DEL AGUA Y EL RIESGO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN EL MUNDO EN VÍA DE DESARROLLO

El 28 de julio de 2010, la Asamblea General de las Naciones Unidas votó a favor de reconocer el acceso al agua potable y al saneamiento como un derecho humano (URL: <http://www.un.org/press/en/2010/ga10967.doc.htm>). El acceso al agua potable ha sido durante mucho tiempo un objetivo central de la salud pública y la política de desarrollo internacional. Uno de los Objetivos de Desarrollo del Milenio busca mejorar el acceso seguro al agua potable y saneamiento básico (OMS y UNICEF, 2014). El objetivo original era que en el 2015 se redujera a la mitad la proporción de personas sin acceso a agua potable segura y saneamiento básico. La meta de acceso al agua potable se logró en 2010; sin embargo, para el saneamiento básico aún no se ha cumplido. Se estima que 2000 millones de personas entre 1990 y 2010 han obtenido acceso a una fuente mejorada de agua potable, pero aun 700 millones carecen de acceso (OMS y UNICEF, 2014).

En América Latina y el Caribe, cerca de 38 millones de personas no tienen acceso a fuentes de agua potable y las enfermedades de origen hídrico aparecen entre las tres principales causas de muerte, con el consecuente impacto en la salud pública de la región (URL: <http://www1.paho.org/saludenlasamericas/docs/sa-2012-resumen.pdf>). Si bien la tasa media global de uso de fuentes mejoradas de agua en la región es de 94%, la cobertura varía enormemente de un país a otro e incluso dentro de un mismo país, existiendo importantes desigualdades en la cobertura entre las zonas rurales y las urbanas (OMS y UNICEF, 2014).

El Programa Conjunto de Monitoreo para el Abastecimiento de Agua y Saneamiento evalúa el acceso al agua potable se con referencia a la proporción de personas que utilizan una fuente de agua potable mejorada: conexiones domiciliarias, grifos públicos, pozos perforados, pozo excavado protegido, manantial protegido y acopio de agua de lluvia. Acorde con este informe se estima que para 2012, el 91% de los colombianos hicieron uso de una fuente de agua potable mejorada. El acceso a agua potable en las zonas urbanas es del 94%; sin embargo en las zonas rurales cerca del 26% se encontraban aun sin acceso al agua potable (OMS y UNICEF, 2014).

De acuerdo al documento “Cauca frente a los Objetivos de Desarrollo del Milenio” elaborado por PNUD y la Universidad del Cauca y según información del último censo DANE 2005 (URL: http://www.pnud.org.co/2012/odm2012/odm_cauca.pdf), la cobertura de acueducto en el departamento del Cauca era del 43,9%, para las cabeceras municipales del 93% y para el resto del departamento del 46,8%. La cobertura de acueducto para cada municipio se detalla en el documento “Caracterización ambiental-Plan departamental de aguas y saneamiento básico-Cauca”, realizado por la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC) (URL: http://crc.gov.co/files/ConocimientoAmbiental/AMB_PDA_CAUCA.pdf).

A nivel mundial las enfermedades relacionadas con el consumo de agua contaminada son una carga importante en la salud pública (Montgomery y Elimelech, 2007). El principal riesgo proviene de la ingestión de agentes patógenos de origen fecal, por ejemplo, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* y *Shigella*. Una revisión sistemática de literatura identificó 345 estudios con datos de calidad de agua para consumo y estimó la exposición global a contaminación fecal en el agua de consumo (Bain et al., 2014a). El estudio sugiere que 1800 millones de personas utilizan una fuente de agua de consumo que sufre de algún grado de contaminación fecal. De especial preocupación son las enfermedades que están relacionadas con el agua y que desproporcionadamente afectan a los más pobres. Un reciente meta-análisis de los países de bajo y medio ingreso demostró que la contaminación fecal del agua potable es más probable en países de bajo ingreso y en las zonas rurales (Bain et al., 2014b).

De acuerdo con el análisis de la calidad del agua para consumo humano y su asociación con la morbimortalidad en Colombia durante el periodo 2008-2012, se encontró un alto porcentaje de municipios en los que el valor de potabilidad del agua no se ajustaba a lo establecido por la norma vigente; además se identificaron problemas relacionados con la presencia de *E. coli* y de coliformes totales, siendo estos más agudos en la zona rural. Se concluye que la calidad del agua demostró tener un impacto importante en la mortalidad infantil (Guzmán et al., 2015).

1.3 ¿CÓMO SE CONTAMINA EL AGUA?

El término calidad del agua es relativo y solo tiene importancia universal si está relacionado con el uso del recurso. Esto quiere decir que una fuente de agua suficientemente limpia que permita la vida de los peces puede no ser apta para la natación y un agua útil para el consumo humano puede resultar inadecuada para la industria. Para decidir si el agua califica para un propósito particular, su calidad debe especificarse en función del uso que se le va a dar (OMS, 2011).

El agua se considera contaminada cuando hay una alteración de sus características y condiciones de tal manera que es inadecuada o menos adecuada para cumplir con los propósitos a los cuales se destinaria si estuviera en su estado natural. La calidad del agua se ve afectada por una amplia gama de procesos naturales y humanos. Los procesos naturales más importantes son los hidrológicos, físicos, químicos y biológicos, descritos en detalle por Strobl y Robillard (2008). Los efectos de las actividades humanas sobre la calidad del agua son a la vez amplios y variados en el grado a los que alteran el ecosistema y/o restringen el uso del agua. La contaminación antrópica se puede dividir en dos tipos de contaminación 1) contaminación puntual, como la descarga de aguas residuales y 2) contaminación no puntual o difusa, como los contaminantes, que en concentraciones bajas, cubren grandes áreas y que están directamente

influenciadas por el ciclo hidrológico, como la escorrentía de áreas urbanas y agrícolas (Sliva et al., 2001).

La calidad del agua superficial puede verse afectada por el uso del suelo, el clima, la topografía y la geología asociada con la cuenca hidrográfica (Delpla y Rodriguez, 2014). El uso del suelo se ha identificado como una fuente importante de contaminación con respecto a la concentración de microorganismos fecales (Kelsey et al., 2004). La principal fuente de contaminación microbiana en cuencas con predominio de actividades agrícolas son las heces generadas a partir de la producción ganadera. La carga microbiana puede ser aportada por fuentes puntuales como instalaciones de manejo y alimentación, y fuentes no puntuales, como praderas y pastizales de pastoreo (Jamieson et al., 2004). Esta contaminación de acuerdo con su origen se puede dividir en cuatro categorías: (i) las zonas donde el estiércol se aplica en superficie, (ii) áreas en las que el estiércol se incorpora al suelo, (iii) áreas en las que el estiércol es depositado directamente por el ganado, y (iv) áreas sin estiércol. Las heces de la población que habita las cuencas también constituyen una fuente de contaminación, los factores más importantes en relación a esta fuente esta: la densidad y distribución de las viviendas y los sistemas sépticos.

Existen dos principales reservorios de bacterias en cuencas rurales: la tierra y el cauce. La movilización de bacterias desde la tierra está relacionada con los procesos hidrológicos en las laderas mientras que en el cauce se relaciona con los procesos fluviales (Jamieson et al., 2004). El transporte de patógenos de estas áreas a las corrientes de agua está vinculada a factores temporales, espaciales y a la escorrentía (Díaz et al., 2010). Una comprensión en profundidad de las fuentes de contaminación fecal es de vital importancia para mejorar los esfuerzos de gestión de los recursos hídricos para la preservación de la calidad del agua, al tiempo que permite la acción de remediación de sitios contaminados de una manera eficaz (Tran et al., 2015).

Lo anteriormente mencionado se resume en un esquema conceptual de los procesos que afectan las dinámicas de las BICF en los sistemas tropicales, elaborado por Rochelle-Newall et al. (2015) (Figura 1). El diagrama señala claramente tres fuentes de BICF donde la primaria son los humanos y el ganado, la secundaria es la escorrentía superficial y terciaria el sedimento. La información del aporte de cada fuente se encuentra muy bien detallada su revisión.

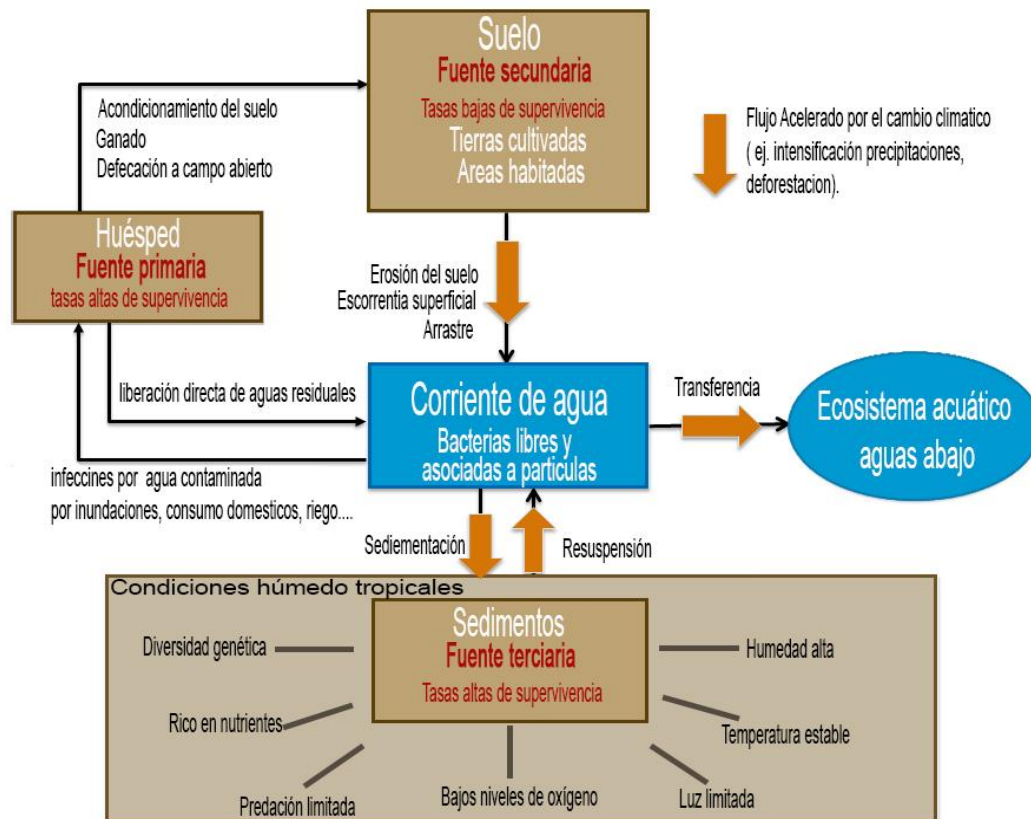


Figura 1. Diagrama conceptual de las fuentes primarias, secundarias y terciarias de bacterias de origen fecal en ambientes húmedo tropicales.

Los humanos y el ganado son la fuente primaria de bacterias indicadoras de contaminación fecal y son responsables de la contaminación directa del suelo y el agua. El reservorio secundario comprende las tierras cultivadas y las áreas rurales habitadas que han sido contaminadas por las fuentes primarias. La fuente terciaria comprende los sedimentos y la zona hiporreica que ofrecen que son más similares a tracto intestinal del huésped: baja o ausencia de luz por la densidad de la vegetación riparia, bajas condiciones de oxígeno, predación reducida por parte de protozoos y alta materia orgánica y concentración de nutrientes. Tomado y traducido de la versión original de Rochelle-Newall et al. (2015).

1.3.1 Sedimentos potencial reservorio de bacterias de origen fecal y patógenos

Los sedimentos son materiales fragmentados que se forman básicamente por la desintegración física y química de las rocas de la corteza terrestre (Bowles, 1984). La concentración de sedimentos en los ecosistemas acuáticos es el resultado del arrastre de partículas sólidas de suelo y roca en los cauces y sus márgenes. En los cauces naturales se pueden encontrar partículas de una gran variedad de tamaños, formas y composiciones. Los sedimentos en ambientes acuáticos pueden constituirse en un depósito de diverso tipos de contaminantes. Se ha demostrado que los sedimentos pueden acumular organismos patógenos y BICF a concentraciones entre 10 y 10000 veces mayor que la columna de agua por encima (Davies et al., 1995; Pachepsky y Shelton, 2011; Pote et al., 2009). Varios

estudios han demostrado que los sedimentos son un importante reservorio de BICF en ambientes de agua dulce (An et al., 2002; Lee et al., 2006).

1.4 PATÓGENOS EN EL AGUA

Los microorganismos que se transmiten por el agua crecen generalmente en el intestino y abandonan el cuerpo con las heces; el agua puede estar por lo tanto contaminada por heces y si un nuevo hospedador consume el agua, el patógeno puede colonizar el intestino y causar enfermedad. El número exacto de patógenos necesarios para causar enfermedad depende de la virulencia del patógeno y de la capacidad del hospedero para resistir la infección (OMS, 2011). Los patógenos que potencialmente pueden infectar a los humanos se pueden dividir en tres categorías: Bacterias, protozoos y virus. Entre las bacterias patógenas se incluyen *E. coli* 0157:H7, salmonella, shigella, vibro cholerae y *H. pylori*. Protozoos de interés incluyen *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*. Virus infecciosos que se encuentran en los sistemas de agua incluyen *Enterovirus*, *Rotavirus*, *Hepatitis A* y *Reovirus* (Aw Y Rose, 2012; Cabral, 2010; Girones et al., 2010).

1.5 HELICOBACTER PYLORI, PATÓGENO EMERGENTE Y SU RELACIÓN CON EL CONSUMO AGUA CONTAMINADA

Un patógeno humano común es el *H. pylori*, el cual infecta a más del 50% de la población mundial (Ahmed et al., 2009) y más del 70% de esta población se encuentran en países en desarrollo (Gião et al., 2008; Janzon et al., 2009; Kim et al., 2011). Esta bacteria comúnmente infecta la mucosa gástrica de los humanos (Vale y Vítor, 2010). Su presencia se asocia con las úlceras pépticas y duodenales y la gastritis crónica (Twing et al., 2011). La gran mayoría de las infecciones por *H. pylori* son asintomáticas y sólo un pequeño porcentaje de los casos progresan a cáncer (Holman et al., 2014). Sin embargo, se considera un factor de riesgo importante para el desarrollo de cáncer gástrico y linfoma de tejido linfoide asociado a mucosas (Mbulaiteye, 2010). Se estima que el 70% de los cánceres gástricos son causados directamente por este organismo (Kim et al., 2011).

Este microorganismo fue descrito por primera por Barry J. Marshall y Robin Warren en 1983 en asociación con la gastritis crónica y la ulcera péptica (Marshall and Warren, 1984). Este hallazgo fue bastante polémico en ese entonces, pues la idea de que una infección bacteriana fuese responsable del desarrollo de lesiones en la mucosa gástrica del estómago genero amplio debate. En 2005 y dado el cuerpo de la evidencia científica, estos dos investigadores australianos fueron galardonados con el Premio Nobel en Medicina (Ahmed, 2005).

H. pylori es una bacteria Gram negativa, microaerófila con forma de espiral, ureasa, oxidasa y catalasa positiva y móvil por medio de flagelos polares (García et al., 2014). Aunque la forma de espiral era la única morfología originalmente descrita, se sabe ahora que este patógeno también puede asumir una forma cocoide. La forma espiral de *H. pylori* es un bacilo curvo que generalmente es de 2 a 4 μm de largo y 0,5 a 0,8 μm de ancho, mientras que las formas cocoides van de 1 a 4 μm (Azevedo, 2005). La transformación a la forma cocoides puede ser inducida mediante la exposición del microorganismo a condiciones sub-óptimas, tales como privación de nutrientes y la incubación prolonga, lo que sugiere que esta forma latente de *H. pylori* podría desempeñar un papel importante en la supervivencia de la bacteria en un medio hostil (Saito, 2003). La forma cocoide pueden clasificarse en dos categorías, una forma viable cultivable y una en estado viable pero no cultivable, siendo en esta última, metabólicamente activa, pero no en crecimiento activo (Gião et al., 2008; Saito, 2003).

1.5.1 Rutas de trasmisión

La naturaleza del *H. pylori* el nicho de su infección, el estómago humano, sugiere que la ingesta es el medio más probable de adquisición de este patógeno. Sin embargo, los mecanismos exactos de transmisión son desconocidos y son probablemente múltiples (Porrás et al., 2013). Se ha postulado como ruta más probable de transmisión el contacto directo persona a persona, a través de la vía oral-oral, gastro-oral o fecal-oral (Vale y Vítor, 2010). Estas tres rutas de transmisión no son mutuamente excluyentes y podrían estar simultáneamente involucradas en el proceso de infección (Goodman et al., 1996). Bellack et al. (2006) argumentan ampliamente esta ruta de trasmisión. La evidencia que apoya la hipótesis de transmisión a través del agua viene en gran parte de dos grupos de estudios: a) estudios epidemiológicos que muestran asociación entre la prevalencia de *H. pylori* y las fuentes de infección relacionadas con el agua y b) estudios que detectan o aíslan *H. pylori* a partir de fuentes de agua (Aziz et al., 2013).

1.5.2 Detección de *H. pylori* en ambientes acuáticos

Los métodos utilizados para la detección de *H. pylori* en el agua han sido: Immunofluorecencia, cultivo bacteriológico, hibridación fluorescente in situ (FISH) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (García et al., 2014). Hoy en día, los métodos basados en técnicas moleculares, como PCR, son los más sensibles para buscar *H. pylori* en el agua.

1.5.2.1 La reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Esta técnica fue desarrollada por Kary Mullis, quien recibió el Premio Nobel de Química en 1993. Es el método por el cual se sintetizan copias in vitro de secuencias específicas de ADN. La PCR amplifica fragmentos de hasta algunos miles de bases (la diana) de una molécula de ADN más grande (el molde) (Mullis et al., 1987).

Para llevar a cabo la técnica de PCR se requiere ADN. De este modo de debe extraer el ADN genómico de las muestras. La extracción de ADN se puede resumir en tres etapas:

- 1) Lisis de pared celular por tratamiento enzimático.
- 2) Purificación del ADN.
- 3) Almacenamiento del ADN.

Cuando se extrae ADN para ser usado en PCR es importante conocer su concentración y calidad del ADN en las muestras. Las muestras pueden ser evaluadas cuantitativamente por espectrofotometría (McPherson et al., 1995).

Las etapas de la amplificación del ADN por PCR se pueden resumir como sigue:

- 1) Se sintetizan dos oligonucleótidos cebadores flanqueando el ADN diana, se añaden en exceso a un ADN molde desnaturalizado por calor.
- 2) A medida que se enfría la mezcla, los cebadores en exceso respecto al molde de ADN aseguran que la mayoría de cadenas moldes se aparean con un cebador y no entre sí.
- 3) A continuación, la ADN-polimerasa extiende los cebadores usando el ADN original como molde.
- 4) Tras un periodo de incubación adecuado, la mezcla se calienta de nuevo para separar las cadenas.
- 5) Después, la mezcla se enfría para permitir la hibridación de los cebadores con las regiones complementarias del ADN recién sintetizado, y se repite todo el proceso (Madigan et al., 2009).

Como la técnica consiste en varios pasos altamente repetitivos, las máquinas de PCR, llamadas termocicladores funcionan en ciclos de calentamiento y enfriamiento. La DNA-polimerasa de *T. aquaticus*, llamada *Taq*-polimerasa es estable a 95°C y, por lo tanto, no se ve afectado por el paso de desnaturalización utilizado en la PCR (Madigan et al., 2009).

Cualitativamente se puede evaluar los productos de la PCR mediante electroforesis con gel de agarosa, un polisacárido. Esta técnica permite separar fragmentos de ADN, moléculas cargadas, que migran en un campo eléctrico a través de un medio poroso. Cuando se aplica una corriente eléctrica, los ácidos nucleicos se mueven por el gel hacia el electrodo positivo a causa de sus grupos fosfatos cargados negativamente. La velocidad de migración ésta determinada por la carga de la molécula y por su tamaño. La presencia de la malla que forma el gel dificulta el progreso del ADN, y las moléculas pequeñas o compactas migran más rápidamente que las grandes. Para hacer la lectura del corrido en el gel es posible mediante un teñido. El compuesto se une al ADN, y el ADN emitirá fluorescencia bajo luz ultravioleta. Para estimar el peso molecular del ADN se emplea una escalera de fragmentos con diferentes pesos moleculares. Conociendo el tamaño

de los fragmento a evaluar se puede determinar la positividad o negatividad del ensayo (Madigan et al., 2009).

1.6 USO DE BACTERIAS COMO INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL

El agua de consumo puede estar contaminada con bacterias patógenas, lo cual es un tema de gran preocupación. Sin embargo, la presencia de bacterias patógenas en el agua es esporádica y errática, los niveles son bajos, y el aislamiento y el cultivo de estas bacterias no es sencillo (Girones et al., 2010). Por estas razones, el análisis microbiológico de rutina en agua no incluye la detección de bacterias patógenas. Sin embargo, el agua potable exige que el agua esté libre de bacterias patógenas (Montgomery y Elimelech, 2007; OMS y UNICEF, 2014).

Debido a las limitaciones y costo de hacer un monitoreo directo de patógenos, una práctica estándar es el monitoreo de organismo de origen entérico, tales como coliformes totales y fecales, *E. coli* y *C. perfringens* en el agua (Field y Samadpour, 2007). Las bacterias indicadores son aquellas que tienen un comportamiento similar a los patógenos en cuanto a concentración en las aguas y reacción frente a factores ambientales, pero son más fáciles, rápidos y económicos de identificar. Un buen indicador de contaminación fecal debe ser un constituyente normal de la microbiota intestinal de individuos sanos, estar presente de forma exclusiva en las heces de animales homeotermos y presentarse en número elevado cuando los microorganismos patógenos intestinales estén lo que facilita su aislamiento e identificación, debe ser incapaz de reproducirse fuera del tracto gastrointestinal del ser humano y de los animales homeotermos, su tiempo de supervivencia y resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de las bacterias patógenas (Savichtcheva y Okabe, 2006).

Actualmente los estándares de calidad de agua están basados en la concentración de los organismos indicadores. Los niveles aceptables de BICF han sido determinados a partir de estudios epidemiológicos y limitan el uso del agua para: consumo humano, riego, abreviar ganado y la recreación (URL: http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/upload/2001_10_12_criteria_a mbientwqc_bacteria1986.pdf).

1.6.1 Bacterias coliformes

Grupo bacteriano que está conformado por una amplia variedad de bacilos, los cuales se pueden dividir en tres sub grupos:

1) coliformes totales: son un grupo de bacterias gram negativas en forma de bacilos que fermentan la lactosa a temperatura de 35 a 37 °C y producen ácido y gas (CO₂) en 24 h, aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa, no forman esporas y presentan actividad enzimática β-galactosidasa (Rompre et al., 2002), entre los coliformes se encuentran bacterias como *E. coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Cabral, 2010).

2) Coliformes fecales: tienen las mismas propiedades de fermentación que los coliformes totales pero a una temperatura de 44°C, por esta razón son conocidos como coliformes termotolerantes (Rompré et al., 2002).

3) *Escherichia coli*: miembro de la familia *Enterobacteriaceae*. Es una coliforme termotolerante el cual, entre otras cosas, produce indol a partir de triptófano a una temperatura de 44 °C presenta actividad enzimática β-D-glucuronidasa (Cabral, 2010; Rompré et al., 2002).

1.6.2 *Clostridium perfringens*

Es una bacteria anaeróbica gram positiva sulfito reductora formadora de esporas en forma de bastón (Manafi et al., 2013). Se encuentra con frecuencia en el suelo. También vive a baja concentración en el tracto intestinal de muchos animales y el hombre. Las condiciones que prevalecen en el tracto intestinal son óptimas para inducir la esporulación de las células vegetativas. Las esporas son excretadas en las heces y posteriormente llegan a los cuerpos de agua. En ambientes acuáticos, las esporas exhiben excepcional longevidad como resultado de su gran resistencia a las condiciones ambientales adversas. Por esa razón, su uso como indicadores de la calidad del agua ha sido objeto de varios estudios (Bisson et al., 1980; Payment y Franco, 1993). Las esporas de *C. perfringens* son útiles para la detección de contaminación fecal remota, previa o intermitente situaciones en las que otras bacterias indicadoras menos resistentes, generalmente no sobreviven (Junqueira et al., 2012).

1.7 PRUEBAS PARA ENUMERACIÓN DE BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN FECAL, MÉTODO BASADO EN CULTIVOS.

Se emplean varias técnicas para determinar coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* en muestras de agua. Todas se basan en el crecimiento de los organismos presentes en las muestras. Los métodos más comunes de recuentos son el procedimiento de número más probable (NMP) y el de filtración por membrana (FM) (Madigan et al., 2009). En el procedimiento de la FM se pasa la muestra de agua a través de una membrana estéril, que atrapa las bacterias sobre la superficie de la membrana. El filtro se coloca sobre una placa con medio de cultivo con un medio selectivo. Después de incubar, se cuentan las unidades formadoras colonia (UFC) y a partir de este valor se calcula el número de bacterias presentes en el volumen de muestra original. Habitualmente el resultado de los conteos se reporta como UFC/100mL o como \log_{10} UFC/100mL.

1.7.1 Medio de cultivo selectivo para coliformes totales y *E. coli*

El medio de cultivo Agar Chromocult® Coliform contiene Tergitol®7, el cual es un inhibidor de bacterias Gram-positivas sin efectos negativos en el crecimiento de las bacterias coliformes. Este medio permite la detección simultánea de coliformes totales y *E. coli* por la combinación de dos sustratos cromogénicos. Los coliformes totales durante su crecimiento utilizan el sustrato Salmon-GAL (6-Cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido) por la acción de la enzima β -D-galactosidasa formando complejos de color rosado a rojo. La bacteria *E. coli* hidroliza el sustrato X-GLUC (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucuronido) mediante la enzima β -D-glucuronidasa; además metaboliza ambos sustratos (Salmon-GAL y X-GLUC), por lo cual las colonias positivas se muestran desde un color azul oscuro a un color violeta (Merck 1.10426.0500). Para mejorar los recuentos y para eliminar interferencias se emplea un suplemento selectivo para *E. coli*/coliformes, el cual es una mezcla de dos antibióticos, Vancomicina (2.5 mg/vial) y cefsulodina (2.5 mg/vial) en su forma liofilizada. La vancomicina inhibe el crecimiento de bacterias gram negativas y la cefsulodina suprime a *Pseudomonas spp.* y *Aeromonas spp.* (Merck 1.00898)

1.7.2 Medio de cultivo selectivo para *C. perfringens*

El medio de cultivo agar SPS o agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina contiene un amplio espectro de nutrientes. El sulfito es reducido a sulfuro por la mayoría de *clostridium* (incluyendo *C. perfringens*), el cual reacciona con el citrato de hierro y hace que las colonias adquieran un color negro. Otros microorganismos sulfito reductores son suprimidos en gran parte por la polimixina y sulfadiazina. Contenido: Peptona de caseína, extracto de levadura, citrato de hierro (III), sulfito de sodio, Sulfato de polimixinaB, sulfadiazina de sodio y agar (Merck 1.10235.0500).

1.8 NORMATIVIDAD COLOMBIANA, CRITERIOS DE CALIDAD EN AGUAS Y NIVELES PERMITIDOS DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINACIÓN FECAL.

En Colombia actualmente la normatividad para el recurso hídrico está reglamentada por el Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible, Decreto 1076 de 2015. El cual compilo la normativa vigente al momento de su expedición. De acuerdo con el art. 76 del Decreto 3930 de 2010, el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible fijará mediante resolución, los usos del agua y criterios de calidad para cada uso. Mientras se expide las regulaciones, continuarán transitoriamente vigentes, entre otros, los artículos: 38 a 43, del Decreto 1594 de 1984, los cuales establecen Niveles guía de calidad microbiológica (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles guía de calidad microbiológica discriminado por el uso. Decreto 1594 de 1984.

| Uso del Agua | | Indicadores microbiológicos-valor guía | | Artículo |
|---------------------|--------------------------|--|--------------------------------|----------|
| | | Coliformes totales (NMP/100mL) | Coliformes fecales (NMP/100mL) | |
| Para potabilización | Tratamiento convencional | 20000 | 2000 | 38 |
| | Desinfección | 1000 | --- | 39 |
| Uso agrícola | | 5000 | 1000 | 40 |
| Fines recreativos | Contacto primario | 1000 | 200 | 42 |
| | Contacto secundario | 5000 | --- | 43 |

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica del agua y el sedimento de cuatro fuentes de abastecimiento del acueducto rural el Saladito, Timbío, Cauca

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Describir las principales fuentes de contaminación en las microcuencas Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio.
- 2) Establecer la concentración de bacterias indicadoras de contaminación fecal en el agua y los sedimentos colectados.
- 3) Evaluar la presencia de *H. pylori* en las muestras de agua colectadas, empleando técnicas de biología molecular.
- 4) Generar recomendaciones para el control y manejo de las fuentes de contaminación en las zonas de drenaje de las fuentes de agua superficial.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio comprende dos microcuencas 1) Presidente y 2) Cristalares. Para efectos del presente estudio, las dos microcuencas se subdividieron a su vez en dos zonas de drenaje cada una, por tanto desde este momento se hablara de las microcuencas Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio. Las microcuencas pertenecen a la subcuenca rio las Piedras que a su vez es vertiente de la cuenca rio Patía (Tabla 2). La microcuencas Presidente y Cristalares pertenecen a la jurisdicción político-administrativa de los municipios de Sotará y Timbio, respectivamente, en el departamento del Cauca. La posición geográfica del área de estudio se presenta en la Figura 2.

Tabla 2. Jerarquización de las microcuencas.

| Estaciones de muestreo | de Quebrada | Microcuenca | Subcuenca | Cuenca |
|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|--------|
| CA1 | Salinas | río Presidente | río Las Piedras | Patía |
| CA2 | Presidente | | | |
| CR1 | Cristalares | río Cristalares | | |
| CR2 | Silencio | | | |

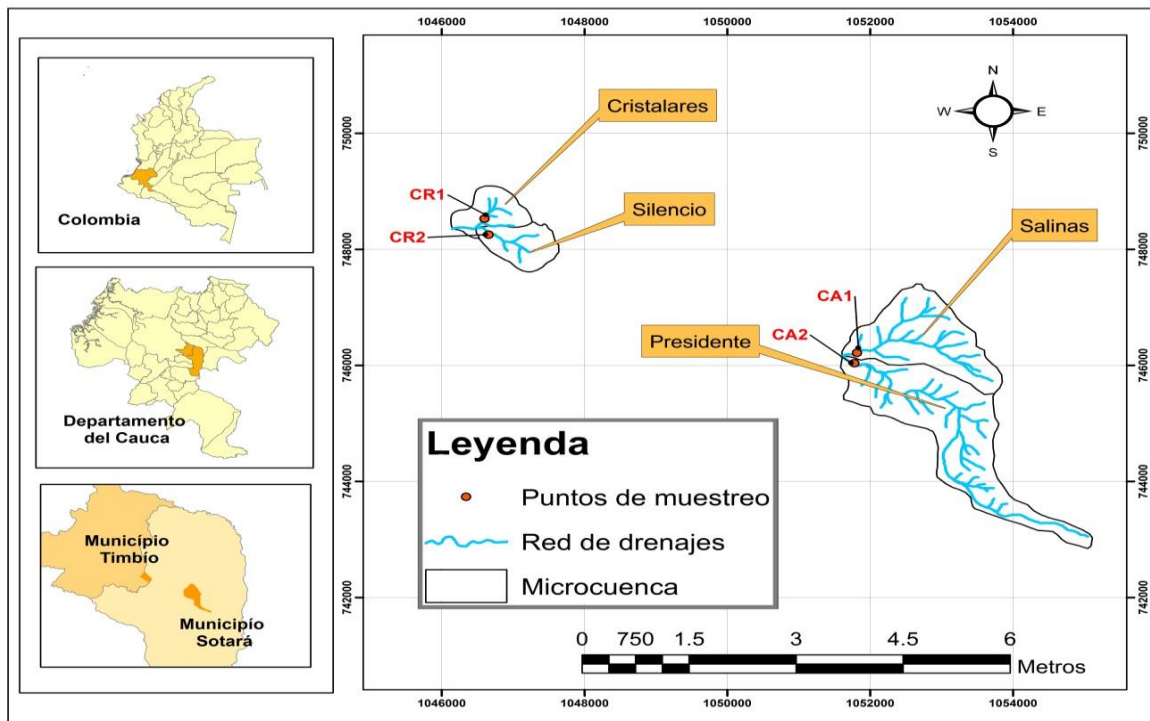


Figura 2. Localización del área de estudio.

Microcuencas: Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio; estaciones de muestreo, CA1, CA2, CR1 y CR2. Red de drenaje. Puntos/estaciones de muestreo.

3.2 IDENTIFICACIÓN DE FUENTES DE CONTAMINACIÓN

A falta de una división oficial de las microcuencas objeto de estudio dado su tamaño, se empleó cartografía de la zona y un Modelo de Elevación Digital (DEM), Del mismo modo se estableció las curvas de nivel y drenajes, empleando programa ERDAS PC V. 7.5, esto con la ayuda del Grupo de Estudios Ambientales (GEA) de la Universidad del Cauca. Con la Corporación Autónoma Región el Cauca (CRC), se obtuvo una imagen satelital (SPOT) del área, la cual se digitalizo para delimitar las coberturas, con la cual se generó un mapa preliminar de las coberturas vegetales de cada una de las microcuencas empleado el software ArcGis 10 (ESRI, Redlands, CA).

Con el fin de establecer las potenciales fuentes de contaminación, puntual y/o difusa, presentes en el área de drenaje de las quebradas y corroborar la información del mapa preliminar, se realizaron visitas de campo sobre las márgenes del curso principal y las áreas aledañas en la microcuenca. Los recorridos partieron desde las estaciones de muestreos hasta el punto donde se origina el flujo de agua. En el recorrido se tomó registro fotográfico y toda la información colectada en campo fue georeferenciada (registro de latitud y longitud) empleando un Sistema de Posicionamiento Global (GPS Montana® 650, Garmin International, Olathe, Kans.)

Posteriormente, la información recolectada se sistematizó y se definieron las principales fuentes de contaminación en las microcuencas. También, se incorporaron las modificaciones que surgieron de las visitas de campo y se elaboró el mapa final de coberturas. De acuerdo al alcance del estudio, el detalle de la imagen satelital y los hallazgos en el recorrido en campo, se realizó una clasificación en tres 3 categorías: Ripario, plantación forestal y pastos. Las categorías están basadas en la Leyenda nacional de coberturas de la tierra. Metodología CORINE Land Cover adaptada para Colombia, escala 1:100.000 (IDEAM, 2010).

3.3 COLECCIÓN DE MUESTRAS

Se realizaron 24 jornadas para coleccionar muestras de agua y sedimento en cada una de las estaciones de muestreo, una por semana, entre finales de enero y julio de 2015. Las muestras de agua se coleccionaron en botellas estériles de 500mL de polipropileno, siguiendo las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud (INS, 2011). El sedimento se coleccionó mediante un muestreador manual de PVC de 50cm de largo con un diámetro de 1 pulgada e introduciéndolo hasta 5cm en el fondo del cauce (Garrido-Pérez et al., 2008). Posteriormente, el núcleo de sedimento se almacenó en bolsas whirlpack estériles. Tanto las muestras de agua como las de sedimento se coleccionaron por triplicado. Todas las muestras se transportaron al

laboratorio en contenedores de hielo a una temperatura de 4°C y se procesaron dentro de las 6h siguientes a su colecta. Ver Anexo A.

3.4 REGISTRO DE LLUVIAS

En cada jornada de muestreo se les pregunto a los habitantes de dos viviendas, por los días donde se presentaron lluvias durante los 8 días previos al muestreo. Se seleccionó una vivienda para CA1 y CA2 y la otra para CR1 y CR2, en razón de la cercanía entre las microcuencas.

3.5 MEDICIÓN DE CAUDAL

Para calcular el caudal (Q) se empleó el método de aforo por flotador en las quebradas CA1, CA2, CR2 y aforo volumétrico en CR1, ver Anexo B. Estos métodos son descritos detalladamente en el Manual de Procedimientos Hidrométricos (CVC y Universidad del Valle, 2005). Para el primer método se seleccionaron dos secciones transversales en un tramo recto de los cursos de agua. Se calculó la velocidad del flujo (v) registrando el tiempo (t) que le toma a un flotador recorrer la distancia (l) entre secciones. La velocidad del flujo es el promedio de 20 observaciones (Ecuación 1). Se dividieron las secciones transversales en franjas de 10cm de ancho y se midieron las profundidades (h) de cada franja, con el fin de calcular el área (A) de las secciones (Ecuación 2). De este modo para calcular el caudal se tuvieron en cuenta la velocidad del flujo y el área media de las secciones transversales (Ecuación 3).

$$v = \frac{l}{(\sum_{i=0}^{20} t_i)/20} \text{ (m/s) (Ecuación 1)}$$

$$A = \sum_{i=0}^n \left(\frac{h_i + h_{i-1}}{2} \right) \times 10 \text{ (m}^2\text{) (Ecuación 2)}$$

$$Q = \left(\frac{A_1 + A_2}{2} \right) \times v \text{ (m}^3\text{/s) (Ecuación 3)}$$

Para el método volumétrico fue necesario canalizar la quebrada en tubo de 4 pulgadas y posteriormente se registró el tiempo requerido para llenar un recipiente de 20 L. De este modo el caudal está dado por el volumen del recipiente (V) y el tiempo de llenado (t). El caudal es el promedio de 5 observaciones (Ecuación 4).

$$Q = \frac{20}{\sum_{i=0}^5 t_i} \text{ (l/s) (Ecuación 4)}$$

La información de los aforos con flotador y volumétrico se registró en formatos de captura de datos en campo. En los dos formatos se registró también los datos del muestreo (Ej. número de muestreo, días de lluvia previos, estación de muestreo

etc.), condiciones ambientales durante la toma de muestras y fecha y hora del muestreo y la recepción de las muestras en el laboratorio, ver Anexo C.

3.6 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DEL SEDIMENTO

3.6.1 Determinación del porcentaje de humedad del sedimento

Para determinar el contenido de humedad de las muestras de sedimento, se tomaron 15g de muestra fresca en una capsula de porcelana y llevada a un horno a 105°C durante 24h (Garrido-Pérez et al., 2008). El porcentaje de humedad se calculó teniendo en cuenta el diferencial de peso entre la muestra fresca (m_f) y la muestra seca (m_s) (Ecuación 5).

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_f - m_s}{m_s} \times 100 \text{ (Ecuación 5)}$$

3.6.2 Determinación del porcentaje de materia orgánica del sedimento

Después de haber secado las muestras de sedimento a 105°C durante 24h se llevaron a calcinación en una mufla a 550°C por 1h (Garrido-Pérez et al., 2008). El contenido de materia orgánica, fracción volátil, se calculó teniendo en cuenta el diferencial de peso entre la muestra seca (m_s) y la muestra calcinada (m_c) (ecuación 6). La información empleada para determinar la humedad y el contenido de materia orgánica se diligencio en un formato de registro, ver Anexo D.

$$\% \text{ materia orgánica} = \frac{m_s - m_c}{m_s} \times 100 \text{ (Ecuación 6)}$$

3.6.3 Análisis granulométrico de sedimento por tamizado:

Una muestra de aproximadamente 1.5kg de sedimento se tomó para cada sitio para el ensayo de granulometría. Las muestras de sedimento se colocaron un recipiente metálico y se secaron en un horno a $110 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 24h, el peso fue registrado (P_i). Posteriormente se colocó las muestras secas en recipientes con agua y se dejó en remojo, hasta que todos los terrones se ablandaron. A continuación se lavaron las muestras sobre el tamiz de 75 μm (No.200) con abundante agua. El material retenido se colocó un recipiente metálico y se secó en un horno a $110 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 24h, el peso fue registrado (P_f). El material seco se tamizo de manera manual, el peso de cada fracción retenida fue registrado, los tamices utilizados fueron: 12,5mm (1/2"), 9,5mm (3/8"), 4,75mm (No4), 2,36mm (No8), 1,10mm (No16), 600 μm (No30), 300 μm (No50), 150 μm (No100), 75 μm (No200). El peso de cada fracción (P_n , $n = \text{numero de tamiz}$) se expresó como un porcentaje del peso total, P_1 , (Ecuación 7), incluyendo el peso de la fracción < al N°200 (P_{200}), la cual se calculó por sustracción (Ecuación 8) (I.N.V.E – 123 – 07). Los datos obtenidos se anotaron en un formato de registro, ver Anexo E).

$$\%P_n = \frac{P_n}{P_1} \times 100 \text{ (Ecuación 7)}$$

$$P_{200} = P_i - P_f \text{ (Ecuación 8)}$$

3.6.4 Determinación de la Textura de sedimento por el método de Bouyoucos

Las muestras de sedimento se colocaron en un recipiente metálico y se secaron al aire a temperatura ambiente. La muestra se tamizó por el tamiz №200 (75µm). Se tomaron 50g del pasante y se colocó en un recipiente de dispersión (frascos teteros), se llenó con agua destilada hasta 2/3 partes, a continuación se agregó 5ml de dispersante (Hexametáfosfato de sodio) y se dejó reposar por 15min. Luego la muestra se agitó por 2h. Posteriormente se vertió la suspensión en los cilindros de dispersión. Se agitó la muestra con el agitador manual vigorosamente por 30s. Seguidamente se sumergió suavemente el hidrómetro en la suspensión. Se tomó la lectura a las dos horas. Se registró la temperatura para hacer la corrección por esta variable (IGAC, 2006). Los procedimientos para determinar las características fisicoquímicas de las muestras de sedimento se muestran en el Anexo F.

3.7 ANÁLISIS FÍSICOS DE LAS MUESTRAS DE AGUA

Los parámetros físicos que se midieron en las muestras de agua fueron pH, turbiedad, color aparente y conductividad eléctrica y determinados en Laboratorio de Ingeniería Ambiental, ver Anexo G. Las técnicas empleadas están basadas en los Métodos estándar para el análisis del agua y aguas residuales (APHA, 1999). Los datos obtenidos de las mediciones se anotaron en un formato de registro, ver Anexo H).

3.7.1 pH

Se empleó el método potenciométrico (SM 4500H+B). Se tomó una alícuota de agua en un tubo cónico de 50mL. Se lavó el electrodo con agua destilada y se secó con papel absorbente. El electrodo se sumergió en la muestra y agitando suavemente para minimizar la incorporación de CO₂ y lograr una medida más precisa. Después de que la lectura en pantalla se estabilizó y se realizó el registro en unidades de pH.

3.7.2 Turbiedad

Se empleó el método nefelométrico (SM 2130B). Se utilizó el turbidímetro HACH 2100P (HACH, USA). Se agitó la muestra de agua. En una celda perfectamente limpia se adicionó cuidadosamente la muestra, sin que se formaran burbujas. Se tapó la celda y se colocó en el portaceldas. Se esperó unos segundos hasta que en pantalla se mostró el resultado en Unidades nefelométricas de turbiedad (UNT).

3.7.3 Color aparente

Se empleó el método espectrofotométrico (SM 2120C). Se utilizó el espectrofotómetro HACH DR2010 (HACH, USA). Se encendió el equipo y se programó a una longitud de onda de 455nm. Se llenó una celda con agua destilada (blanco), se colocó en el portaceldas y se hace la puesta a cero. Después se llenó una celda con la muestra de agua (sin filtrar) y se colocó en el portaceldas y luego de unos segundos, se visualizó en pantalla el resultado en unidades de platino-cobalto (UPC).

3.7.4 Conductividad eléctrica

Se empleó el método electrométrico (SM 2110B). Se utilizó el conductímetro HANNA instruments HI 8733 (HANNA instruments, España). Se tomó una alícuota de agua en un tubo cónico de 50mL. La sonda se sumergió en la muestra. Después de unos segundos, se visualizó en pantalla el resultado en $\mu\text{S/cm}$.

3.8 ENUMERACIÓN BACTERIAS INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL.

3.8.1 Pre-tratamiento del sedimento para análisis microbiológicos

Para los análisis microbiológicos en laboratorio, las muestras de sedimento recibieron un tratamiento previo, con el fin de separar las bacterias del sedimento, procedimiento descrito por Byappanahalli et al. (2003). En resumen, se tomaron 6g de sedimento fresco en un tubo cónico estéril de 50 mL y se le agregaron 35mL de agua destilada estéril, la mezcla se llevó a agitación en vórtex durante 5min y se dejó reposar por 30min (Abia et al., 2015). Posteriormente, se tomó el sobrenadante y se transfirió a un nuevo tubo cónico estéril de 50mL. Una vez realizado este proceso, las muestras de agua y el sobrenadante se procesaron de la misma forma para la enumeración de las BICF.

3.8.2 Coliformes totales y *E. coli*

Para la detección de coliformes totales y *E. coli*, se emplearon volúmenes de 1 y 10ml de agua y 1 y 0,1ml de sobrenadante de sedimento, los cuales fueron filtrados empleando una membrana de ésteres de celulosa estériles, de 0,45 μm de poro y 47 mm de diámetro (S-Pak Membrane Filters, Millipore HAWG04756). Los filtros se sembraron sobre placas de Petri dispensadas con medio de cultivo Agar Chromocult® Coliform (Merck, Darmstadt, Alemania), mezclado con suplemento selectivo para *E. coli*/coliformes (Merck, KGaA, Alemania), e incubadas a 37°C \pm 0,5°C por 24h (APHA, 1999). Como controles positivo para *E. coli* y coliformes totales se utilizarán la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, y *Citrobacter freundii* ATCC 8090, respectivamente. Como control negativo se utilizara la cepa *Pseudomona aeruginosa* ATCC 10145.

3.8.3 Clostridium perfringens

Para la detección de esporas de *C. perfringens* se emplearon volúmenes 100ml de agua y 1ml de sobrenadante de sedimento, las muestras se llevaron a baño serológico por 15min a 75°C (Schreiber et al., 2015), a fin eliminar células vegetativas y seleccionar las esporas. Posteriormente, las muestras se filtraron empleando una membrana de ésteres de celulosa estériles, de 0,22µm de poro y 47 mm de diámetro (Sartorius, 11407-47-ACN). Los filtros se colocaron sobre placas de Petri dispensadas con medio de cultivo SPS (Agar selectivo para *Perfringens* según ANGELOTTI) (Merck 1.10235.0500) (ISO 6461-2, 1986), posteriormente se adicióno medio de cultivo líquido sobre el filtro en placa de Petri ,con el fin de confinar el filtro entre dos capas de medio, finalmente las placas se incubaron a 37°C ± 1°C durante 20 h ± 4h, en condiciones de anaerobiosis dentro de una Jarra anaeróbica, de cierre hermético (Merck 1.16387.0001) en presencia de una bolsa AnaeroGen™ (Oxoid AN0025) y del indicador de anaerobiosis Anaerotest® (Merck 1.15112.0001) (Lanao et al., 2008).

La técnica de filtración por membrana empleada en la enumeración de las bacterias se muestra en el Anexo I. La información relacionada con el conteo de colonias de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* se diligenciaron en formatos de registro, ver Anexo J.

3.9 DETECCIÓN DE ADN DE H. PYLORI

3.9.1 Extracción de ADN genómico bacteriano.

Para la extracción de ADN genómico, las muestras de se concentraron a 4000 x rpm durante 15min, el pellet resultante se aisló para extraer el ADN usando el E.Z.N.A. ® Tissue DNA Kit siguiendo las instrucciones del fabricante (Omega, USA). La concentración y calidad del ADN extraído se determinó por espectrofotometría mediante la relación de absorbancia A260/A280, usando un espectrofotómetro UV–Vis Nanodrop 2000™ (NanoDrop, DE). El ADN extraído se almacenó a -30°C hasta su uso.

3.9.2 Multiplex PCR.

La presencia de *H. pylori* se determinó por los alelos s y m del gen vacA y el gen CagA, según metodología descrita y estandarizada previamente en el Laboratorio de Genética Humana, Universidad del Cauca (Acosta et al., 2013). Fue utilizada la prueba PCR múltiplex, empleando el estuche Qiagen Multiplex PCR® para amplificar los genes vacA y CagA, con las secuencias de cebadores descritos en la Tabla 3.

Tabla 3. Primers utilizados en este estudio para detección de *H. pylori* en el ADN extraído.

| Región de ADN amplificado | ADN primer | Secuencia (5'-3') | Tamaño producto de PCR (bp) | Referencia |
|---------------------------|------------|------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| vacA s1/vacA s2 | VAI-F | ATGGAAATACAACAAACACAC | 259/286 | (Atherton et al., 1995) |
| | VAI-R | CTGCTTGAATGCGCCAAAC | | |
| vacA m1/vacA m2 | VAG-F | CAA TCTGTCCAATCAAGCGAG | 567/642 | (Atherton et al., 1999) |
| | VAG-R | GCGTCTAAATAATTCCAAGG | | |
| cagA | cag5c-F | GTTGATAACGCTGTCGCTTC | 350 | (Chattopadhyay et al., 2004) |
| | cag5c-R | GGTTGTATGATATTTCCATAA | | |

La reacción incluyó una mezcla de 5µL de ADN genómico bacteriano, 1x de Qiagen Master Mix®, 0,3pmol/µL de cada cebador, 2µL de agua libre de RNAsas en un volumen de 14µL de reacción. Los productos de amplificación se evidenciaron en geles de agarosa al 1,5% por mediante visualización bajo luz ultravioleta usando colorante EZ-VISION® THREE, teniendo como referencia las bandas de amplificación de las cepas NCTC 11637 (genotipo: cagA, vacA s1/m1) y 3062 (genotipo: cagA negativo, vacA s2/m2) de *H. pylori*.

Las muestras fueron llevadas al termociclador (MyCycler Termal Cycler™, BIORAD) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial durante 10min a 95 °C, 15 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30s, hibridación a 57°C por 90s y extensión a 70°C por 45s. Además, 25 ciclos más de desnaturalización 94°C durante 30 s, 54°C por 60s, y extensión a 72°C por 60s y finalmente una extensión final a 72°C durante 5min. Las técnicas moleculares empleadas en la detección de *H. pylori* se muestran en el Anexo K. La información relacionada con la prueba y los resultados se apuntaron en un formato de registro, ver Anexo L.

3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico SPSS versión 19.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Se empleó un análisis de varianza ANOVA, y el coeficiente de correlación de Spearman para analizar las diferencias y correlaciones en los conjuntos continuos. Para las variables continuas, se empleó la prueba chi X^2 . Los datos microbiológicos fueron transformados a \log_{10} antes de llevar a cabo todos los análisis estadísticos. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significativa de $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS MICROCUENCAS Y DESCRIPCIÓN DE LAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN

Las fuentes de abastecimiento seleccionadas para este estudio corresponden a fuentes superficiales típicas para zonas montañosas. Estas fuentes son captadas por el acueducto rural El Saladito para abastecer a 6515 usuarios de una comunidad rural en municipio de Timbío. En la Tabla 4 se presentan algunas características de las microcuencas. Las cuatro microcuencas en términos de extensión se pueden ordenar de mayor a menor área (ha) de la siguiente manera: $CA2 > CA1 > CR2 > CR1$. En términos de altitud, CA1 se encuentra en un rango de 2550 a 2250 msnm, CA2 de 3000 a 2250 msnm, CR1 de 2150 a 1900 msnm y CR2 de 2170 a 1850 msnm. En las Figura 3 y 4 se muestran la distribución de los tres tipos básicos de cobertura vegetal que se presentan en estas áreas:

- *Bosque plantado*, con plantaciones forestales de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) y pino (*pinus patula*), siendo esta última la especie más masificada en la zona de las microcuencas Salinas y Presidente, representado aproximadamente el 68 y 36%, respectivamente, del área total de las microcuencas.
- *Bosque natural y/o ripario*, donde se evidencia procesos de deforestación y pérdida de cobertura boscosa natural, está principalmente asociados a las márgenes de las quebradas (riparios), y conformados por especies arbóreas como roble (*Quercus humboldtii*), aliso (*Alnus acuminata*), chilco (*Fuchsia magellanica*), guayacán (*Lafoensia speciosa*), arrayán (*Myrrrcianthes sp*), impamo (*Clusia sp*), aguacatillo (*Ocotea sp*) y encenillo (*Weinnmania sp*); la microcuencas Cristalares y Silencio presentan 51 y 48%, respectivamente, de su área total con este tipo de cobertura.
- *Pastos*, en esta zona se presentan procesos de ganadería extensiva con densidades bajas y asociadas a pequeños productores. La ocupación del área total de las microcuencas con pastos van desde un 18% para CR1 hasta de un 52% para CR2. Cabe mencionar que en los recorridos se pudieron observar muy pocos cultivos, y los que se encontraron correspondieron a: maíz, lulo y plantas medicinales. A través del uso de imágenes satelitales no fue posible la individualización del tipo de cobertura dada la baja resolución de las mismas. En cuanto a la población que habita en las microcuencas, no se observaron grandes asentamientos, presentándose una dispersión en la distribución de las viviendas al estar distantes unas de otras. El registro fotográfico de los recorridos por las microcuencas se presenta en el Anexo M.

Tabla 4. Principales características de las microcuencas Salinas, Presidentes, Cristalares y Silencio.

| Microcuenca | Área (ha) | Coberturas vegetales | | |
|-------------|--------------|------------------------|-----------------------|---------------|
| | | Bosque plantado (%) | Bosque natural (%) | Pastos (%) |
| Salinas | 200,87 | 67,67 | 14,64 | 17,78 |
| Presidente | 326,46 | 36,22 | 29,49 | 38,28 |
| Cristalares | 57,99 | 5,95 | 51,32 | 42,73 |
| Silencio | 64,86 | 0 | 47,91 | 52,09 |

En los recorridos por los cursos de agua se pudo evidenciar que en las microcuencas tienen lugar eventos de grandes lluvias con arrastre de árboles y material cercano a los corrientes. Las características topográficas e hidrológicas de las microcuencas facilitan el drenaje rápido del agua pluvial generando picos muy altos de caudal, asociadas a arrastre de material y aumento en la turbiedad. En la Figura 5 se presenta la bocatoma de la quebrada Cristalares después de un evento de lluvia en horas de la noche.

Los eventos de lluvias torrenciales ocasionan el taponamiento de las bocatomas, lo que conlleva a la decisión de suspender el flujo de agua hacia la red de distribución dada la alta turbiedad con el fin de evitar que el agua contaminada llegue a los usuarios. Sin embargo y dado el manejo del acueducto esto no siempre ocurre de manera inmediata, ocasionando que en algunos casos el agua llegue en estas condiciones hasta los usuarios. De acuerdo con la información suministrada por la comunidad, durante el período de lluvias ocurren cambios rápidos en la calidad del agua, básicamente asociados con el aumento de la turbiedad percibida, con una duración promedio de algunas horas.

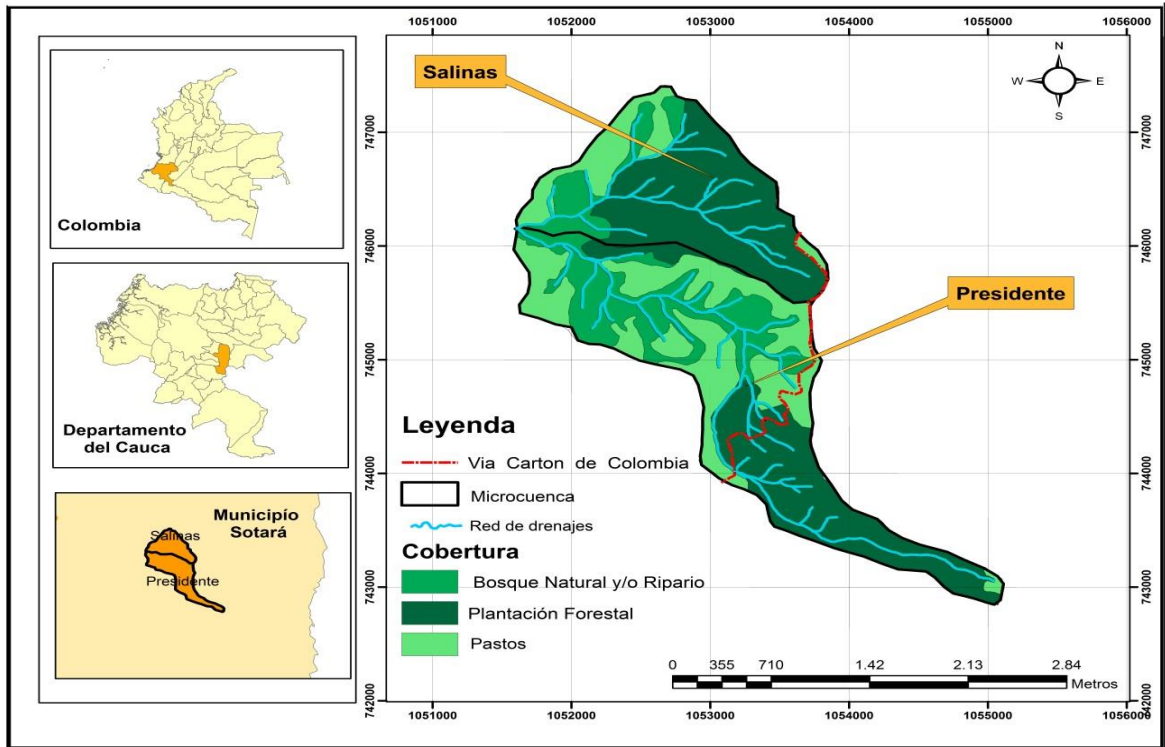


Figura 3. Distribución cobertura vegetal microcuencas Salinas y presidente.

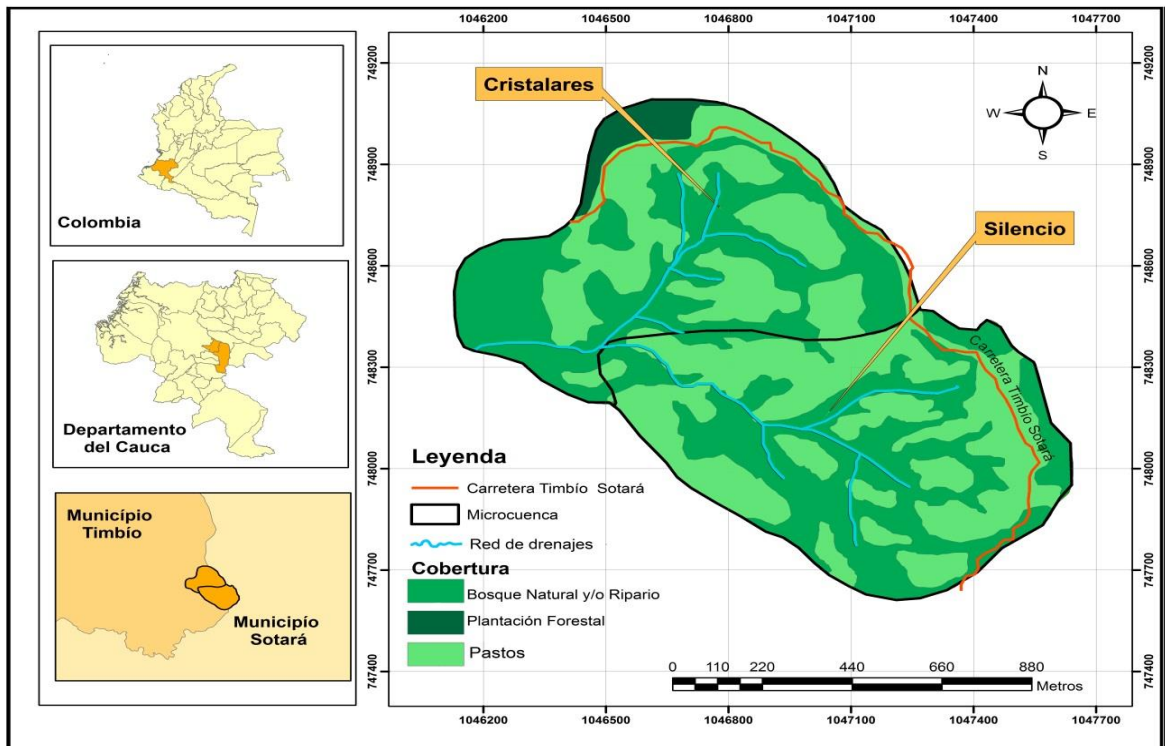


Figura 4. Distribución cobertura vegetal microcuencas Cristalares y Silencio

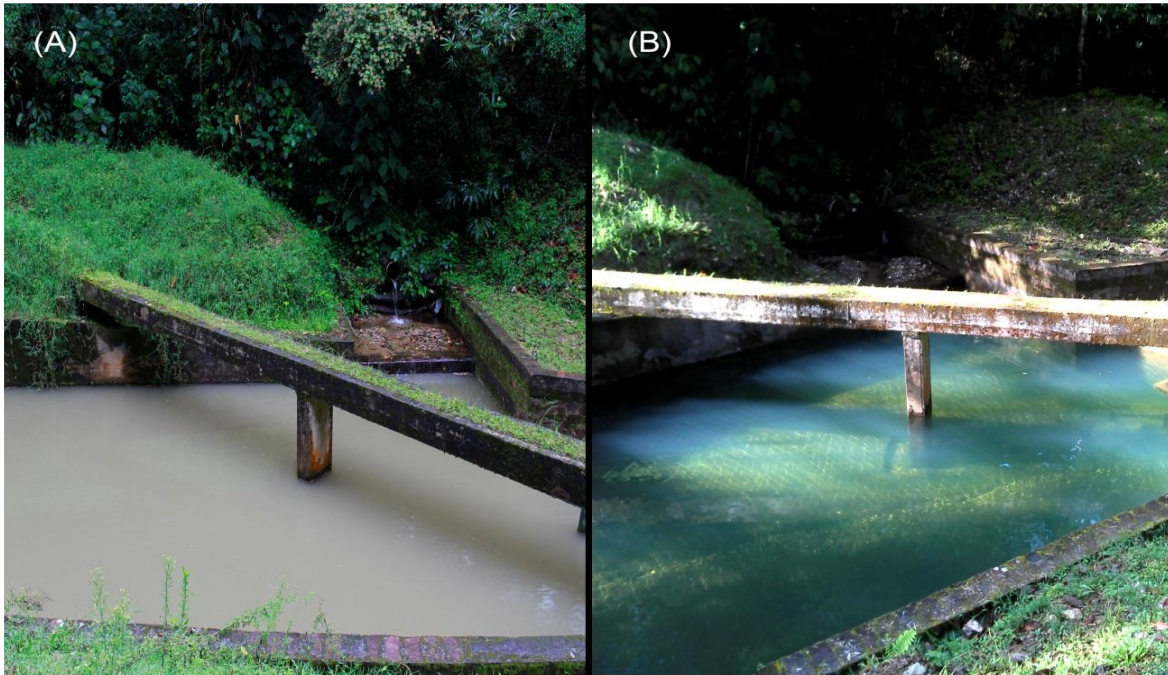


Figura 5. Bocatoma quebrada Cristalares, antes y después de un episodio de lluvia.

(A) condiciones después de un evento de lluvia torrencial en horas de la noche. (B) Condiciones normales en periodo sin lluvias.

En la Tabla 5 se detalla para cada microcuenca las fuentes de contaminación, identificadas durante los recorridos, que potencialmente pueden afectar la calidad de los cuerpos de agua. No se observaron vertimientos directos de agua residual, siendo las fuentes de contaminación difusas las que imperan. El acceso del ganado a las fuentes de agua para abrevar y para pasar de una zona de pastoreo a otra y la falta de un perímetro de protección efectivo en la margen de los cauces, son las principales prácticas que estarían afectando la calidad del agua. Por otra parte, y no menos relevante son los sistemas sépticos de las viviendas, las cuales se localizan especialmente en la parte alta y media de las microcuencas distantes de los cursos principales de agua. Las viviendas se encuentran distantes unas de otras y presentando una baja densidad poblacional. La presencia de vida silvestre, contribuye a la contaminación microbiológica de fondo, algunos animales encontrados durante los recorridos fueron: aves, armadillos y murciélagos (Anexo M). Vías secundarias y terciarias delimitan las áreas de drenaje, la escorrentía de estas vías aporta grandes volúmenes de agua lluvia, contribuyendo al deterioro de la calidad del agua con el aporte de sólidos y contaminantes. En estas zonas es común la inestabilidad del terreno, lo que se evidencia con movimientos de tierra y deslizamientos, descargando a los cuerpos de agua compuestos del suelo como sólidos, sales, nutrientes y microorganismos.

Tabla 5. Fuentes de contaminación encontradas durante el recorrido por las microcuencas Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio.

| Microcuenca | Fuentes de contaminación |
|-------------|--|
| Salinas | Acceso del ganado al cauce principal, ganado (vacuno y ovino), drenaje vía para acceso a extracción de madera, animales silvestres, animales domésticos, sistemas sépticos (Viviendas y escuela rural). |
| Presidente | Ganadería extensiva, acceso del ganado al cauce principal, drenaje de vía sin pavimento, deslizamiento de tierra, aplicación estiércol (cultivos a pequeña escala), sistemas sépticos (viviendas), estanque piscícola, animales silvestres, aves de corral). |
| Cristalares | Acceso del ganado al cauce principal, ganado, Sistemas sépticos (Viviendas), animales silvestres, drenajes de vía en proceso de pavimentación, deslizamiento de tierra. |
| Silencio | Acceso del ganado al cauce principal, ganado, sistemas sépticos (Viviendas), animales silvestres, deslizamiento de tierra. |

Nota: El orden de mención de las fuentes de contaminación está relacionada con la frecuencia con la cual se encuentra en la zona.

4.2 DESCRIPCIÓN DE LOS PERIODOS SECOS Y DE LLUVIAS

En la Tabla 6 se presentan aquellos muestreos que presentaron periodos de lluvias 8 días previos a la realización de los mismos. Cabe mencionar que ningún muestreo se realizó en condiciones de lluvia en sí. Las condiciones climáticas al momento de realizar la colección de las muestras en más de 80% fueron soleadas y en los restantes fueron nubladas. Desde el primer muestreo hasta el número 11, en más del 80% de los casos, estuvieron precedidos de lluvias. A partir del muestreo 11 y hasta el final del periodo de monitoreo se presentó un tiempo seco. De este modo, el periodo de lluvias se presentó en la primera mitad del estudio, comprendido entre la última semana del mes de enero y la tercera semana del mes de abril. El periodo seco se presentó entre la última semana del mes abril hasta la última semana del mes de julio. A partir de este momento todos los análisis consideraron dada la ocurrencia de estos dos periodos climáticos durante

Tabla 6. Muestreos con lluvias los días previos.

| | Muestreo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| CA1 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| CA2 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| CR1 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| CR2 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |

Nota: Las casillas azules corresponden a lluvias.

4.3 VARIACIÓN TEMPORAL DEL CAUDAL

El comportamiento mensual del caudal para cada una de las estaciones se presenta en la Figura 6. El comportamiento detallado del caudal, con una frecuencia de monitoreo semanal se presenta en el Anexo N. El número de muestreos por cada mes y para quebrada se presenta en la tabla de muestreos (ver Anexo O). El valor para el mes de enero corresponde a una sola observación, cuatro para los meses de febrero a abril y tres para el mes de mayo. Para los meses de junio y julio, las estaciones CA1 y CA2 tuvieron 4 observaciones y para el caso de las estaciones CR1 Y CR2 en los mismos meses tuvieron tres y cinco observaciones, respectivamente. Cabe aclarar que dado el alcance del estudio y el cronograma para su cumplimiento no fue posible hacer el seguimiento completo de un ciclo anual.

En principio, se evidenció que las cuatro fuentes de abastecimiento son de diferentes tamaños; de mayor a menor se clasificaron de la siguiente manera: $CA2 > CA1 > CR2 > CR1$. Esta clasificación se presentó en el mismo orden en relación al área de cada microcuenca. En este sentido, se presentó una relación positiva entre el área de las microcuencas y el caudal que transportan las quebradas. En otras palabras, a mayor área de captación mayor es el caudal de la fuente de abastecimiento.

Luego, a partir de un análisis de varianza ANOVA, ver Anexo P, se determinó que no hay diferencias significativas en el caudal en los tres primeros meses, para las cuatro estaciones, lo cual coincide con el periodo de lluvias. Las lluvias originan picos de caudal intermitentes, lo cual aumenta la variabilidad entre los muestreos. De otro lado, con el inicio del periodo seco, se observó un descenso progresivo del caudal y diferencias significativas entre los meses para las cuatro estaciones.

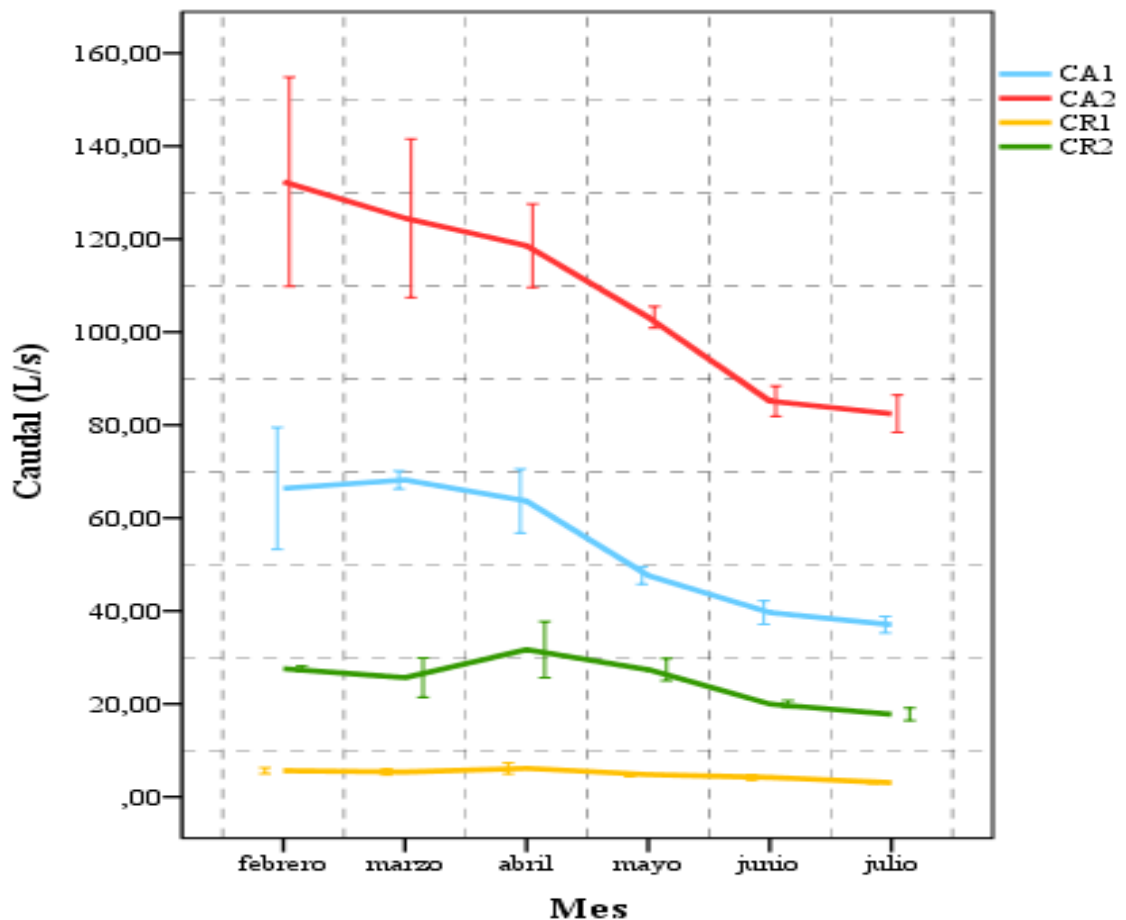


Figura 6. Variación mensual del caudal.

4.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SEDIMENTO

4.4.1 Granulometría y textura

En general, de acuerdo a las características granulométricas y a la carta del sistema unificado de clasificación del suelo (SUCS), las muestras de sedimento se pueden clasificar como arena limosa, con grava, alrededor de 1-3,5% de partículas duras de grava, angulares, de 12 mm de tamaño máximo; arena redondeada y subangular de granos gruesos a finos; con cerca de 80% de arena aluvial. La distribución de tamaño de partículas en las muestras se presenta en porcentaje de gravas, arenas, limos y arcillas en la Tabla 7. Como se puede observar, el material caracterizado son arenas limpias con un pasante del tamiz No. 200 de entre 11 y 15%. Las curvas granulométricas para el sedimento de cada estación se presentan en el Anexo Q.

Tabla 7. Distribución tamaño de partículas

| Clasificación y tamaño de partículas | | | | |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|---------------------|
| | Grava (75–4,75 mm) | Arenas (4,75–0,075 mm) | Limo (75-2 μm) | Arcillas (<2 μm) |
| CA1 | 3,54 | 83,52 | 12,75 | 0,2 |
| CA2 | 1,00 | 88,26 | 9,56 | 1,18 |
| CR1 | 2,41 | 82,33 | 12,77 | 2,50 |
| CR2 | 2,02 | 85,89 | 9,94 | 2,16 |

Sistema unificado de clasificación del suelo (SUCS)
[Unidad: Porcentajes (%)]

4.4.2 Humedad

En relación con la humedad del sedimento o contenido de agua, que se define como la razón entre el peso del agua de los poros, o espacio intersticial, y el peso de los sólidos del sedimento (granos), se determinó calculando la pérdida de peso debida a la evaporación del agua al poner una muestra de sedimento en un horno a 105°C por 24 h. El comportamiento mensual de la humedad para cada una de las estaciones se presenta en la Figura 7. El comportamiento detallado, con una frecuencia de monitoreo semanal, se presenta en el Anexo R.

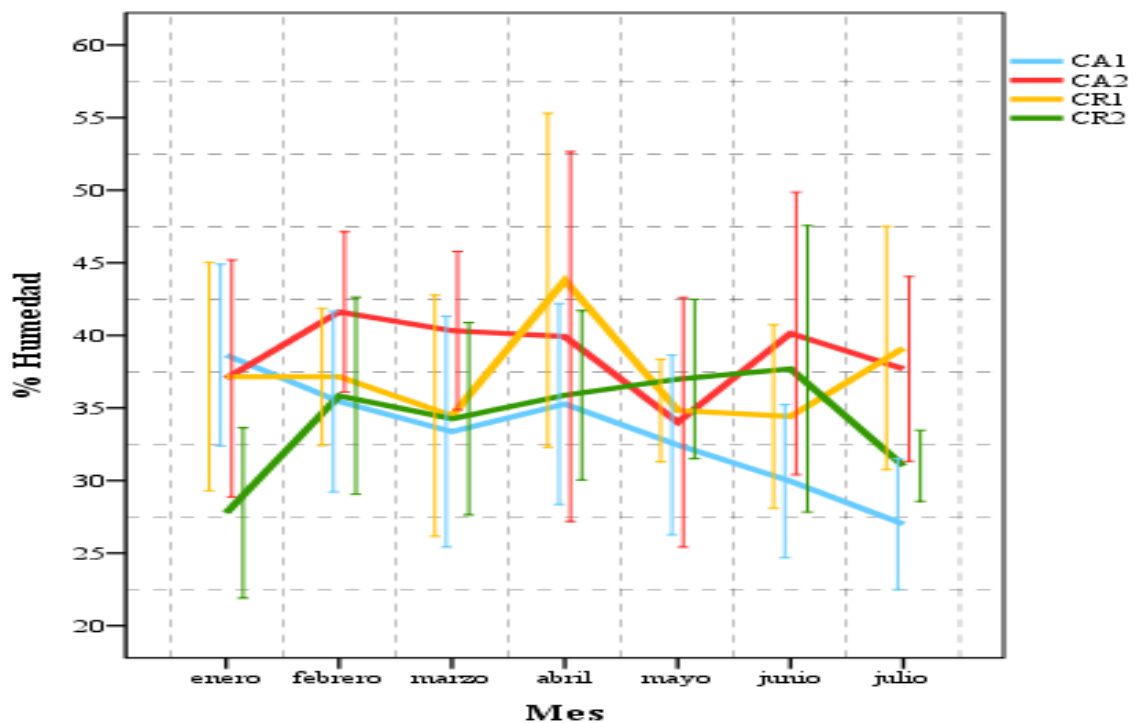


Figura 7. Variación mensual del porcentaje de humedad.

En general, el porcentaje de humedad en las muestras esta entre un 30 y 45%. Con la finalidad de establecer diferencias en el porcentaje de humedad entre las estaciones de muestreo y entre los meses, se realizó un análisis de varianza ANOVA, ver Anexo S. Se determinó que, si hay diferencias significativas entre algunas de las estaciones. Sin embargo, no hay diferencias significativas para cada estación entre los meses a lo largo del periodo de monitoreo. Esto dado la variabilidad que se presenta tanto en las réplicas como entre muestreos. Esta característica no se ve influenciada por las lluvias. Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, el contenido de humedad ($\% \pm desviacion\ estandar$) en el sedimento de cada estación durante los 24 muestreos se resumió de la siguiente manera: CA1 ($32,50 \pm 6,84\%$), CA2 ($39,08 \pm 8,43\%$), CR1 ($37,59 \pm 8,19\%$), CR2 ($34,61 \pm 6,55\%$).

4.4.3 Materia orgánica

En cuanto a la materia orgánica en el sedimento, que se refiere a los compuestos orgánicos presente en la matriz, se determinó por la pérdida de peso debida a la calcinación de las muestra de sedimento en una mufla a 550°C . El comportamiento mensual del contenido de materia orgánica para cada una de las estaciones se presenta en la Figura 8. El comportamiento detallado, con una frecuencia de monitoreo semanal, se presenta en el Anexo T.

En general, el contenido materia orgánica en las muestras esta entre un 2,5 y 6% en relación al peso seco de las muestras. Con la finalidad de establecer diferencias en el porcentaje de materia orgánica entre las estaciones de muestreo y entre los meses, se realizó un análisis de varianza ANOVA, ver Anexo U. Se determinó que si hay diferencias significativas entre todas y cada una de las estaciones. Sin embargo, y al igual que con la humedad, no hay diferencias significativas para cada estación entre los meses a lo largo del periodo de monitoreo, lo cual también se puede deber a la variabilidad que se presenta tanto en las réplicas como entre muestreos. Esta característica tampoco se ve influenciada por las lluvias. Considerando lo anteriormente mencionado, el contenido de materia orgánica en el sedimento de cada estación durante los 24 muestreos se resumió de la siguiente manera: CA1 ($3,02 \pm 0,74\%$), CA2 ($5,57 \pm 1,28\%$), CR1 ($4,37 \pm 1,53\%$), CR2 ($3,55 \pm 0,87\%$).

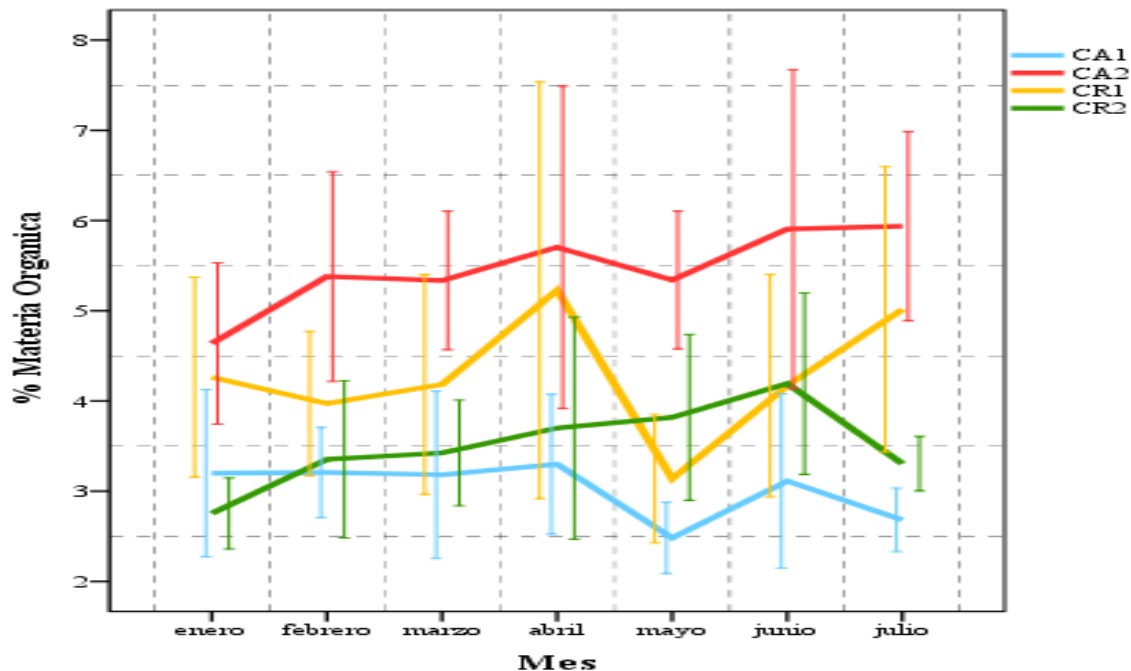


Figura 8. Variación mensual del contenido de materia orgánica.

4.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL AGUA

Las características físicas del agua que se monitorearon fueron: pH, turbiedad, color aparente y conductividad eléctrica. Las pruebas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad del Cauca. Al momento de la medición, por lo general, las muestras estuvieron a una temperatura de $6,0 \pm 2,0$ °C.

Para los parámetros pH, turbiedad, color aparente y conductividad eléctrica sus valores medios se compararon con los valores de referencia estipulados en la normatividad colombiana. En el decreto 1594 de 1984 no se tienen en cuenta todos los parámetros físicos evaluados para la destinación del agua para los diferentes usos. Por lo anterior y dado que el agua de las fuentes de abastecimiento es empleada para consumo humano los resultados se compararon con los valores de referencia establecidos en la resolución 2115 de 2007. Cabe mencionar que los valores estipulados en la normatividad mencionada hacen referencia a agua potable, de este modo la comparación se realizó frente a los valores más estrictos. Los valores máximos aceptables de las características físicas del agua potable se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Valores máximos aceptables de las características físicas del agua potable. Resolución 2115 de 2007.

| | Unidad | Valor máximo aceptable |
|-------------------------|--------|------------------------|
| pH | pH | 6,5-9,0 |
| turbiedad | UNT | 2 |
| Color aparente | UPC | 15 |
| Conductividad eléctrica | μS/cm | 1000 |

4.5.1 pH

El pH o potencial de hidrógeno es el parámetro más estable en cuanto a su comportamiento. En términos generales los valores de pH oscilaron entre 6,6 y 7,8; siendo estos valores cercanos a neutralidad y normales en aguas naturales (Figura 9). Los valores de pH estuvieron dentro del rango establecido por la normatividad colombiana para agua de consumo humano.

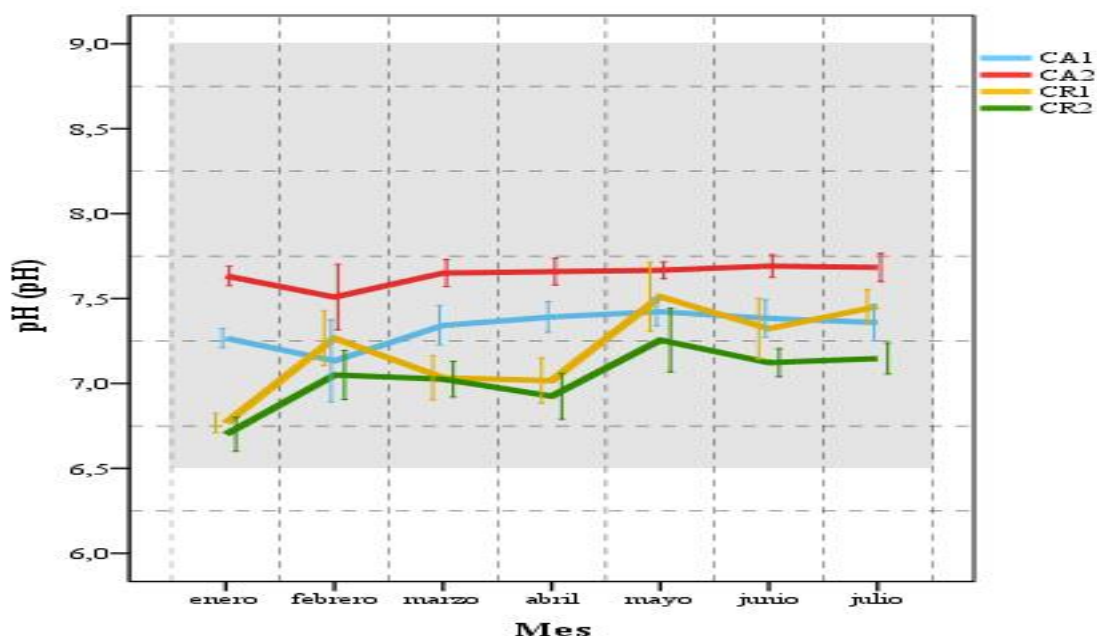


Figura 9. Variación mensual del pH. La franja gris corresponde al rango por la normatividad colombiana para agua de consumo humano.

4.5.2 Turbiedad

El porcentaje de meses, durante el periodo de monitoreo, que se ajustaron al valor máximo permitido para la turbiedad de 2UNT, con una tolerancia del 5%, se presentó de la siguiente manera: CA1 (29%), CA2 (0%), CR1 (0%) y CR2 (29%). Tomando como límite 5UNT se presenta un aumento del porcentaje de meses que si cumplen con los estándares: CA1 (100%), CA2 (43%), CR1 (71%) y CR2 (100%) (Figura 10). Para fines de este estudio se consideró como valor máximo de turbiedad 5UNT, criterio sustentado en el trabajo de Guzmán et al., 2015.

4.5.3 Color aparente

El porcentaje de meses, durante el periodo de monitoreo, que se ajustaron al valor máximo permitido para la color aparente de 15UPC, con una tolerancia del 5%, se presentó de la siguiente manera: CA1 (14%), CA2 (29%), CR1 (29%) y CR2 (43%). Tomando como límite 20UPC se presenta un aumento del porcentaje de meses que si cumplen con los estándares: CA1 (71%), CA2 (14%), CR1 (29%) y CR2 (86%) (Figura 11). El valor máximo permisible para agua de consumo es de 15UPC y de 20UPC del agua cruda para desinfección (artículo 39 del decreto 1594 de 1984, transitoriamente vigente).

4.5.4 Conductividad eléctrica

La última característica física que se evaluó fue la conductividad eléctrica, la cual mide la capacidad de una sustancia para dejar circular corriente eléctrica. Esta depende de la presencia de iones en solución y por lo tanto proporciona una indicación útil de los sólidos disueltos totales, o sales, presentes en un agua (Ratnayaka et al., 2009). Durante el periodo de monitoreo se mantuvo con un comportamiento muy regular en términos de variación en el tiempo. Los valores mensuales para todas las estaciones estuvieron, por mucho, por debajo del valor máximo de referencia que es de 1000 μ S/cm (Figura 12).

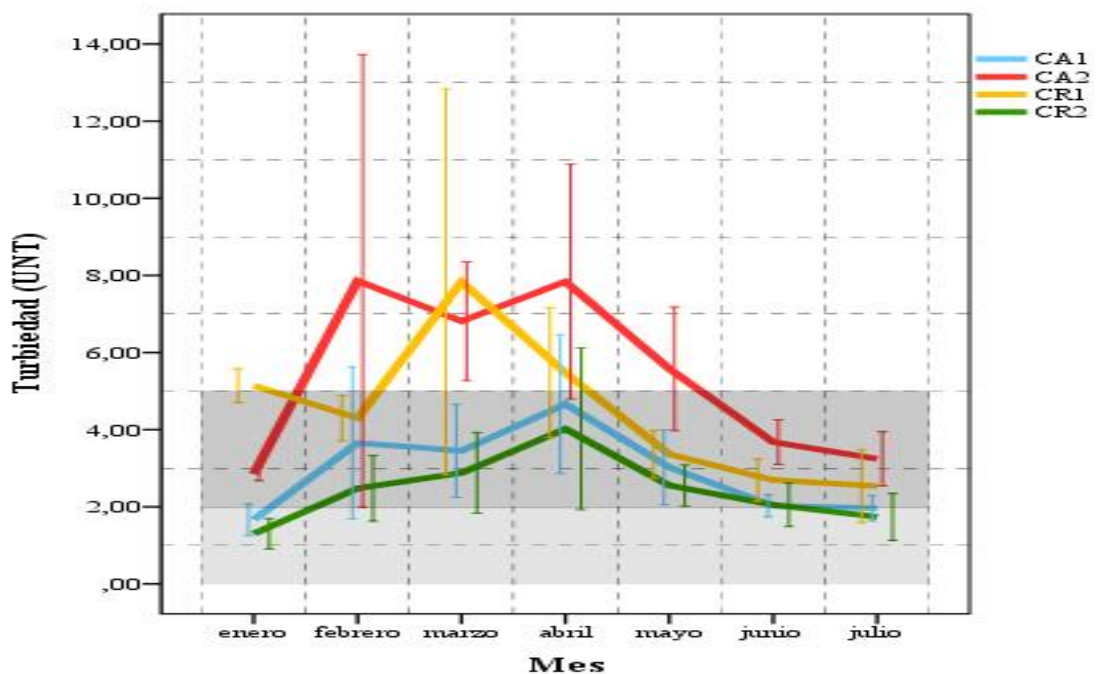


Figura 10. Variación mensual de la turbiedad.

La franja de color gris claro representa el valor máximo permitido por la norma colombiana (2UNT). La franja de color gris oscuro representa valor máximo permitido considerado en este estudio (5UNT).

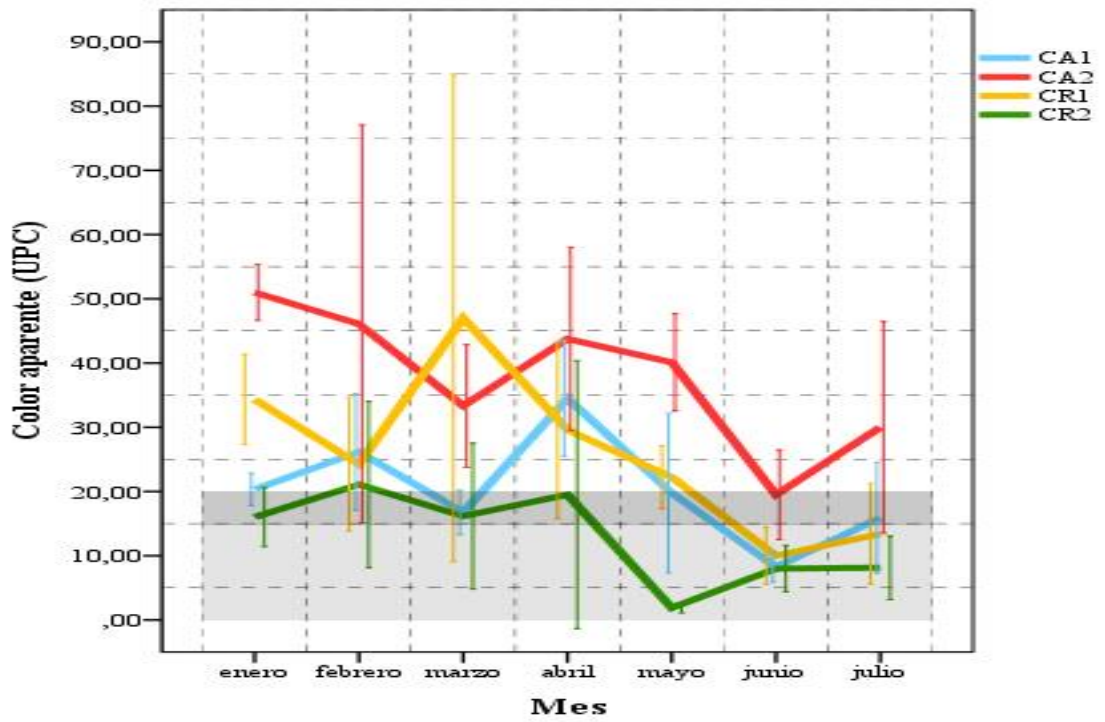


Figura 11. Variación mensual del color aparente.

La franja de color gris claro representa el valor máximo permitido por la norma colombiana (15UPC). La franja de color gris oscuro representa valor máximo permitido considerado en este estudio (20 UPC).

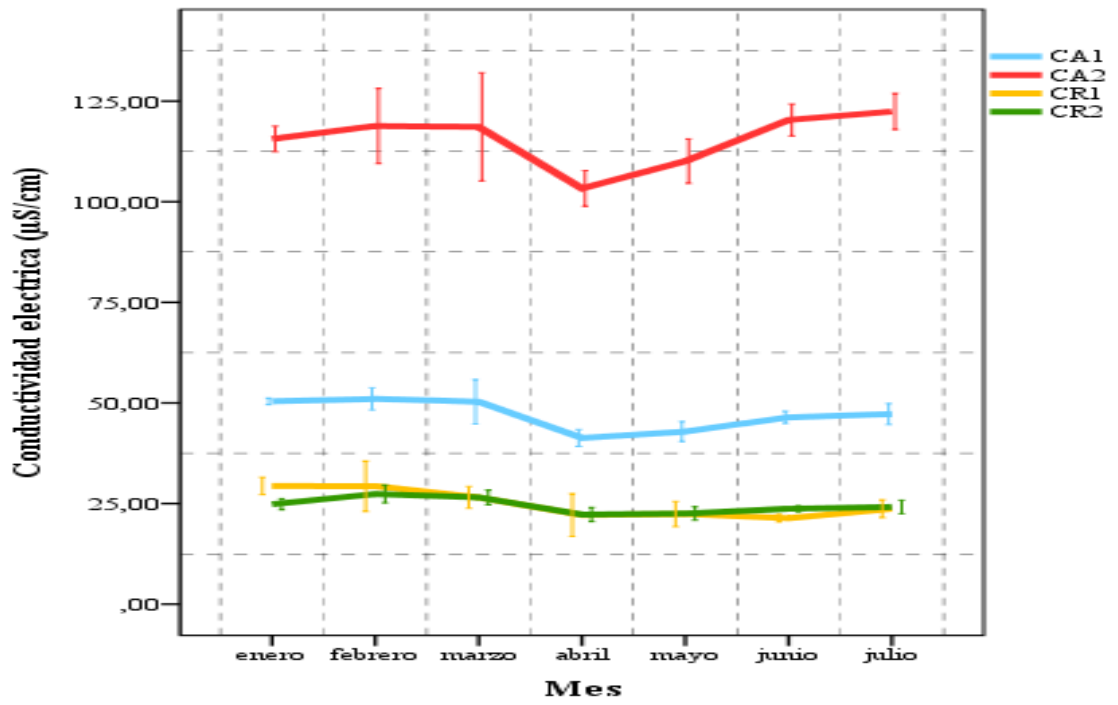


Figura 12.Variación mensual de la conductividad eléctrica.

4.6 ENUMERACIÓN BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN FECAL (BICF)

Empleado el método de filtración por membrana y dos medios selectivos se realizó la cuantificación de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* en las muestras de agua y sedimento (Figura 13).

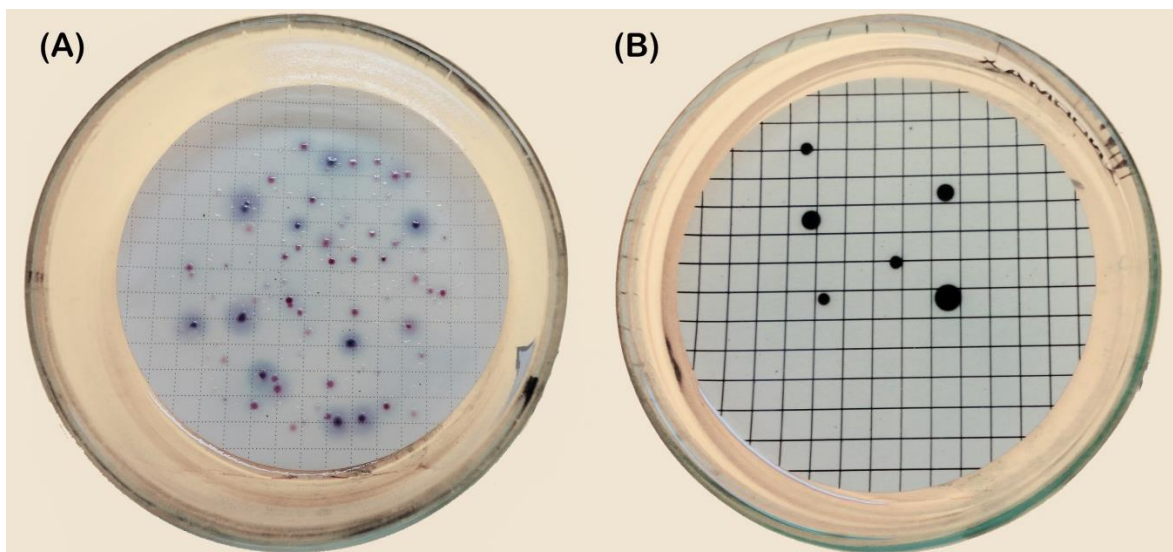


Figura 13. Placas de cultivos microbiológicos.

Placas de cultivos microbiológicos. (A) Colonias de *E. coli* (violáceas), coliformes (rojizas), en conjunto son coliformes totales; medio de cultivo agar Chromocult, membrana de 0,45 μ m, incubación a 37°C por 24h. (B) Colonias de *C. perfringens* (negras) medio de cultivo agar SPS, membrana de 0,22 μ m, incubación en anaerobiosis a 37°C por 24h.

4.6.1 Sedimento

Un tratamiento previo de “lavado” permitió la liberación de las bacterias, adheridas a las partículas de sedimento, a una fase líquida. Posteriormente, las pruebas microbiológicas se realizaron del mismo modo para agua como para sedimento. El comportamiento de los parámetros microbiológicos en el sedimento a lo largo del periodo de estudio semana a semana se pueden ver detalladamente en el Anexo V.

4.6.1.1 Variación temporal de la concentración de BICF

La variación de la concentración de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* para cada una de las estaciones de muestreo en una serie de tiempo mensual se presentan en las Figuras 14, 15 y 16, respectivamente. Cabe mencionar inexistencia de reglamentación frente a la cantidad de bacterias en el sedimento, por lo cual no hubo valores de referencia para comparar.

En primer lugar en la Figura 14, en general, las concentraciones de para coliformes totales en las cuatro estaciones y durante el periodo de estudio estuvieron, en un 90%, en un rango de 6,00 a 7,25 $\text{Log}_{10}\text{UFC/Ps}$. En segundo lugar, se observa en Figura 15, en general, las concentraciones de para *E. coli* en las cuatro estaciones y durante el periodo de estudio estuvieron, en un 85%, en un rango de 4,5 a 6,0 $\text{Log}_{10}\text{UFC/Ps}$. Por último, en Figura 16, en general, las concentraciones de para *C. perfringens* en las cuatro estaciones y durante el periodo de estudio estuvieron, en un 80%, en un rango de 5,5 a 6,5 $\text{Log}_{10}\text{UFC/Ps}$. Mediante un análisis de varianza ANOVA se estableció que no se presentan diferencias estadísticamente significativas durante los diferentes meses, y tampoco entre estaciones, salvo para coliformes totales.

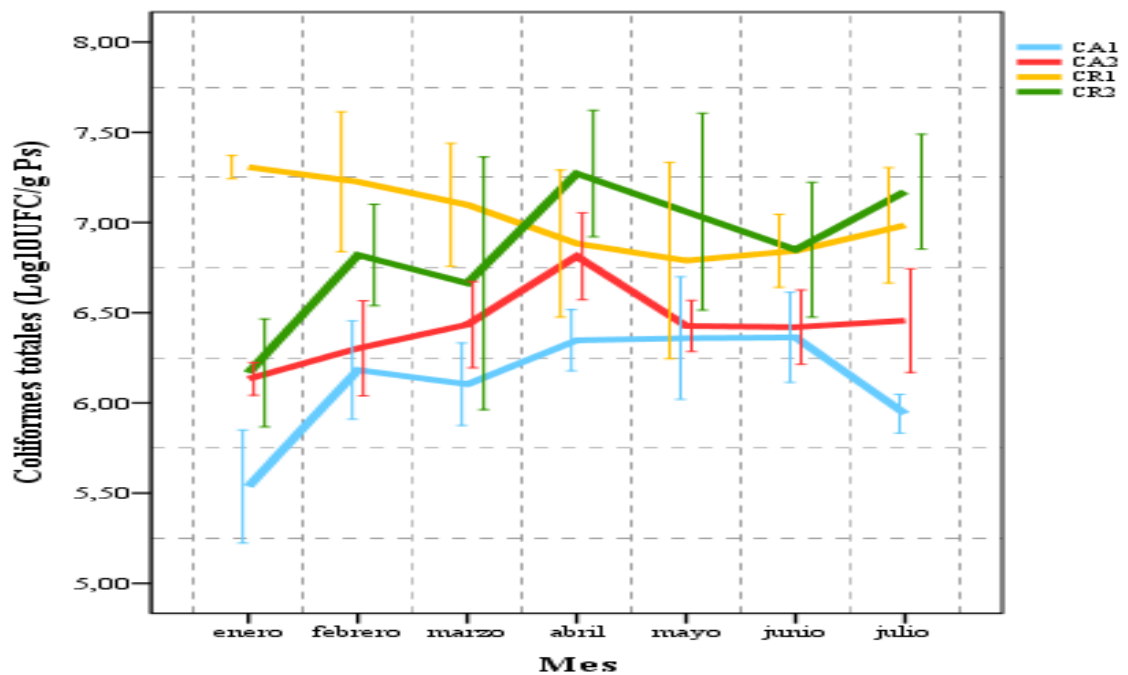


Figura 14. Variación mensual de la concentración de coliformes totales en las muestras de agua.

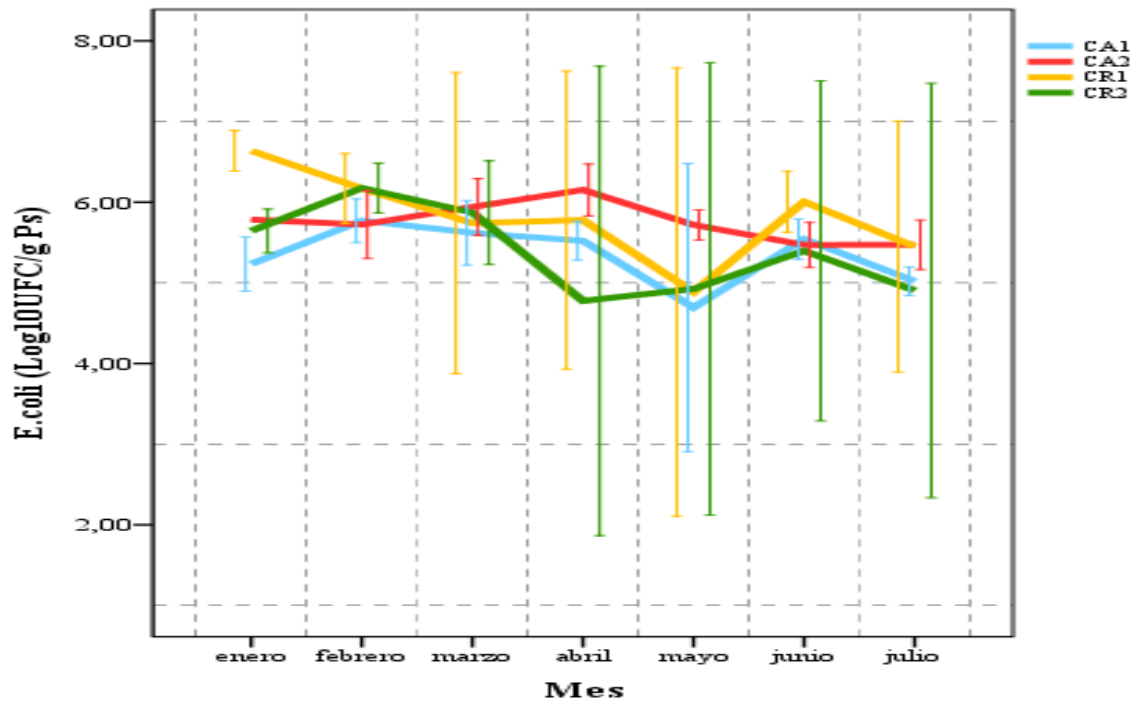


Figura 15. Variación mensual de la concentración de *E. coli* en las muestras de agua.

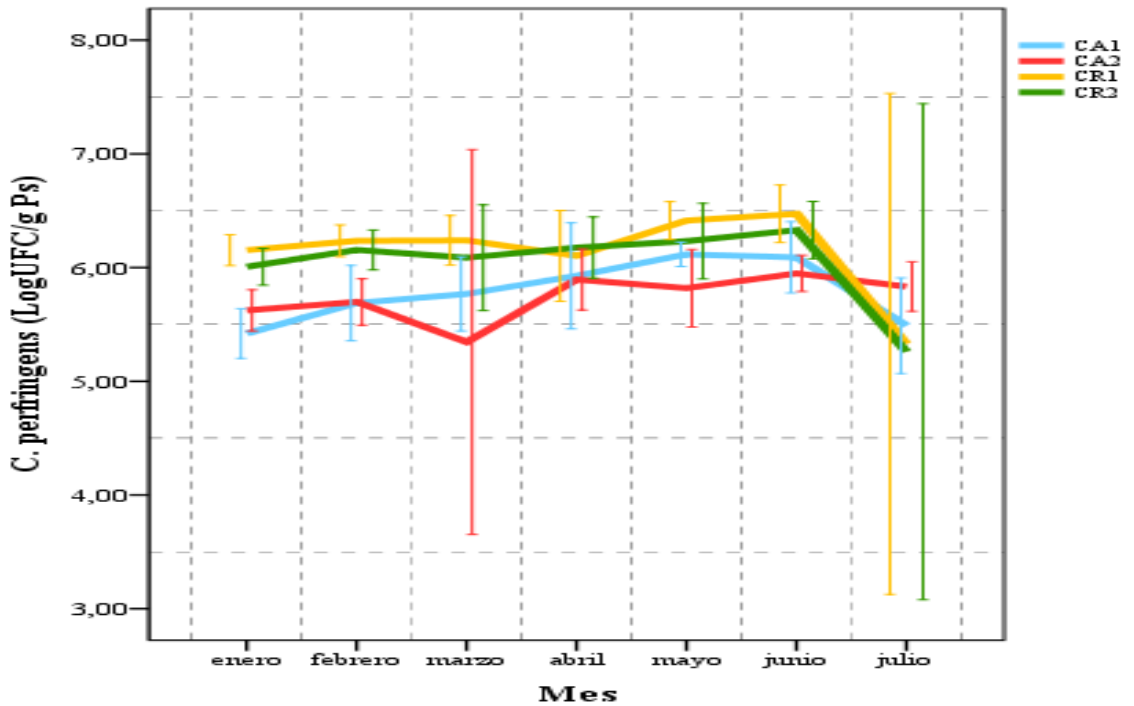


Figura 16. Variación mensual de la concentración de *C. perfringens* en las muestras de agua.

4.6.1.2 Variación de la concentración de BICF, según periodo de lluvias

En la Figura 17 se muestra la concentración de las BICF en las cuatro estaciones de muestreo para periodo seco y de lluvias. De forma descriptiva y en general la concentración de coliformes totales fue ligeramente mayor en periodo seco; en cuanto *E. coli* mostro una concentración ligeramente mayor en periodo de lluvias. Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas en las concentraciones de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* en función de las lluvias. Solo para coliformes totales se presentaron diferencias significativas entre las estaciones. Los niveles más altos se presentaron en CR1 Y CR2 seguidos de CA2 y finalmente CA1.

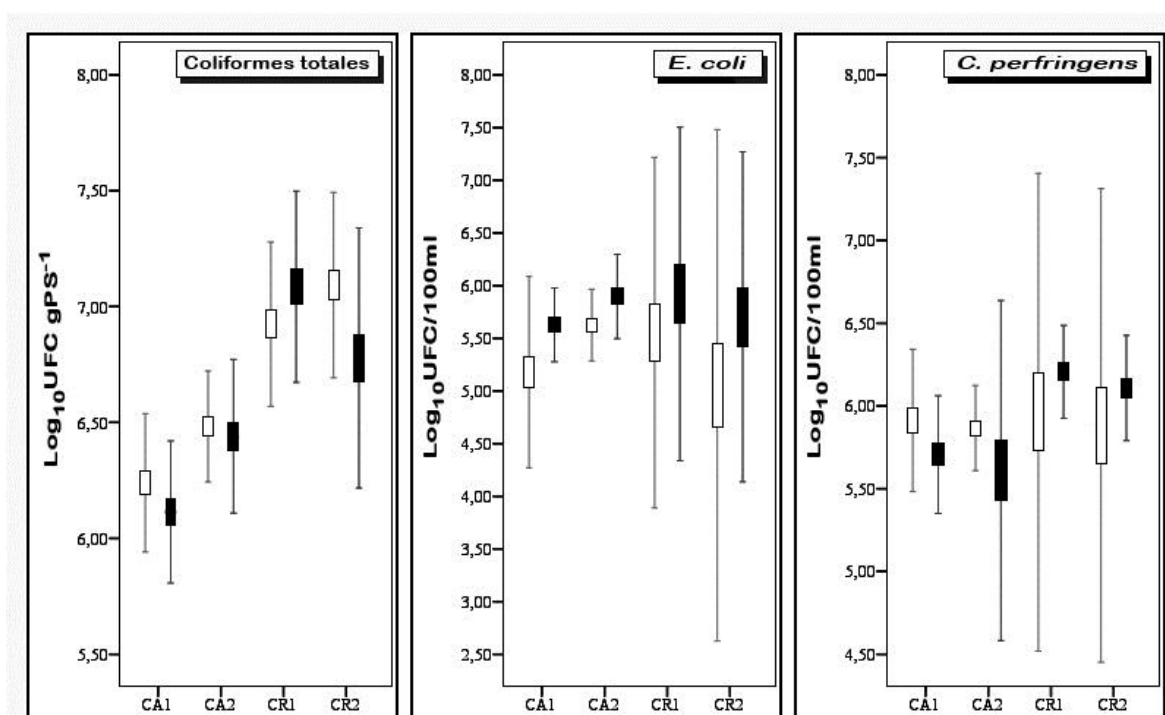


Figura 17. Concentración de las BICF en las muestras de agua para periodo seco y de lluvias. Caja: media \pm error estándar, bigote: media \pm desviación estándar. La caja negra corresponde al periodo de lluvias, la blanca al periodo seco.

4.6.1.3 Relación entre las características fisicoquímicas del sedimento y concentración de BICF, según periodo de lluvias

Se empleó el coeficiente de correlación de Spearman para establecer la relación entre la las características fisicoquímicas y microbiológicas del sedimento. Las variables a relacionar fueron: humedad, materia orgánica, coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens*. Los resultados de las correlaciones se presentan en la Tabla 9. Se observó que de las 10 relaciones establecidas 9 fueron correlaciones

positivas, 7 a un nivel de significancia $p < 0,01$. Hay una dependencia entre la humedad y la materia orgánica, en al menos un 65%. La concentración de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* se correlacionan con la humedad en un 13, 17 y 18%, respectivamente. El contenido de materia orgánica se correlaciona con los coliformes totales y *E. coli* en un 14 y 20%, respectivamente. Por último, se presentó correlación entre todas las BIFC. Los coliformes totales se correlacionaron con *E. coli* y *C. perfringens* con un 63 y 43%, respectivamente y *E. coli* con *C. perfringens* con un 31%.

Tabla 9. Correlación entre humedad, materia orgánica, coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens*.

| | Humedad | Materia orgánica | Coliformes totales | <i>E. coli</i> | <i>C. perfringens</i> |
|-----------------------|---------------|------------------|--------------------|----------------|-----------------------|
| Humedad | 1,000 | | | | |
| Materia orgánica | 0,654 | 1,000 | | | |
| Coliformes totales | 0,134* | 0,142* | 1,000 | | |
| <i>E. coli</i> | 0,170 | 0,196 | 0,626 | 1,000 | |
| <i>C. perfringens</i> | 0,181 | 0,086 | 0,434 | 0,311 | 1,000 |

Nota: Coeficientes de correlación de Spearman significativo al nivel $p < 0,01$. N= 288. Los resultados significativos están en negrilla y cursiva.

* $p < 0,05$.

4.6.2 Agua

4.6.2.1 Nivel de contaminación fecal

Para determinar cuál era el grado de contaminación se tomó como referencia: el Decreto 1594/84, transitoriamente vigente para los aspectos relacionados con las características microbiológicas del agua. El reglamento técnico del sector de agua potable y saneamiento básico Ras -2000, título B, los valores guía de los países europeos empleado en el trabajo de Alcamo et al. (2015) y los valores sugeridos por Wiedenmann et al. (2006). En la Tabla 10 se resumen los valores de referencia para establecer el nivel de contaminación. También, el uso potencial del agua de acuerdo con la concentración de los tres indicadores microbiológicos empleados en este estudio. Es pertinente establecer lo siguiente: *E. coli* por definición hace parte del grupo de coliformes fecales y constituye la mayor parte de este grupo, en este sentido los coliformes fecales y *E. coli* son análogos (Neill, 2004). Por lo tanto, a efectos prácticos, los criterios e índices que se describe a continuación para coliformes fecales también se aplican para *E. coli*.

Tabla 10. Niveles de contaminación fecal.

| Descripción | Coliformes totales ^a | Coliformes fecales ^b | <i>C. perfringens</i> ^c |
|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| Consumo humano. | 0 | 0 | 0 |
| Recreacional. Contacto primario. | 500 | 200 | 10 |
| Riego | 5000 | 1000 | ----- |
| Recreacional. Contacto secundario. | 5000 | 2000 | ----- |
| Excede todos los límites. | >5000 | >2000 | ----- |

^a Decreto 1594 de 1984. Transitoriamente vigente. Complicado en el decreto 1076 de 2015.

^b Alcamo et al. (2015).

^c Wiedenmann et al. (2006)

[Unidades: UFC/ 100 ml]

En la Figura 18 se muestra para cada estación de muestreo e indicador microbiológico, la frecuencia de muestras en cada nivel de contaminación descrito en la Tabla 11. De manera acorde, las fuentes superficiales no cuentan con las características microbiológicas para ser de consumo humano. En términos generales las fuentes se ubican en nivel 2 y 3 definidos para uso recreacional y de riego respectivamente. Las concentraciones más bajas las presenta la quebrada Silencio identificada con el código CR2, lo que implica la idoneidad para el contacto primario, más del 90% de las muestras se encontraron en este nivel para el indicador *E. coli*. Las quebradas Cristalares (CR1) y Salinas (CA1) presentan concentraciones medio-bajas. La quebrada presidente (CA2) presenta valores de nivel medio.

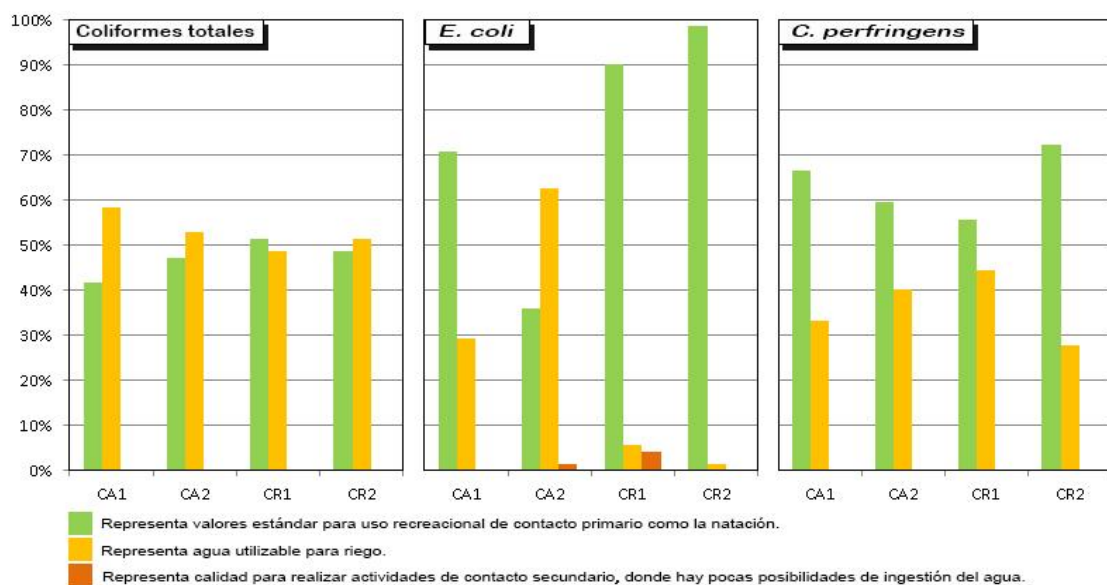


Figura 18. Niveles de contaminación fecal.

Nota: número de muestras por estación: 72.

4.6.2.2 Variación temporal de la concentración de las BICF

La variación de la concentración de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* para cada una de las estaciones de muestreo en una serie de tiempo mensual se presentan en las Figuras 19, 20 y 21, respectivamente. El comportamiento de los parámetros microbiológicos en el sedimento a lo largo del periodo de estudio semana a semana se pueden ver detalladamente en el Anexo W. Además, y dado que ninguna de las estaciones de muestreo presento valores para consumo humano las concentraciones de los indicadores se compararon con los niveles para uso recreacional de contacto primario.

Un primer aspecto a considerar de la Figura 19 es que en general se observa una tendencia de aumento de la concentración de coliformes totales con el paso de los

meses, esto podría ser explicable ya que con la disminución del caudal se presenta un menor factor de dilución. En este sentido, y empleado el coeficiente de Spearman se determinó que hay una correlación negativa entre la concentración de coliformes totales y el caudal. La única correlación estadísticamente significativa se presentó en la estación CA1 ($r_s = -0,498; p = 0,01; n = 72$). En segunda estancia, y de acuerdo con la Figura 19, el porcentaje de meses, durante el periodo de monitoreo, que se ajustaron al valor máximo permitido para coliformes totales, con una tolerancia del 5%, para las estaciones de muestreo se presentó de la siguiente manera: CA1 (86%), CA2 (29%), CR1 (29%) y CR2 (100%).

Para el caso de *E. coli* en la Figura 20 se observa para las estaciones CA1 y CA2 una tendencia de aumento en la concentración con el transcurso de los meses, lo cual coincide con la disminución del caudal, del mismo modo ocurrió con los coliformes totales como ya se mencionó. Una correlación negativa se presentó entre la concentración de *E. coli* y el caudal para CA1 ($r_s = -0,321; p = 0,01; n = 72$) y para CA2 ($r_s = -0,303; p = 0,01; n = 72$). Por otro lado, el porcentaje de meses, durante el periodo de monitoreo, que se ajustaron al valor máximo permitido para *E. coli*, con una tolerancia del 5%, para las estaciones de muestreo se presentó de la siguiente manera: CA1 (86%), CA2 (57%), CR1 (100%) y CR2 (100%).

El último indicador evaluado fue *C. perfringens* y como se observa en la Figura 21 este microorganismo tiene un comportamiento diferente al de los dos anteriores, puesto que se observa una tendencia de disminución en la concentración con el transcurso de los meses, para este caso no se podría en aplicar la disminución del caudal en el mismo sentido previamente mencionado. De hecho, se presenta una correlación positiva entre *C. perfringens* y el caudal. Para tres de las estaciones se presentaron correlaciones positivas estadísticamente significativas, CA1 ($r_s = 0,680; p = 0,01; n = 72$), CR1 ($r_s = 0,574; p = 0,01; n = 72$), CR2 ($r_s = 0,380; p = 0,01; n = 72$); en otras palabras, al aumentar el caudal aumenta la concentración de *C. perfringens*. Por otra parte, el porcentaje de meses, durante el periodo de monitoreo, que se ajustaron al valor máximo permitido para *C. perfringens*, con una tolerancia del 5%, para las estaciones de muestreo se presentó de la siguiente manera: CA1 (71%), CA2 (71%), CR1 (57%) y CR2 (86%).

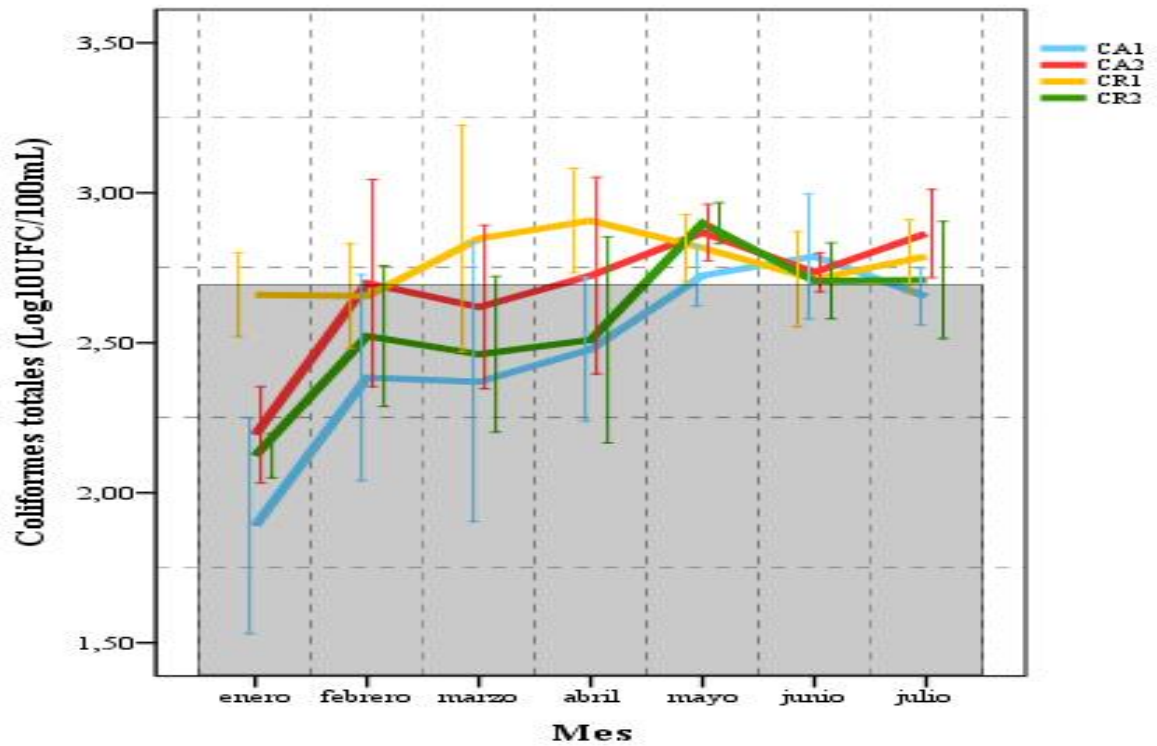


Figura 19. Variación mensual de la concentración de coliformes totales en las muestras de agua. La franja de color gris representa los valores para agua de uso recreacional de Contacto primario.

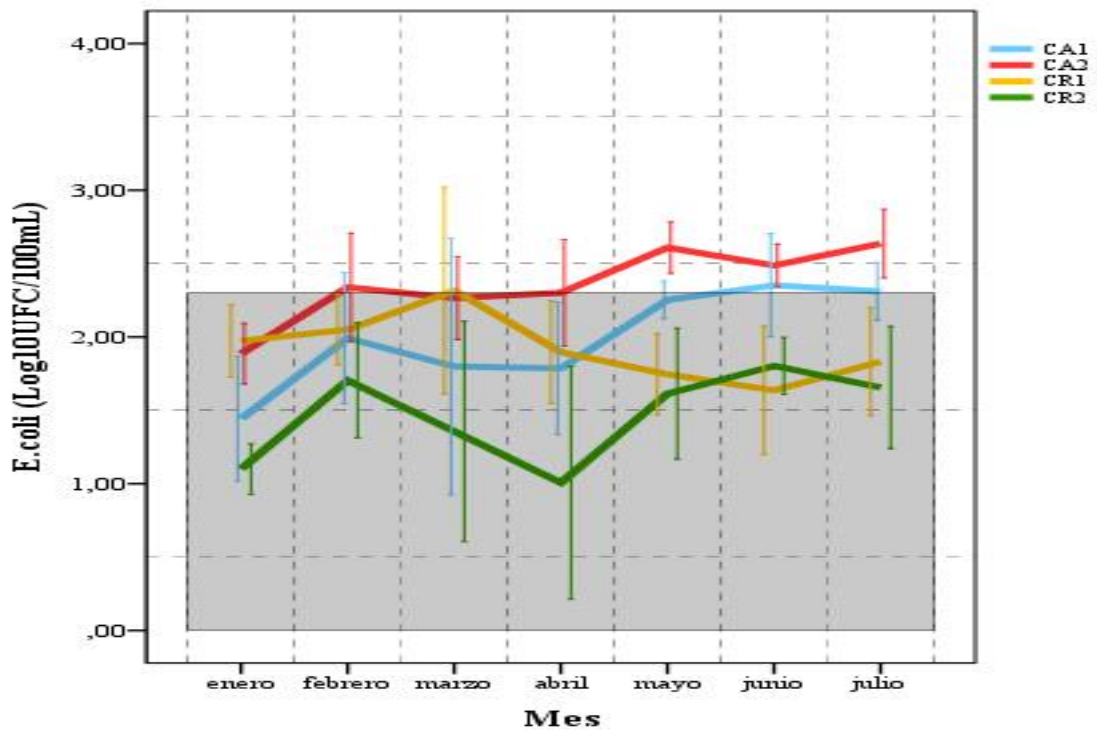


Figura 20. Variación mensual de la concentración de *E. coli* en las muestras de agua. La franja de color gris representa los valores para agua de uso recreacional de Contacto primario.

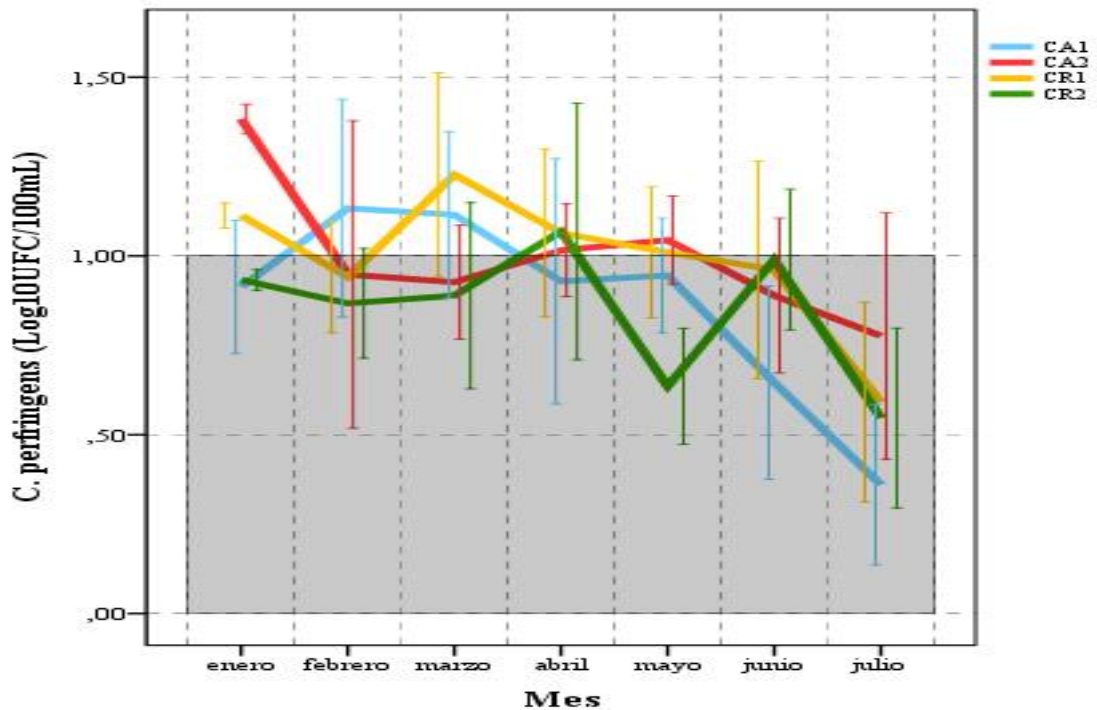


Figura 21. Variación mensual de la concentración de *C. perfringens* en las muestras de agua. La franja de color gris representa los valores para agua de uso recreacional de Contacto primario.

4.6.2.3 Variación de la concentración de las BICF, según periodo de lluvias

En la Figura 22 se muestra la concentración de las BICF en las cuatro estaciones de muestreo para periodo seco y de lluvias. En cuanto a la abundancia de las bacterias se cumple que: coliformes totales > *E. coli* > *C. perfringens*. La relación entre coliformes totales y *E. coli* es clara, dado que el segundo está contenido en el primero. En relación a las lluvias, sí se presentaron diferencias significativas en las concentraciones de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens*. En general los coliformes totales y *E. coli* presentaron mayor concentración durante los periodos secos, caso contrario ocurrió con *C. perfringens*.

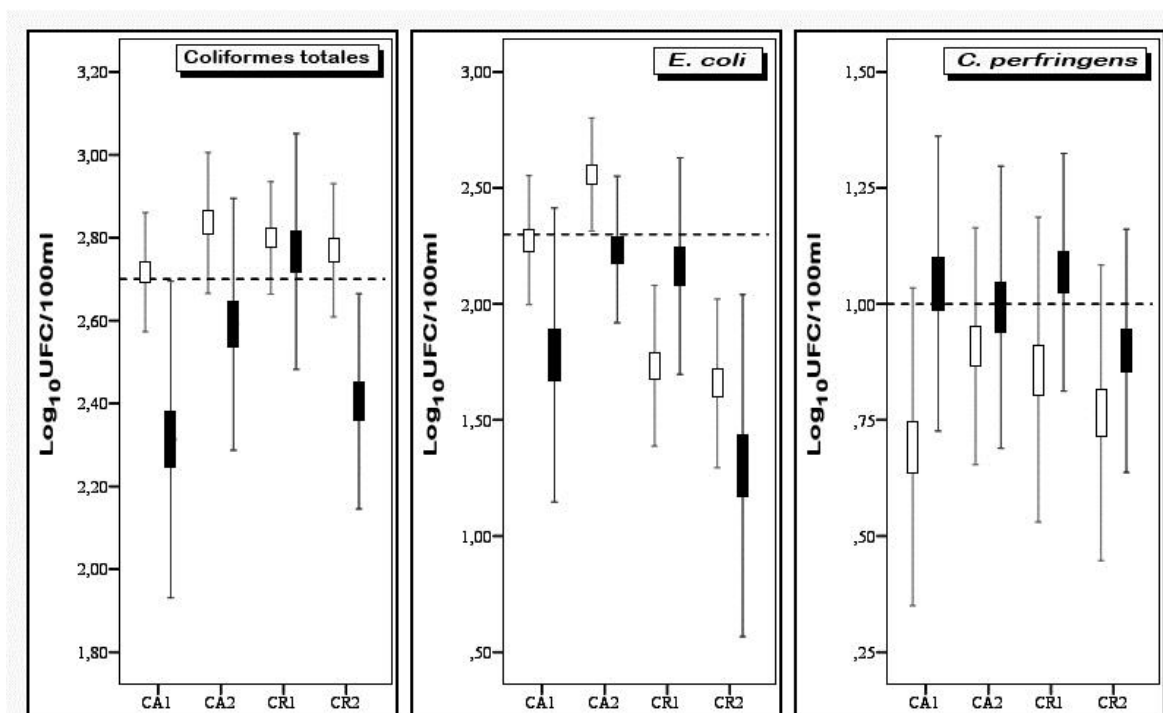


Figura 22. Concentración de las BICF en las muestras de agua para periodo seco y de lluvias.

Caja: media \pm error estándar, bigote: media \pm desviación estándar. La caja negra corresponde al periodo de lluvias, la blanca al periodo seco. Línea punteada, niveles permisibles para uso recreacional de contacto primario.

4.6.2.4 Relación entre las características físicas del agua y la concentración de BICF, según periodo de lluvias

Se empleó el coeficiente de correlación de Spearman para establecer la relación entre las características físicas y microbiológicas del agua. Las variables a relacionar fueron: turbiedad, color aparente, coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens*. Los resultados de las correlaciones en periodo seco se presentan en la Tabla 12 y para periodo de lluvias en la Tabla 13.

Tabla 11. Matriz de Correlación entre turbiedad, color aparente, coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens*, para época seca.

| | Turbiedad | Color aparente | Coliformes totales | <i>E. coli</i> | <i>C. perfringens</i> |
|-----------------------|--------------|----------------|--------------------|----------------|-----------------------|
| Turbiedad | 1,000 | | | | |
| Color aparente | 0,600 | 1,000 | | | |
| Coliformes totales | 0,220 | 0,116 | 1,000 | | |
| <i>E. coli</i> | 0,347 | 0,478 | 0,106 | 1,000 | |
| <i>C. perfringens</i> | 0,513 | 0,272 | 0,058 | 0,023 | 1,000 |

Nota: Coeficientes de correlación de Spearman significativo al nivel $p < 0,01$. N= 156. Los resultados significativos están en negrilla y cursiva.

Tabla 12. Matriz de correlación entre turbiedad, color aparente, coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens*, para época de lluvias.

| | Turbiedad | Color aparente | Coliformes totales | <i>E. coli</i> | <i>C. perfringens</i> |
|-----------------------|---------------|----------------|--------------------|----------------|-----------------------|
| Turbiedad | 1,000 | | | | |
| Color aparente | 0,658 | 1,000 | | | |
| Coliformes totales | 0,400 | 0,166 | 1,000 | | |
| <i>E. coli</i> | 0,469 | 0,174* | 0,744 | 1,000 | |
| <i>C. perfringens</i> | 0,239* | 0,313 | 0,055 | 0,096 | 1,000 |

Nota: Coeficientes de correlación de Spearman significativo al nivel $p < 0,01$. N= 132. Los resultados significativos están en negrilla y cursiva

* $p < 0,05$.

Un primer aspecto a resaltar es la correlación positiva, estadísticamente significativa, que existe entre la turbiedad y todas las otras variables, tanto para periodo seco como de lluvias. Hay una dependencia entre la turbiedad y el color aparente, en al menos en un 60%. Esto es explicable dado que para la medición del color aparente la muestra de agua no se filtra, de este modo las partículas en suspensión (turbiedad) tienen influencia en la lectura de color. La concentración de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* se correlacionan con la turbiedad en un 22, 34 y 51%, respectivamente, en periodo seco. Para periodo de lluvias la correlación entre la turbiedad, coliformes totales y *E. coli*, aumento, para *C. perfringens*, disminuyo, siendo respectivamente del 40, 47 y 24%. En segunda instancia la correlación entre el color aparente, *E. coli* y *C. perfringens* en periodo seco fue de un 48 y 27% y para periodo de lluvias 17 y 31%, respectivamente. Para terminar, no se presentó correlación entre las BIFC, salvo para coliformes totales y *E. coli* en periodo de lluvias, con un 74%.

4.6.2.5 Relación entre las BICF de agua y sedimento, según periodo de lluvias

Se empleó el coeficiente de correlación de Spearman para establecer la relación entre la concentración de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* en el sedimento y la columna de agua subyacente. Los resultados de las correlaciones en periodo seco se presentan en la Tabla 13 y para periodo de lluvias en la Tabla 14.

Tabla 13. Matriz de correlación entre coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* de agua y sedimento, para periodo seco.

| | Coliformes totales (A) | <i>E. coli</i> (A) | <i>C. perfringens</i> (A) |
|---------------------------|------------------------|--------------------|---------------------------|
| Coliformes totales (S) | 0,348 | -0,504 | 0,128 |
| <i>E. coli</i> (S) | 0,234 | -0,254 | 0,241 |
| <i>C. perfringens</i> (S) | 0,087 | -0,361 | 0,213 |

Nota: Coeficientes de correlación de Spearman significativo al nivel $p < 0,01$. N= 156. Los resultados significativos están en negrilla y cursiva.

Tabla 14. Matriz de correlación entre coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* de agua y sedimento, para época de lluvias.

| | Coliformes totales (A) | <i>E. coli</i> (A) | <i>C. perfringens</i> (A) |
|---------------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Coliformes totales (S) | 0,259 | -0,059 | 0,001 |
| <i>E. coli</i> (S) | 0,264 | 0,069* | 0,094 |
| <i>C. perfringens</i> (S) | 0,227 | -0,113 | -0,022 |

Coefficientes de correlación de Spearman significativo al nivel $p < 0,01$. N= 132. Los resultados significativos en negrilla y cursiva.

Como se ve en la Tabla 14, de las 9 relaciones establecidas entre la concentración de bacterias en el sedimento y la columna de agua por encima durante el periodo seco 7 son correlaciones significativas al nivel $p < 0,01$. En particular, y para periodo seco llama la atención la correlación negativa que existe entre *E. coli* en agua frente a coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* en sedimento, siendo respectivamente del -50, -25 y -36%. En otras palabras, se puede decir que en ausencia de lluvias, el aumento de *E. coli* genero una disminución de las BICF en el sedimento. Sin embargo, lo anterior no se aplica para coliformes totales y *C. perfringens* en agua. Correlación positiva se presenta entre coliformes totales en agua con coliformes totales y *E. coli* en sedimento con un 35 y 23%, respectivamente. Del mismo modo *C. perfringens* en agua se correlaciono con *E. coli* y *C. perfringens* en sedimento con un 24 y 21% respectivamente. Para el periodo de lluvias una correlación positiva existe entre coliformes totales en agua frente a coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* en sedimento, siendo respectivamente del 26, 26 y 23%.

4.7 DETECCIÓN DE ADN DE *H. PYLORI*

La detección de *H. pylori* en las muestras de agua se llevó a cabo mediante el método multiplex PCR, estandarizado con anterioridad en el Laboratorio de Genética Humana, Universidad del Cauca. El método inicio con la concentración de las muestras de agua por centrifugación, seguido por un protocolo de extracción de ácidos nucleicos convencional. La amplificación de los genes CagA y VacA se realizó en una sola reacción y de manera simultánea para la detección de *H. pylori*. A la reacción de PCR se le incorporó un control interno para detectar posibles inhibiciones con el objetivo de descartar falso negativos. ADN de cepas de referencia se empleó como controles positivos.

De un total de 288 muestras analizadas, 92 (32,9%) fueron positivas para *H. pylori*. En todas las estaciones de muestreo *H. pylori* fue detectado. La positividad se distribuyó de la siguiente manera: 24 (26,1%) para CA1, 21 (23,3%) para CA2 y CR1 y 26 (28,3%) para CR2. Algunos productos de PCR de *H. pylori* aislados a partir de muestras de agua se muestran en la Figura 23.

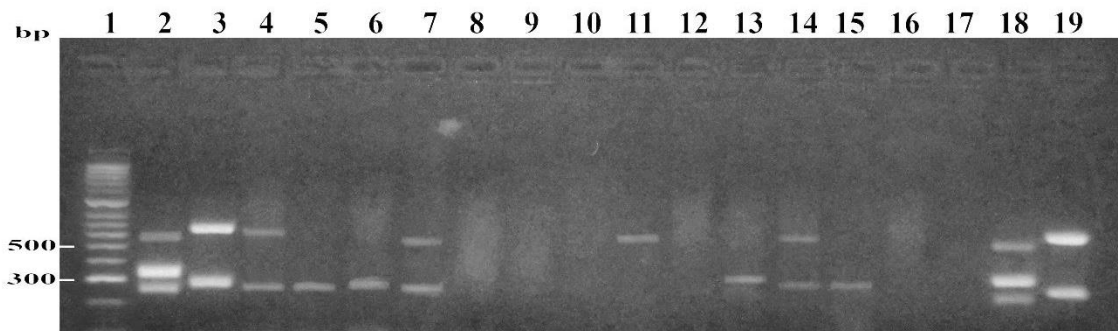


Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa.

Teñido con EZ-VISION® THREE, de los productos de PCR de ADN de *H. pylori* aislados a partir de muestras de agua. El carril 1, marcador de peso molecular HyperLadder™ 50bp; carril 2 y 18 control positivo (NCTC 11638); carril 3 y 19 control positivo (NCTC 3062), CA1; carril 4-6, CA2; carril 7-9, CR1; carril 11-13, CR2 carril 14,16 y carril 10 y 17 controles negativos. Los carriles 4-7, 11, 13-15 son positivos para *H. pylori*.

4.7.1 Frecuencia de *H. pylori*, según estaciones de muestreo y periodo de lluvias

En la Tabla 15 se muestran la frecuencia de positividad de *H. pylori* para cada estación de muestreo y para periodo seco y de lluvias. En general, se observa un aumento en el porcentaje de casos positivos durante el periodo de lluvias, pasando del 24,4 al 40,9%.

Tabla 15. Positividad de *H. pylori* según la estación de muestreo en periodo seco y de lluvias.

| | Periodo seco | | Periodo de lluvias | | Total | |
|-------|------------------|------------|--------------------|------------|-------|--------|
| | <i>H. pylori</i> | | <i>H. pylori</i> | | | |
| | negativo | positivo | negativo | positivo | | |
| | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| CA1 | 28 (71,8%) | 11 (28,2%) | 20 (60,6%) | 13 (39,4%) | 72 | (100%) |
| CA2 | 29 (74,4%) | 10 (25,6%) | 22 (66,7%) | 11 (33,3%) | 72 | (100%) |
| CR1 | 31 (79,5%) | 8 (20,5%) | 20 (60,6%) | 13 (39,4%) | 72 | (100%) |
| CR2 | 30 (76,9%) | 9 (23,1%) | 16 (48,5%) | 17 (51,5%) | 72 | (100%) |
| Total | 118 (75,6%) | 38 (24,4%) | 78 (59,1%) | 54 (40,9%) | 288 | (100%) |

4.7.2 Frecuencia de *H. pylori*, según las características físicas del agua (turbiedad y color aparente)

En la Tabla 16 se presentan los valores de turbiedad y color aparente en el agua en función de la positividad de *H. pylori*. En general se observan valores más altos de turbiedad en las muestras positivas para *H. pylori*. Sin embargo, mediante una prueba de varianza ANOVA se estableció que esa diferencia no es estadísticamente significativa, ver Anexo X.

Tabla 16. Variación en la turbiedad y el color aparente de acuerdo a la positividad de *H. pylori*.

| | <i>H. pylori</i> | | | |
|-----|------------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| | Negativo | | positivo | |
| | Turbiedad (UNT) | Color aparente (UPC) | Turbiedad (UNT) | Color aparente (UPC) |
| | media ± DS | media ± DS | media ± DS | media ± DS |
| CA1 | 3,02 ± 1,45 | 19,96 ± 11,33 | 3,18 ± 1,81 | 20,83 ± 11,37 |
| CA2 | 5,46 ± 2,55 | 33,96 ± 14,09 | 6,36 ± 4,85 | 40,67 ± 26,25 |
| CR1 | 4,36 ± 2,78 | 24,22 ± 20,17 | 4,61 ± 3,05 | 27,10 ± 22,82 |
| CR2 | 2,73 ± 1,51 | 14,50 ± 14,79 | 2,24 ± 0,81 | 10,50 ± 7,90 |

4.7.3 Frecuencia de *H. pylori*, según concentración de BICF

En la Tabla 17 se presentan las concentraciones de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* en el agua en función de la positividad de *H. pylori*. En general se observaron pequeñas diferencias en cuanto a la concentración de las BICF en relación a la presencia de *H. pylori*. Sin embargo, esas diferencias no son estadísticamente significativas.

Tabla 17. Variación en la concentración de coliformes totales, *E. coli* y *C. perfringens* de acuerdo a la positividad de *H. pylori*.

| | <i>H. pylori</i> | | | | | |
|-----|--------------------|---------------|-----------------------|--------------------|---------------|-----------------------|
| | negativo | | | positivo | | |
| | coliformes totales | <i>E.coli</i> | <i>C. perfringens</i> | coliformes totales | <i>E.coli</i> | <i>C. perfringens</i> |
| | media ± DS | media ± DS | media ± DS | media ± DS | media ± DS | media ± DS |
| CA1 | 2,52 ± 0,34 | 2,04 ± 0,55 | 0,87 ± 0,37 | 2,55 ± 0,36 | 2,07 ± 0,51 | 0,83 ± 0,39 |
| CA2 | 2,73 ± 0,25 | 2,42 ± 0,30 | 0,94 ± 0,25 | 2,71 ± 0,31 | 2,38 ± 0,38 | 0,97 ± 0,35 |
| CR1 | 2,80 ± 0,22 | 1,91 ± 0,44 | 0,92 ± 0,33 | 2,75 ± 0,22 | 1,97 ± 0,51 | 1,03 ± 0,26 |
| CR2 | 2,63 ± 0,27 | 1,52 ± 0,57 | 0,84 ± 0,35 | 2,56 ± 0,29 | 1,45 ± 0,63 | 0,81 ± 0,20 |

[Unidad: log₁₀ UFC /100mL]

5. DISCUSIÓN

El estudio de las características de las microcuencas en el marco de la vigilancia sanitaria, permitió avanzar en la identificación de las principales fuentes de contaminación que afectan la calidad del agua abastecida por el acueducto El Saladito, Timbio, Cauca. Esta información es valiosa para la búsqueda de soluciones que permitan mejorar la calidad microbiológica de las fuentes abastecimiento.

5.1 CONTAMINACIÓN DE LOS CUERPOS DE AGUA

Los resultados de inspección sanitaria en las microcuencas, mostraron que las áreas con presencia de ganado y accesos a las quebradas son una fuente primaria de contaminación (García-Armisen y Servais, 2007). La llegada de la contaminación a los cuerpos de agua está relacionada con procesos erosivos, escorrentía superficial y drenajes de vías (Rochelle-Newall et al., 2015). Los eventos de lluvias fuertes, la deforestación y las prácticas forestales comerciales intensifican la llegada de microorganismos y sólidos (Khan et al., 2015)

El uso del suelo en las cuencas hídricas es un factor importante relacionado con la calidad del agua (Delpla y Rodríguez, 2014). De acuerdo con las características de las microcuencas se puede observar que éstas presentan un uso del suelo principalmente forestal dividido entre plantaciones forestales con fines comerciales y bosque natural; en segundo lugar, se presentan áreas dispuestas para el pastoreo de ganado. La escorrentía superficial es el principal vehículo para el ingreso de contaminantes a las fuentes de agua en este tipo de áreas (Meneses et al., 2015; Schreiber et al., 2015). La evidencia recolectada en campo muestra que las microcuencas son especialmente vulnerables a la escorrentía pluvial. En las zonas con presencia de ganado la escorrentía puede arrastrar microorganismos fecales y patógenos hacia las corrientes de agua (Díaz et al., 2010), en las zonas de erosión puede aumentar los procesos erosivos y por lo tanto la cantidad de partículas que entran al cauce (Sliva et al., 2001) del mismo modo puede ocurrir en superficies tales como las vías (Montgomery, 2007). De acuerdo con Curriero et al. (2001) los eventos de lluvias fuertes seguidos de escorrentía contribuyen significativamente al riesgo de brotes de enfermedades transmitidas por el agua.

5.2 CALIDAD FÍSICA Y MICROBIOLÓGICA DE LOS CUERPOS DE AGUA

De los resultados de las características físicas del agua el pH tuvo un comportamiento estable en el tiempo. El pH aunque podría decirse que no tiene efectos directos sobre la salud, sí puede influir en los procesos de tratamiento del agua, como la coagulación y la desinfección (OMS, 2008). La turbiedad y color demostraron ser las características físicas de mayor relevancia para el análisis de

la calidad del agua (Delpla y Rodriguez, 2014). La mayoría de los resultados no se mantuvieron dentro de los valores máximos permitidos considerados en la norma. Además, se evidenció un amplio rango de dispersión, así como variabilidad en los datos y altos valores, especialmente durante el periodo de lluvias. Esta variabilidad de los valores de turbiedad y de color, podría tener relación con la eficacia de la desinfección, aspecto que debe considerarse ante la posibilidad de tratamiento (Montoya et al., 2011).

En cuanto a la turbiedad es originada por las partículas en suspensión o coloides (arcillas, limo); es decir, aquellas que por su tamaño, se encuentran suspendidas y reducen la transparencia del agua en menor o mayor grado. La turbiedad también ha sido asociada con el riesgo microbiológico potencial en el agua para consumo humano. Se ha demostrado que en el proceso de eliminación de los organismos patógenos, por la acción de agentes químicos como el cloro, las partículas causantes de la turbiedad reducen la eficiencia del proceso y protegen físicamente a los microorganismos del contacto directo con el desinfectante. Por esta razón, este parámetro debe mantenerse en valores mínimos para garantizar la eficacia del proceso de desinfección (Dearmont et al., 1998). En lo referente a la turbiedad considerar un valor menos estricto hizo que el porcentaje de muestras aptas para consumo aumentaran; sin embargo lo referente a la turbiedad, entre más bajo sea su valor, menor será el riesgo para la salud (OMS, 2011).

En relación al color aparente, este se define como a aquel que presenta el agua cruda o natural, debido no solo a sustancias en solución, sino también a materia en suspensión. Esta característica del agua puede estar ligada a la turbiedad o presentarse independientemente de ella. El color natural del agua se atribuye comúnmente a la presencia de taninos, lignina, ácidos húmicos, ácidos grasos, ácidos fúlvicos, etcétera. El color es un factor crítico en el agua natural en el momento de ser purificada producir agua de buena calidad para usos domésticos e industriales (Chow et al., 2007). Debido a que el color del agua se origina, en muchos casos, por la presencia de compuestos de naturaleza orgánica, se recomienda que la desinfección se realice luego de que este haya sido removido, para evitar que la aplicación de cloro como desinfectante pueda dar origen a la formación de trihalometanos, compuestos que tienen efecto cancerígeno (Richardson et al., 2007). De acuerdo con el artículo 39 del decreto 1594 de 1984, transitoriamente vigente, el valor máximo de color en el agua para aplicar desinfección es de 20UPC. Lo referente al color aparente, incluso con un valor menos estricto, no se lograron valores adecuados para consumo, en especial para las estaciones CA2 y CR1 donde solo el 14 y 29% de los meses presentaron valores dentro del nivel de 20UPC; respectivamente.

Considerando los resultados obtenidos para estos dos parámetros, la calidad de las fuentes de agua fue de un nivel regular, para la cual el proceso de tratamiento recomendado sería una filtración lenta en múltiples etapas o filtración directa (Ministerio de Desarrollo Económico, 2000; Ops and Cepis, 2005). Sin embargo,

los picos de alta turbiedad, definidos como todo incremento de turbiedad en el agua que conlleva a la suspensión del servicio (Montoya et al., 2011) y que influyen altamente en la operación de los sistema de potabilización (Dearmont et al., 1998; Montoya et al., 2011) deben ser evaluados dadas las condiciones de las microcuencas, mencionadas anteriormente, relacionadas con los eventos de lluvias fuertes, el aumento súbito de caudal y arrastre de partículas. Cabe mencionar que junto con los picos de turbiedad se presentan generalmente picos de microorganismos fecales (Kistemann et al., 2002), estos dos parámetros se ven fuertemente influenciados por las condiciones climáticas (Delpla y Rodriguez, 2014).

Los resultados del monitoreo a las fuentes de abastecimiento durante 24 semanas supone sustentabilidad del agua para uso recreacional de contacto primario. Las mejores características en términos de calidad las presento la estación CR2 y las más deficientes CA2. Las lluvias tuvieron una influencia importante en el caudal que transportan las quebradas, que a su vez tuvieron una influencia en el comportamiento de las BICF. Del mismo modo la turbiedad y el color presentaron una correlación con la concentración de las BICF.

Los resultados para coliformes totales y *E. coli* mostraron concentraciones más altas durante el periodo seco al contrario de lo que se pudo pensar que sucedería, se puede suponer que los niveles caudal más altos en época de lluvias estaría relacionados con esto, dado el poder de dilución del agua. Durante el periodo de lluvias se observó una correlación significativa entre estos dos indicadores. Para periodo seco no ocurrió lo mismo, dado que la concentración de coliformes totales tuvo un incremento más pronunciado con el paso del tiempo y la disminución del caudal. Es importante recordar que la presencia no es una indicación directa de contaminación por agentes patógenos. Por otro lado, la presencia de *E. coli* en las muestras de agua es indicativa de contaminación fecal, lo que expone a la población consumidora a un peligro por la presencia de agentes patógenos (OMS, 2011).

Para *C. perfringens* los resultados mostraron concentraciones más altas durante los periodos de lluvias. En general concentración de *C. perfringens* se observó que fueron menores en al menos una unidad logarítmica a los de *E. coli* lo que coincide con el con lo reportado por Byamukama et al. (2005). En las heces humanas las concentraciones de *E. coli* son de al menos 2 órdenes de magnitud mayores que las de *C. perfringens* (Bisson et al., 1980). Si bien el monitoreo de *C. perfringens* no es un parámetro que este contemplado en la normatividad colombiana, su presencia indica el riesgo de la presencia de de quistes de Giardia y ooquistes de Cryptosporidim en el agua de consumo, los cuales se consideran patógenos transmitidos por el agua. El análisis de estos protozoos es complejo y costoso, por lo que algunos autores sugieren el uso de esporas de *C. perfringens* como un indicador conservador para la presencia y el destino de Giardia y ooquistes de Cryptosporidium en los sistemas acuáticos debido a su

supervivencia, tamaño y la asociación con partículas (Bisson et al., 1980; Payment y Franco, 1993). Un estudio epidemiológico en sistemas de agua dulce demostró efectos adversos para la salud cuando el nivel promedio de *C. perfringens* estuvo por encima de 10 UFC/100mL, señaló entonces, que los bajos niveles de este indicador puede estar asociada con un riesgo para la salud humana. El vínculo entre los niveles de *C. perfringens* y los resultados negativos en la salud humanas apoya el uso de este organismo como un sustituto de patógenos humanos, específicamente, protozoos y virus entéricos (Wiedenmann et al., 2006). En este sentido, las esporas de *C. perfringens* se pueden usar para medir la eficacia de la eliminación de protozoarios y virus por procesos de filtración (OMS, 2011).

5.3 EL SEDIMENTO MATRIZ DE INTERÉS PARA LA SALUD PÚBLICA

Hay que mencionar que los resultados de este estudio indican que las concentraciones de BICF son significativamente más altas en los sedimentos que en la columna de agua, lo cual es consistente con estudios previos alrededor del mundo: Sudáfrica (Abia et al., 2015), Nueva Zelanda (Devane et al., 2014); República Democrática del Congo (Tshibanda et al., 2014), Estados Unidos (Brinkmeyer et al., 2015), Bélgica (Ouattara et al., 2011); Suiza (Thevenon et al., 2012) y Canadá (Droppo et al., 2011). Este estudio aporta evidencia que respalda la consideración del sedimento como reservorio de BICF y en consecuencia de patógenos.

Los resultados sugieren que la presencia de BICF en el sedimento está relacionada con el contenido de materia orgánica y el contenido de agua en el espacio intersticial, generado por el tamaño de partículas. El sedimento pueden representar un ambiente propicio para la supervivencia bacteriana por periodos más prolongados que en el agua (Pote et al., 2009) debido a la disponibilidad de nutrientes y materia orgánica soluble (Jamieson et al., 2005) así como la protección ante depredadores, como los protozoos, (Kunkel et al., 2013) y a la exposición a los rayos de luz UV (Liang et al., 2013). Howell et al. (1996) indican que la supervivencia de BICF está influenciada por el tamaño de las partículas del sedimento.

La distribución de tamaño de partículas, contenido de materia orgánica y la humedad a menudo se han sido mencionadas como factores que afectan la supervivencia de las bacterias en los sedimentos. Burton et al. (1987) encontraron que la supervivencia de *E. coli* era mayor en sedimento con un contenido de al menos 25% de arcillas (< 2µm), presumiblemente debido a una mayor adhesión a las partículas de sedimento más fino. Otros estudios han mostrados que la *E. coli* sobrevive mejor en sedimento con predominio de partículas grandes con tamaños de 125 a 500µm; talvez porque las partículas grandes de sedimento facilita el incremento de porosidad, permeabilidad y disponibilidad de nutrientes (Cinotto, 2005). De modo similar, se ha observado diferentes efectos del contenido materia

orgánica en la supervivencia de la *E. coli*. (Banning, 2003) sugirió que el incremento de la disponibilidad de nutrientes podría tener un pequeño efecto en la permanencia de la *E. coli* debido a la competencia por los nutrientes con otros microorganismos. Por otro lado Lee et al. (2006) monitoreo el crecimiento *E. coli* en un ambiente en ausencia de materia orgánica, los niveles de *E. coli* medidos en estos estuvieron por debajo del límite de detección. Garzio-Hadzick et al. (2010) sugiere que la concentración de *E. coli* no tiende a variar sustancialmente en suelos con bajo contenido de materia orgánica y baja proporción de partículas finas. Una correlación significativa entre la humedad y *E. coli* fue reportada por (Byappanahalli et al., 2003).

El sedimento como reservorio de BICF y patógenos puede afectar la calidad microbiológica del agua a través de resuspensión de los sedimentos y la liberación de estos microorganismos desde la cama de sedimentos a la columna de agua. La resuspensión del sedimento puede darse como resultado actividades humanas y/o una serie de procesos naturales como el viento, lluvias y la bioturbación (Wang et al., 2015). En particular, los eventos de lluvias fuertes pueden generar resuspensión (Cho et al., 2010b; Fries et al., 2008; Shelton et al., 2014) y se correlacionan con brotes de enfermedades transmitidas por el agua debidas al consumo de agua contaminada (Curriero et al., 2001).

Actualmente no se cuenta con parámetros de referencia en la normatividad colombiana ni internacional para evaluar la calidad microbiológica del sedimento, el seguimiento de sustancias químicas de interés y metales pesados son los que están reglamentados para esta matriz, dado que juegan un papel muy importante en la acumulación de estos contaminantes. Sin embargo, la evaluación de BICF en los sedimentos puede representar un índice más estable de la calidad del agua en términos generales o de largo plazo que en el agua (Pachepsky y Shelton, 2011). Además, el vínculo que existe entre los sedimentos y el transporte de patógenos argumenta la necesidad de hacer una gestión sobre estos (Falbo et al., 2013). La no inclusión de evaluación de la calidad microbiológica del sedimento como parte de los programas de monitoreo podría subestimar la carga microbiana real de la cuenca y puede representar un posible riesgo para la salud humana en un evento de resuspensión de sedimentos (Obasohan et al., 2010).

5.4 HELICOBACTER PYLORI PRESENTE EN LAS FUENTES DE ABASTECIMIENTO

Este estudio pudo demostrar la presencia de *H. pylori* en las cuatro fuentes de agua superficial evaluadas, sumándose a la evidencia de la presencia de este patógeno en diferentes muestras de agua alrededor del mundo: Puerto Rico (Holman et al., 2014), Estados Unidos (Hegarty et al., 1999), México (Mazari-Hiriart et al., 2001), Japón (Fujimura et al., 2004), Inglaterra (Watson et al., 2004), Pakistán (Khan et al., 2012), Iraq (Al-Sulami et al., 2012), España (Queralt et al.,

2005), Suecia (Hultén et al., 1998), Perú (Hultén et al., 1996) y Gambia (Bunn et al., 2002). Según la bibliografía disponible y consultada este estudio sería el primero en mostrar la presencia de ADN de *H. pylori* en muestras en agua en Colombia. Este estudio aporta evidencia que respalda la transmisión del *H. pylori* a través del agua.

La presencia de *H. pylori* en las todas fuentes de abastecimiento evaluadas sugiere la posibilidad de que la población que consume el agua y/o algún producto como frutas y hortalizas que son regadas con el agua estaría expuesta potencialmente a adquirir la infección. Estudios indican que la inoculación de agua con heces de individuos infectados con *H. pylori* puede actuar como un medio de transmisión de persona a persona para la infección por *H. pylori* (Janzon et al., 2009; Vale y Vitor, 2010). La capacidad del *H. pylori* para cambiar a formas viables no cultivables (VNC) permite que las bacterias sobrevivan y persisten en ambientes acuáticos por incluso varios días (Adams et al., 2003).

Cabe mencionar que la PCR al ser una técnica cualitativa no permite diferenciar, por si sola, si el ADN de *H. pylori* encontrado pertenece a células vivas o a células muertas, tampoco establece la concentración de la bacteria en las muestras, siendo estas limitaciones intrínsecas de la técnica. De este modo no se puede afirmar que la presencia de ADN en *H. pylori* constituya un riesgo inminente de contraer la infección, se requieren de estudios complementarios para corroborar esta hipótesis.

Las investigaciones siguientes deben estar dirigidas a determinar el número de células de *H. pylori* en las muestras de agua, las formas en las que se encuentra y la viabilidad o no de estas. Lo anterior con el fin de establecer el riesgo para la salud pública de la posible transmisión de esta bacteria, en función de la concentración de *H. pylori* y si esta representa una concentración infecciosa y su viabilidad. En este sentido Vale y Vitor (2010), mencionan que la dosis infecciosa de *H. pylori* en humanos puede ser de 10^5 células.

Es necesario dejar de manifiesto que la literatura menciona que el agua puede ser un reservorio de *H. pylori* pero existen varias rutas más para la transmisión de la infección (Ahmed et al., 2009; Nurgalieva et al., 2002). La infección con *H. pylori* no implica un único modo de transmisión, la posibilidad de múltiples vías fue indicado por Goodman et al. (1996). Una de ellas las prácticas sanitarias deficientes (Nurgalieva et al., 2002).

Conocer la fuente de la infección es un paso necesario hacia la prevención. Salih (2009) sugirió hervir el agua como una medida preventiva. En relación a lo anterior, de acuerdo con una encuesta de corte transversal en Kazajstán se encontró que las personas con un alto índice de agua limpia, basado en la frecuencia con que hervían el agua, almacenamiento y reutilización de agua y la frecuencia de baño, eran menos propensos a tener la infección (Nurgalieva et al.,

2002). Hoy en día, es muy recomendable hervir el agua para beber, o incluso para el lavado de las manos y los platos. Esta sencilla medida es especialmente recomendada para aquellos que carecen de un sistema de purificación de agua confiable dentro de la comunidad.

Considerando todo lo antes mencionado, la posibilidad de transmisión de *H. pylori* a través del agua tiene algunas implicaciones, por una parte la transmisión de la infección se podría prevenir mediante la aplicación de medidas de higiene, agua potable y saneamiento (Nurgalieva et al., 2002). Por otra parte, es probable que haya una crisis en las décadas siguientes de disponibilidad de agua potable, y la carga de esta crisis recae especialmente en los países en desarrollo (OMS y UNICEF, 2014). Si se considera el cambio climático y como este afecta la demografía del planeta y la disponibilidad del agua el problema es aún más grave, afectando de este modo las dinámicas de transmisión de la infección (Ahmed et al., 2009). Los cambios futuros en el clima sólo aumentará la propagación de patógenos en el agua, señala Hofstra (2011) en una revisión de los posibles impactos a futuro causados por el cambio climático sobre los agentes patógenos en las aguas superficiales. Esta situación será más problemática en los países en desarrollo, donde las infraestructuras para hacer frente a las inundaciones y las medidas adecuadas de protección de la salud pública son insuficientes.

Actualmente, la lucha contra con las infecciones transmitidas por el agua, se centran en las enfermedades infecciosas con alta mortalidad, como el cólera y otras enfermedades diarreicas. Sin embargo, la prevención de infecciones asociadas a enfermedades crónicas (por ejemplo, *H. pylori* y cáncer gástrico) debe ser una prioridad de las organizaciones de salud en las próximas décadas (Aziz et al., 2013).

6. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio surgieron que la escorrentía en las microcuencas abastecedoras constituye una fuente importante de contaminación microbiológica difusa de los cuerpos de agua. Una gestión adecuada en las microcuencas requiere de medidas de control para limitar la llegada de contaminación.

Las concentraciones de los indicadores microbiológicos evaluados reflejaron niveles de contaminación del recurso hídrico que no la hacen viable para un uso directo para consumo humano. Los resultados también mostraron que existen diferencias temporales en las concentraciones, influenciadas principalmente por las lluvias. Los 6515 usuarios acueducto rural El Saladito, Timbio, Cauca, se encuentran expuestos a un riesgo sanitario, al consumir el agua cruda.

En conclusión, este estudio proporciono evidencia de la presencia de *H. pylori* en las muestras de agua de las fuentes de abastecimiento de acueducto rural El Saladito, Timbio, Cauca. Lo cual, sin duda, esto prevé un mejor escenario para investigar el rol que desempeña el agua como vector de infección por *H. pylori*

Este estudio pudo establecer que el sedimento del fondo de los cauces es un potencial reservorio de bacterias de origen fecal y en consecuencia de patógenos. Se hace énfasis en que se debe considerar al sedimento como una fuente de contaminación fecal. La eventual resuspensión del sedimento durante los eventos de alto flujo puede poner en riesgo la calidad microbiológica del agua. También se señala la importancia de una mayor investigación de la dinámica y las interacciones entre los dos compartimentos - la columna de agua y el sedimento, en relación con las bacterias de origen fecal, así como la supervivencia de patógenos.

La principal limitación de este estudio fue el pequeño rango temporal y la falta de muestras durante evento de lluvias torrenciales. Se reconoce que una carga bacteriana elevada podría haber ocurrido durante las lluvias, desafortunadamente, el plan de muestreos no fue suficiente para tener eventos de escorrentía asociados a lluvias torrenciales.

7. RECOMENDACIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio en relación a la contaminación microbiológica de las fuentes de abastecimiento se sugieren algunas medidas para su manejo y control:

- Hacer un monitoreo de la calidad microbiológica de las fuentes de abastecimiento es una actividad importante que permite hacer un seguimiento de la efectividad de las prácticas encaminadas a su mejoramiento. El monitoreo de la calidad de agua en zonas rurales de Colombia presenta muchas dificultades que se deben tener en cuenta (Wright et al., 2014).
- Considerar al sedimento como una fuente de contaminación y realizar estudios donde se evalué la distribución (horizontal y vertical) de los microorganismos indicadores y patógenos presentes en el sedimento y la dinámica de intercambio de estos con la columna de agua.
- Las concentraciones 10000 veces mayores en el sedimento que en la columna de agua y la presencia del patógeno humano *Helicobacter pylori* en el agua, cuestiona la evaluación tradicional de la calidad microbiológica de las fuentes de abastecimiento, por tanto se debe valorar las normas actuales con los resultados de estos estudios de tal forma que les sirvan a las autoridades ambientales para establecer políticas y normas en procura de la protección de la población que consume el agua (Holman et al., 2014; Pachepsky y Shelton, 2011)
- Establecer la técnica PCR como herramienta en estudios de monitoreo del patógeno *Helicobacter pylori* en otros ambientes acuáticos similares y desarrollar estudios en los cuales se evalué la presencia y abundancia del *Helicobacter pylori* no solo en el agua, sino también en el sedimento y en la biopelículas que se forman en el sistema de abastecimiento (Linke et al., 2010; Zhang et al., 2012).
- Entre las consecuencias más ampliamente previstas y aceptadas del cambio climático global son el aumento en la frecuencia y severidad de una variedad de fenómenos meteorológicos extremos, entre ellos las lluvias fuertes. Las fuentes de abastecimiento muestran una especial vulnerabilidad a estos eventos de lluvias fuertes. Khan et al. (2015) presentan en su revisión algunas estrategias eficaces de mitigación para este y otros fenómenos meteorológicos extremos. En particular para lluvias fuerte plantean: diversificación de las fuentes de abastecimiento. Pre filtración del agua superficial antes de la llegada al sistema de potabilización. Procesos de desinfección. Suministro de dispositivos de filtración en las viviendas y kits de pruebas de calidad de agua. Suministro y almacenamiento alternativo de agua. Hervir el agua. Implementación plan de un contingencia en el sistema de tratamiento ante el pronóstico de un evento de esta naturaleza.

- A fin de reducir el transporte de bacterias de origen fecal, patógenos, sedimentos y nutrientes a las aguas superficiales por la escorrentía superficial pluvial (Walters et al., 2011) sugieren que la aplicación de franjas de protección ribereñas podrían ser útiles. Prácticas de reforestación y manejo del uso del suelo pueden contribuir al mejoramiento de la calidad del agua (Delpla y Rodriguez, 2014). Llevar a cabo estas actividades es especialmente complicado cuando el acueducto no es dueño del área en cuestión. Por esta razón el trabajo en conjunto con la comunidad que habita o es propietaria de los terrenos en la cuenca es de vital importancia. Por último y no menos importante debe ser el aislamiento de los cursos de agua para el ganado. Suministrar bebederos y pasos alternativos para el ganado deben estar en el plan de actividades. Cabe mencionar que se debe pensar en el futuro actuando en el presente, con el fin de garantizar cantidad y calidad en el recurso hídrico.

BIBLIOGRAFIA

- Abia, A.L.K., Ubomba-Jaswa, E., Momba, M.N.B., 2015. Impact of seasonal variation on *Escherichia coli* concentrations in the riverbed sediments in the Apies River, South Africa. *Sci. Total Environ.* 537, 462–469. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.07.132
- Acosta, C.P., Hurtado, F.A., Trespalacios, A.A., 2013. Determinación de mutaciones de un solo nucleótido en el gen 23S rRNA de *Helicobacter pylori* relacionadas con resistencia a claritromicina en una población del departamento del Cauca, Colombia. *Biomédica* 34, 156. doi:10.7705/biomedica.v34i0.1649
- Adams, B.L., Bates, T.C., Oliver, J.D., 2003. Survival of *Helicobacter pylori* in a Natural Freshwater Environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 7462–7466. doi:10.1128/AEM.69.12.7462
- Ahmed, N., 2005. 23 years of the discovery of *Helicobacter pylori*: is the debate over? *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 4, 17. doi:10.1186/1476-0711-4-17
- Ahmed, N., Tenguria, S., Nandanwar, N., 2009. *Helicobacter pylori*--a seasoned pathogen by any other name. *Gut Pathog.* 1, 24. doi:10.1186/1757-4749-1-24
- Alcamo, J., Reder, K., Fl, M., 2015. Environmental Modelling & Software Modeling historical fecal coliform loadings to large European rivers and resulting in-stream concentrations 63. doi:10.1016/j.envsoft.2014.10.001
- Al-Sulami, a a, Al-Edani, T. a a, Al-Abdula, a a, 2012. Culture Method and PCR for the Detection of *Helicobacter pylori* in Drinking Water in Basrah Governorate Iraq. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2012, 245167. doi:10.1155/2012/245167
- An, Y.-J., Kampbell, D.H., Breidenbach, G.P., 2002. *Escherichia coli* and total coliforms in water and sediments at lake marinas. *Environ. Pollut.* 120, 771–8.
- APHA, 1999. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. doi:10.2105/AJPH.51.6.940-a
- Atherton, J.C., Cao, P., Peek, R.M., Tummuru, M.K.R., Blaser, M.J., Cover, T.L., 1995. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J. Biol. Chem.* doi:10.1074/jbc.270.30.17771
- Atherton, J.C., Cover, T.L., Twells, R.J., Morales, M.R., Hawkey, C.J., Blaser, M.J., 1999. Simple and accurate PCR-based system for typing vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2979–2982.
- Aw, T.G., Rose, J.B., 2012. Detection of pathogens in water: from phylochips to qPCR to pyrosequencing. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23, 422–430. doi:10.1016/j.copbio.2011.11.016
- Azevedo, N.F., 2005. Survival of *Helicobacter pylori* in drinking water and associated biofilms.
- Aziz, R.K., Khalifa, M.M., Sharaf, R.R., 2013. Contaminated water as a source of *Helicobacter pylori* infection. *J. Adv. Res.* doi:10.1016/j.jare.2013.07.007

- Bain, R., Cronk, R., Hossain, R., Bonjour, S., Onda, K., Wright, J., Yang, H., Slaymaker, T., Hunter, P., Prüss-Ustün, A., Bartram, J., 2014a. Global assessment of exposure to faecal contamination through drinking water based on a systematic review. *Trop. Med. Int. Health* 19, 917–27. doi:10.1111/tmi.12334
- Bain, R., Cronk, R., Wright, J., Yang, H., Slaymaker, T., Bartram, J., 2014b. Fecal Contamination of Drinking-Water in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS Med.* 11. doi:10.1371/journal.pmed.1001644
- Banning, N., 2003. Persistence of biofilm-associated *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in groundwater and treated effluent in a laboratory model system. *Microbiology* 149, 47–55. doi:10.1099/mic.0.25938-0
- Bartram, J., Brocklehurst, C., Fisher, M.B., Luyendijk, R., Hossain, R., Wardlaw, T., Gordon, B., 2014. Global Monitoring of Water Supply and Sanitation: History, Methods and Future Challenges. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 11, 8137–8165. doi:10.3390/ijerph110808137
- Bellack, N.R., Koehoorn, M.W., MacNab, Y.C., Morshed, M.G., 2006. A conceptual model of water's role as a reservoir in *Helicobacter pylori* transmission: a review of the evidence. *Epidemiol. Infect.* 134, 439–49. doi:10.1017/S0950268806006005
- Bisson, A.J.W., Cabelli, V.J., Bisson, J.W., Agency, P., Kingston, W., 1980. *Clostridium perfringens* as a Water Pollution Indicator All use subject to JSTOR Terms and Conditions *Clostridium as a water perfringens pollution indicator* 52, 241–248.
- Bowles, J.E., 1984. Physical and geotechnical properties of soils. McGraw-Hill, Inc. Second edi.
- Brinkmeyer, R., Amon, R.M.W., Schwarz, J.R., Saxton, T., Roberts, D., Harrison, S., Ellis, N., Fox, J., DiGuardi, K., Hochman, M., Duan, S., Stein, R., Elliott, C., 2015. Distribution and persistence of *Escherichia coli* and *Enterococci* in stream bed and bank sediments from two urban streams in Houston, TX. *Sci. Total Environ.* 502, 650–658. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.09.071
- Bunn, J.E.G., MacKay, W.G., Thomas, J.E., Reid, D.C., Weaver, L.T., 2002. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in drinking water biofilms: implications for transmission in early life. *Lett. Appl. Microbiol.* 34, 450–4.
- Burton, G.A., Gunnison, D., Lanza, G.R., 1987. Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 633–638.
- Byamukama, D., Mach, R.L., Kansiime, F., Manafi, M., Farnleitner, A.H., 2005. Discrimination efficacy of fecal pollution detection in different aquatic habitats of a high-altitude tropical country, using presumptive coliforms, *Escherichia coli*, and *Clostridium perfringens* spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 65–71. doi:10.1128/AEM.71.1.65-71.2005
- Byappanahalli, M., Fowler, M., Shively, D., Whitman, R., 2003. Ubiquity and Persistence of *Escherichia coli* in a Midwestern Coastal Stream † 69, 4549–4555. doi:10.1128/AEM.69.8.4549
- Cabral, J.P.S., 2010. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 7, 3657–3703. doi:10.3390/ijerph7103657

- Centro-de-Salud-Timbio, 2014. Informe de gestion y rendicion de cuentas. <http://cdsdetimbioese.timbio-cauca.gov.co/apc-aa-files/36386330643738306630393035313261/informe-de-gestion-ese-timbio-2014.pdf>.
- Chattopadhyay, S., Patra, R., Ramamurthy, T., Chowdhury, A., Santra, A., Dhali, G.K., Bhattacharya, S.K., Berg, D.E., Nair, G.B., Mukhopadhyay, A.K., 2004. Multiplex PCR Assay for Rapid Detection and Genotyping of *Helicobacter pylori* Directly from Biopsy Specimens. *Society* 42, 2821–2824. doi:10.1128/JCM.42.6.2821
- Cho, K.H., Cha, S.M., Kang, J.H., Lee, S.W., Park, Y., Kim, J.W., Kim, J.H., 2010a. Meteorological effects on the levels of fecal indicator bacteria in an urban stream: A modeling approach. *Water Res.* 44, 2189–2202. doi:10.1016/j.watres.2009.12.051
- Cho, K.H., Pachepsky, Y. a., Kim, J.H., Guber, a. K., Shelton, D.R., Rowland, R., 2010b. Release of *Escherichia coli* from the bottom sediment in a first-order creek: Experiment and reach-specific modeling. *J. Hydrol.* 391, 322–332. doi:10.1016/j.jhydrol.2010.07.033
- Chow, A.T., Dahlgren, R.A., Harrison, J.A., 2007. Watershed sources of disinfection byproduct precursors in the Sacramento and San Joaquin Rivers, California. *Environ. Sci. Technol.* 41, 7645–7652. doi:10.1021/es070621t
- Cinotto, P.J., 2005. Occurrence of Fecal-Indicator Bacteria and Protocols for Identification of Fecal- Contamination Sources in Selected Reaches of the West Branch Brandywine Creek , Chester County , Pennsylvania U . S . Department of the Interior. Director 1–91.
- Curriero, F.C., Patz, J. a., Rose, J.B., Lele, S., 2001. The association between extreme precipitation and waterborne disease outbreaks in the United States, 1948-1994. *Am. J. Public Health* 91, 1194–1199. doi:10.2105/AJPH.91.8.1194
- CVC, C.A.R. del V. del C., Valle, U. del, 2005. Manual de procedimientos hidrometricos 13, 165.
- Davies, C.M., Long, J. a H., Donald, M., Ashbolt, N.J., 1995. Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1888–1896.
- Dearmont, D., McCarl, B., Tolman, D., 1998. Cost of Water Treatment due to diminished water quality : A case study in Texas. *Water Resour. Res.* 34, 849–853.
- Delpla, I., Rodriguez, M.J., 2014. Effects of future climate and land use scenarios on riverine source water quality. *Sci. Total Environ.* 493, 1014–24. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.06.087
- Devane, M.L., Moriarty, E.M., Wood, D., Webster-Brown, J., Gilpin, B.J., 2014. The impact of major earthquakes and subsequent sewage discharges on the microbial quality of water and sediments in an urban river. *Sci. Total Environ.* 485-486, 666–80. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.03.027
- Díaz, F.J., O'Geen, A.T., Dahlgren, R. a., 2010. Efficacy of constructed wetlands for removal of bacterial contamination from agricultural return flows. *Agric. Water Manag.* 97, 1813–1821. doi:10.1016/j.agwat.2010.06.015

- Droppo, I.G., Krishnappan, B.G., Liss, S.N., Marvin, C., Biberhofer, J., 2011. Modelling sediment-microbial dynamics in the South Nation River, Ontario, Canada: Towards the prediction of aquatic and human health risk. *Water Res.* 45, 3797–3809. doi:10.1016/j.watres.2011.04.032
- Falbo, K., Schneider, R.L., Buckley, D.H., Walter, M.T., Bergholz, P.W., Buchanan, B.P., 2013. Roadside ditches as conduits of fecal indicator organisms and sediment: implications for water quality management. *J. Environ. Manage.* 128, 1050–9. doi:10.1016/j.jenvman.2013.05.021
- Field, K.G., Samadpour, M., 2007. Fecal source tracking, the indicator paradigm, and managing water quality. *Water Res.* 41, 3517–38. doi:10.1016/j.watres.2007.06.056
- Fries, J.S., Characklis, G.W., Noble, R.T., 2008. Sediment-water exchange of *Vibrio* sp. and fecal indicator bacteria: implications for persistence and transport in the Neuse River Estuary, North Carolina, USA. *Water Res.* 42, 941–50. doi:10.1016/j.watres.2007.09.006
- Fujimura, S., Kato, S., Kawamura, T., 2004. *Helicobacter pylori* in Japanese river water and its prevalence in Japanese children. *Lett. Appl. Microbiol.* 38, 517–21. doi:10.1111/j.1472-765X.2004.01529.x
- García, A., Salas-Jara, M.J., Herrera, C., González, C., 2014. Biofilm and *Helicobacter pylori*: From environment to human host. *World J. Gastroenterol.* 20, 5632–5638. doi:10.3748/wjg.v20.i19.5632
- Garcia-Armisen, T., Servais, P., 2007. Respective contributions of point and non-point sources of *E. coli* and enterococci in a large urbanized watershed (the Seine river, France). *J. Environ. Manage.* 82, 512–8. doi:10.1016/j.jenvman.2006.01.011
- Garrido-Pérez, M.C., Anfuso, E., Acevedo, a, Perales-Vargas-Machuca, J. a, 2008. Microbial indicators of faecal contamination in waters and sediments of beach bathing zones. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 211, 510–7. doi:10.1016/j.ijheh.2007.09.010
- Garzio-Hadzick, a., Shelton, D.R., Hill, R.L., Pachepsky, Y. a., Guber, a. K., Rowland, R., 2010. Survival of manure-borne *E. coli* in streambed sediment: Effects of temperature and sediment properties. *Water Res.* 44, 2753–2762. doi:10.1016/j.watres.2010.02.011
- Gião, M.S., Azevedo, N.F., Wilks, S. a, Vieira, M.J., Keevil, C.W., 2008. Persistence of *Helicobacter pylori* in heterotrophic drinking-water biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 5898–904. doi:10.1128/AEM.00827-08
- Girones, R., Ferrús, M.A., Alonso, J.L., Rodríguez-Manzano, J., Calgua, B., Corrêa, A.D.A., Hundesa, A., Carratala, A., Bofill-Mas, S., 2010. Molecular detection of pathogens in water--the pros and cons of molecular techniques. *Water Res.* 44, 4325–39. doi:10.1016/j.watres.2010.06.030
- Goodman, K.J., Correa, P., Tenganá Aux, H.J., Ramírez, H., DeLany, J.P., Guerrero Pepinosa, O., López Quiñones, M., Collazos Parra, T., 1996. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *Am. J. Epidemiol.* 144, 290–9.
- Guzmán, B.L., Nava, G., Díaz, P., 2015. La calidad del agua para consumo humano y su

- asociación con la morbimortalidad en Colombia , 2008-2012 177–190.
- Hegarty, J.P., Dowd, M.T., Baker, K.H., 1999. Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. *J. Appl. Microbiol.* 87, 697–701.
- Hofstra, N., 2011. Quantifying the impact of climate change on enteric waterborne pathogen concentrations in surface water. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 3, 471–479. doi:10.1016/j.cosust.2011.10.006
- Holman, C.B., Bachoon, D.S., Otero, E., Ramsubhag, A., 2014. Detection of *Helicobacter pylori* in the coastal waters of Georgia, Puerto Rico and Trinidad. *Mar. Pollut. Bull.* 79, 354–8. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.11.021
- Howell, J.M., Coyne, M.S., Cornelius, P.L., 1996. Effect of Sediment Particle Size and Temperature on Fecal Bacteria Mortality Rates and the Fecal Coliform/Fecal Streptococci Ratio. *J. Environ. Qual.* 25, 1216. doi:10.2134/jeq1996.00472425002500060007x
- Hultén, K., Enroth, H., Nyström, T., Engstrand, L., 1998. Presence of *Helicobacter* species DNA in Swedish water. *J. Appl. Microbiol.* 85, 282–6.
- Hulten, K., Han, S.O.K.W., Enroth, H., Klein, P.D., Opekun, A.R., Gilman, R.H., Evans, Ø.D.G., Engstrand, L., Graham, D.Y., Zaatari, F.A.K.E.L., 1996. *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 110, 1031–1035.
- IDEAM, 2010. Leyenda Nacional de Coberturas de la Tierra CORINE Land Cover adaptada para Colombia Escala 1:100,000. Inst. Hidrol. Meteorol. y Estud. Ambient. 72.
- IGAC, (Instituto Geográfico Agustín Codazzi), 2006. Métodos analíticos del laboratorio de suelos. VI Edición. Bogotá. IGAC Subdirección Agrol. 499.
- Instituto Nacional de Salud (INS), 2011. Manual de instrucciones para la toma, preservación y transporte de muestras de agua de consumo humano para análisis de laboratorio.
- Jamieson, R., Gordon, R., Joy, D., Lee, H., 2004. Assessing microbial pollution of rural surface waters: A review of current watershed scale modeling approaches. *Agric. Water Manag.* 70, 1–17. doi:10.1016/j.agwat.2004.05.006
- Jamieson, R., Joy, D.M., Lee, H., Kostaschuk, R., Gordon, R., 2005. Transport and deposition of sediment-associated *Escherichia coli* in natural streams. *Water Res.* 39, 2665–75. doi:10.1016/j.watres.2005.04.040
- Janzon, A., Sjöling, A., Lothigius, A., Ahmed, D., Qadri, F., Svennerholm, A.-M., 2009. Failure to detect *Helicobacter pylori* DNA in drinking and environmental water in Dhaka, Bangladesh, using highly sensitive real-time PCR assays. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 3039–44. doi:10.1128/AEM.02779-08
- Junqueira, C.V.A., Neto, R.C., Silva, N., Terra, J.H., 2012. Comparison of methods for the enumeration of *Clostridium perfringens* spores in water 227–233. doi:10.2166/WSL2012.758
- Kelsey, H., Porter, D.E., Scott, G., Neet, M., White, D., 2004. Using geographic information systems and regression analysis to evaluate relationships between land use and fecal

- coliform bacterial pollution. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 298, 197–209. doi:10.1016/S0022-0981(03)00359-9
- Khan, A., Farooqui, A., Kazmi, S.U., 2012. Original Article Presence of *Helicobacter pylori* in drinking water of Karachi , Pakistan.
- Khan, S.J., Deere, D., Leusch, F.D.L., Humpage, A., Jenkins, M., Cunliffe, D., 2015. Extreme weather events: Should drinking water quality management systems adapt to changing risk profiles? *Water Res.* 85, 124–136. doi:10.1016/j.watres.2015.08.018
- Kim, S.S., Ruiz, V.E., Carroll, J.D., Moss, S.F., 2011. *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastric cancer and gastric lymphoma. *Cancer Lett.* 305, 228–38. doi:10.1016/j.canlet.2010.07.014
- Kistemann, T., Classen, T., Koch, C., Dangendorf, F., Fischeider, R., Gebel, J., Vacata, V., Exner, M., 2002. Microbial load of drinking water reservoir tributaries during extreme rainfall and runoff. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2188–2197. doi:10.1128/AEM.68.5.2188
- Kunkel, E. a, Privette, C. V, Sawyer, C.B., Hayes, J.C., 2013. Attachment of *Escherichia coli* to fine sediment particles within construction sediment basins 2013, 407–414.
- Lanao, M., Ormad, M.P., Ibarz, C., Miguel, N., Ovelleiro, J.L., 2008. Bactericidal Effectiveness of O₃, O₃/H₂O₂ and O₃/TiO₂ on *Clostridium perfringens*. *Ozone Sci. Eng.* 30, 431–438. doi:10.1080/01919510802488003
- Lee, C.M., Lin, T.Y., Lin, C.-C., Kohbodi, G. a, Bhatt, A., Lee, R., Jay, J. a, 2006. Persistence of fecal indicator bacteria in Santa Monica Bay beach sediments. *Water Res.* 40, 2593–602. doi:10.1016/j.watres.2006.04.032
- Liang, Z., He, Z., Zhou, X., Powell, C. a., Yang, Y., He, L.M., Stoffella, P.J., 2013. Impact of mixed land-use practices on the microbial water quality in a subtropical coastal watershed. *Sci. Total Environ.* 449, 426–433. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.01.087
- Linke, S., Lenz, J., Gemein, S., Exner, M., Gebel, J., 2010. Detection of *Helicobacter pylori* in biofilms by real-time PCR. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 213, 176–82. doi:10.1016/j.ijheh.2010.03.006
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P. V., Clark, D.P., 2009. *Biología de los microorganismos*, 12th ed. Pearson Educ. S.A.Ribera del Loira, 28 28042 Madrid (España).
- Manafi, M., Waldherr, K., Kundi, M., 2013. Evaluation of CP Chromo Select Agar for the enumeration of *Clostridium perfringens* from water. *Int. J. Food Microbiol.* 167, 92–5. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.012
- Marshall, B., Warren, J.R., 1984. Unidentified Curved Bacilli in the Stomach of Patients With Gastritis and Peptic Ulceration. *Lancet* 323, 1311–1315. doi:10.1016/S0140-6736(84)91816-6
- Mazari-Hiriart, M., López-Vidal, Y., Castillo-Rojas, G., Ponce de León, S., Cravioto, a, 2001. *Helicobacter pylori* and other enteric bacteria in freshwater environments in Mexico City. *Arch. Med. Res.* 32, 458–67.
- Mbulaiteye, S.M., 2010. *Helicobacter pylori* associated global gastric cancer burden. 14,

1490–1504.

- McPherson, M.J., Hames, B.D., Taylor, G.R., 1995. PCR 2: a practical approach. Pract. approach Ser. 360.
- Meneses, B.M., Reis, R., Vale, M.J., Saraiva, R., 2015. Land use and land cover changes in Zêzere watershed (Portugal) — Water quality implications. *Sci. Total Environ.* 527-528, 439–447. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.04.092
- Ministerio de Desarrollo Económico, 2000. Reglamento Técnico Del Sector De Agua Potable Y Saneamiento Basico Ras -2000. TITULO B, 206.
- Montgomery, D.R., 2007. Soil erosion and agricultural sustainability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 13268–13272. doi:10.1073/pnas.0611508104
- Montgomery, M. a, Elimelech, M., 2007. Water and sanitation in developing countries: including health in the equation. *Environ. Sci. Technol.* 41, 17–24. doi:10.1021/es072435t
- Montoya, C., Loaiza, D., Torres, P., Cruz, C.H., Escobar, J.C., 2011. Efecto del incremento en la turbiedad del agua cruda sobre la eficiencia de procesos convencionales de potabilización. *Eff. INCREASE RAW WATER Turbid. Effic. Conv. Drink. WATER Treat. Process.* 137–148.
- Mullis, K.B., Erlich, H.A., Arnheim, N., Horn, G.T., Saiki, R.K., Scharf, S.J., 1987. Process for amplifying, detecting, and/or-cloning nucleic acid sequences.
- Neill, M., 2004. Microbiological Indices for total coliform and E. coli bacteria in estuarine waters. *Mar. Pollut. Bull.* 49, 752–760. doi:10.1016/j.marpolbul.2004.05.016
- Nurgaliev, Z.Z., Malaty, H.M., Graham, D.Y., Almuchambetova, R., Machmudova, a, Kapsultanova, D., Osato, M.S., Hollinger, F.B., Zhangabylov, A., 2002. Helicobacter pylori infection in Kazakhstan: effect of water source and household hygiene. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 67, 201–6.
- Obasohan, E., Agbonlahor, D., Obano, E., 2010. Water pollution : A review of microbial quality and health concerns of water , sediment and fish in the aquatic ecosystem. *African J. Biotechnol.* 9, 423–427.
- OMS, 2008. WHO guidelines for drinking-water quality. *WHO Chron.* 38, 564. doi:10.1016/S1462-0758(00)00006-6
- OMS, 2011. WHO guidelines for drinking-water quality-4th Edition. World Heal. Organ. 541. doi:10.1016/S1462-0758(00)00006-6
- OMS, Unicef, 2014. Progress on sanitation and drinking-water - 2014 update. ... *Monit. Program. water supply Sanit.* ... 1–78. doi:978 92 4 150724 0
- Ops, Cepis, 2005. Guía Para Diseño De Sistemas De Tratamiento De Filtración En Múltiples Etapas 28.
- Ouattara, N.K., Passerat, J., Servais, P., 2011. Faecal contamination of water and sediment in the rivers of the Scheldt drainage network. *Environ. Monit. Assess.* 183, 243–57. doi:10.1007/s10661-011-1918-9
- Pachepsky, Y. a., Shelton, D.R., 2011. Escherichia Coli and Fecal Coliforms in Freshwater

- and Estuarine Sediments. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 41, 1067–1110. doi:10.1080/10643380903392718
- Payment, P., Franco, E., 1993. *Clostridium perfringens* and somatic coliphages as indicators of the efficiency of drinking water treatment for viruses and protozoan cysts. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 2418–2424.
- Porras, C., Nodora, J., Sexton, R., Ferreccio, C., Jimenez, S., Dominguez, R.L., Cook, P., Anderson, G., Morgan, D.R., Baker, L.H., Greenberg, E.R., Herrero, R., 2013. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in six Latin American countries (SWOG Trial S0701). *Cancer Causes Control* 24, 209–15. doi:10.1007/s10552-012-0117-5
- Pote, J., Haller, L., Kottelat, R., Sastre, V., Arpagaus, P., Wildi, W., 2009. Persistence and growth of faecal culturable bacterial indicators in water column and sediments of Vidy Bay, Lake Geneva, Switzerland. *J. Environ. Sci.* 21, 62–69. doi:10.1016/S1001-0742(09)60012-7
- Prats, J., Garcia-Armisen, T., Larrea, J., Servais, P., 2008. Comparison of culture-based methods to enumerate *Escherichia coli* in tropical and temperate freshwaters. *Lett. Appl. Microbiol.* 46, 243–8. doi:10.1111/j.1472-765X.2007.02292.x
- Queralt, N., Bartolomé, R., Araujo, R., 2005. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human faeces and water with different levels of faecal pollution in the north-east of Spain. *J. Appl. Microbiol.* 98, 889–95. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02523.x
- Ratnayaka, D.D., Brandt, M.J., Johnson, K.M., 2009. {CHAPTER} 6 - Chemistry, Microbiology and Biology of Water, in: Ratnayaka, D.D., Brandt, M.J., Johnson, K.M. (Eds.), *Water Supply (Sixth Edition)*. Butterworth-Heinemann, Boston, pp. 195–266. doi:http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-7506-6843-9.00014-7
- Report, T., Thematic, T.D.R., Group, R., Diseases, I., 2013. Research priorities for the environment, agriculture and infectious diseases of poverty., World Health Organization technical report series.
- Richardson, S., Plewa, M., Wagner, E., Schoeny, R., Demarini, D., 2007. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: A review and roadmap for research. *Mutat. Res. Mutat. Res.* 636, 178–242. doi:10.1016/j.mrrev.2007.09.001
- Rochelle-Newall, E., Nguyen, T.M.H., Le, T.P.Q., Sengtaheuanghoung, O., Ribolzi, O., 2015. A short review of fecal indicator bacteria in tropical aquatic ecosystems: knowledge gaps and future directions. *Front. Microbiol.* 6, 1–15. doi:10.3389/fmicb.2015.00308
- Rompré, A., Servais, P., Baudart, J., de-Roubin, M.R., Laurent, P., 2002. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. *J. Microbiol. Methods* 49, 31–54.
- Saito, N., 2003. Plural Transformation-Processes from Spiral to Coccoid *Helicobacter pylori* and its Viability. *J. Infect.* 46, 49–55. doi:10.1053/jinf.2002.1047
- Salih, B. a, 2009. *Helicobacter pylori* infection in developing countries: the burden for how long? *Saudi J. Gastroenterol.* 15, 201–7. doi:10.4103/1319-3767.54743

- Savichtcheva, O., Okabe, S., 2006. Alternative indicators of fecal pollution: relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *Water Res.* 40, 2463–76. doi:10.1016/j.watres.2006.04.040
- Schreiber, C., Rechenburg, A., Rind, E., Kistemann, T., 2015. The impact of land use on microbial surface water pollution. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 218, 181–187. doi:10.1016/j.ijheh.2014.09.006
- Servais, P., Garcia-Armisen, T., George, I., Billen, G., 2007. Fecal bacteria in the rivers of the Seine drainage network (France): Sources, fate and modelling. *Sci. Total Environ.* 375, 152–167. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.12.010
- Shelton, D.R., Pachepsky, Y. a, Kiefer, L. a, Blaustein, R. a, McCarty, G.W., Dao, T.H., 2014. Response of coliform populations in streambed sediment and water column to changes in nutrient concentrations in water. *Water Res.* 59, 316–24. doi:10.1016/j.watres.2014.04.019
- Shiklomanov, I. a., Rodda, J.C., Babkin, V.I., Penkova, N. V., Georgievsky, V.Y., Zaretskaya, I.P., Izmailova, a. V., Balonishnikova, J. a., Grigorkina, T.E., Grube, T. V., Skoryatina, E.L., Tsytsenko, V.K., Yunitsyna, V.P., 2004. *World Water Resources at the Beginning of the Twenty-First Century* 452.
- Sliva, L., Sliva, L., Williams, D.D., Williams, D.D., 2001. Buffer zone versus whole catchment approaches to studying land use impact on river water quality. *Water Res.* 35, 3462–72. doi:10.1016/S0043-1354(01)00062-8
- Strobl, R.O., Robillard, P.D., 2008. Network design for water quality monitoring of surface freshwaters: a review. *J. Environ. Manage.* 87, 639–48. doi:10.1016/j.jenvman.2007.03.001
- Thevenon, F., Regier, N., Benagli, C., Tonolla, M., Adatte, T., Wildi, W., Poté, J., 2012. Characterization of fecal indicator bacteria in sediments cores from the largest freshwater lake of Western Europe (Lake Geneva, Switzerland). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 78, 50–6. doi:10.1016/j.ecoenv.2011.11.005
- Tran, N.H., Gin, K.Y.-H., Ngo, H.H., 2015. Fecal pollution source tracking toolbox for identification, evaluation and characterization of fecal contamination in receiving urban surface waters and groundwater. *Sci. Total Environ.* 538, 38–57. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.07.155
- Tshibanda, J.B., Devarajan, N., Birane, N., Mwanamoki, P.M., Atibu, E.K., Mpiana, P.T., Prabakar, K., Mubedi Ilunga, J., Wildi, W., Poté, J., 2014. Microbiological and physicochemical characterization of water and sediment of an urban river: N'Djili River, Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *Sustain. Water Qual. Ecol.* 1–8. doi:10.1016/j.swaqe.2014.07.001
- Twing, K.I., Kirchman, D.L., Campbell, B.J., 2011. Temporal study of *Helicobacter pylori* presence in coastal freshwater, estuary and marine waters. *Water Res.* 45, 1897–905. doi:10.1016/j.watres.2010.12.013
- UNESCO, 2014. *Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en le Mundo 2014* 15.

- Vale, F.F., Vitor, J.M.B., 2010. Transmission pathway of *Helicobacter pylori*: does food play a role in rural and urban areas? *Int. J. Food Microbiol.* 138, 1–12. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.016
- Walters, S.P., Thebo, A.L., Boehm, A.B., 2011. Impact of urbanization and agriculture on the occurrence of bacterial pathogens and stx genes in coastal waterbodies of central California. *Water Res.* 45, 1752–1762. doi:10.1016/j.watres.2010.11.032
- Wang, C., Zheng, S., Wang, P., Hou, J., 2015. Interactions between vegetation, water flow and sediment transport: A review. *J. Hydrodyn. Ser. B* 27, 24–37. doi:10.1016/S1001-6058(15)60453-X
- Watson, C.L., Owen, R.J., Said, B., Lai, S., Lee, J. V, Surman-Lee, S., Nichols, G., 2004. Detection of *Helicobacter pylori* by PCR but not culture in water and biofilm samples from drinking water distribution systems in England. *J. Appl. Microbiol.* 97, 690–8. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02360.x
- Wiedenmann, A., Krüger, P., Dietz, K., López-Pila, J.M., Szewzyk, R., Botzenhart, K., 2006. A Randomized Controlled Trial Assessing Infectious Disease Risks from Bathing in Fresh Recreational Waters in Relation to the Concentration of *Escherichia coli*, Intestinal Enterococci, *Clostridium perfringens*, and Somatic Coliphages. *Environ. Health Perspect.* 114, 228–236. doi:10.1289/ehp.8115
- Wright, J., Liu, J., Bain, R., Perez, A., Crocker, J., Bartram, J., Gundry, S., 2014. Water quality laboratories in Colombia: A GIS-based study of urban and rural accessibility. *Sci. Total Environ.* 485-486C, 643–652. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.03.127
- Zhang, Y., Riley, L.K., Lin, M., Hu, Z., 2012. Determination of low-density *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori* suspensions in water. *Water Res.* 46, 2140–8. doi:10.1016/j.watres.2012.01.030

ABREVIATURAS

| Abreviatura | Significado |
|--------------------|--|
| ADN | acido desoxirribonucleico |
| BICF | Bacterias indicadoras de contaminación fecal |
| CA1 | quebrada Salinas |
| CA2 | quebrada Presidente |
| CR1 | quebrada Cristalares |
| CR2 | quebrada Silencio |
| CRC | Corporación Autónoma Regional del Cauca |
| CVC | Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca |
| FM | filtración por membrana |
| GPS | sistema de posicionamiento global |
| IGAC | Instituto Geográfica Agustín Codazzi |
| INS | Instituto Nacional de Salud |
| ISO | International Organization for Standardization |
| NCTC | National Collection of Type Cultures |
| NMP | numero más probable |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| OPS | Organización Panamericana de la Salud |
| PCR | polymerase chain reaction |
| SM | Standard Methods |
| SPSS | Statistical Package for the Social Sciences |
| SUCS | Sistema Unificado de Clasificación de Suelos |
| UFC | unidades formadoras de colonia |
| UN | United Nation |
| UNICEF | United Nations International Children's Emergency Fund |
| UNT | Unidades nefelométricas de turbiedad |
| UPC | Unidades platino cobalto |
| USEPA | United States Environmental Protection Agency |
| VNC | Viable no cultivable |

ANEXOS

Anexo A. Registro fotográfico colección de muestras.



Muestreo agua.



Muestreo sedimento.

Anexo B. Registro fotográfico Aforos de caudal.




Aforo con flotador.



Aforo volumétrico.

Anexo C. Formatos de captura de datos en campo.

| | | | |
|---|--|---------|------------|
|  | FORMATO DE CAPTURA DE DATOS EN CAMPO PARA TOMA Y REMISION DE MUESTRAS DE AGUA Y SEDIMENTO AFORO CON FLOTADOR UNIVERSIDAD DEL CAUCA Laboratorio de Genética Humana | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | | FECHA | 07/01/2015 |
| | | VERSIÓN | 04 |
| | | CODIGO | FORLA01 |

1. DATOS DE MUESTREO

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------------------------|----------|--------------|---|---|-------------------------------------|---|---|---|---|-------------------------------------|---|---|---|---|--------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ACUEDUCTO | SALADITO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NUMERO DE MUESTREO | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ | ⑨ | ⑩ | ⑪ | ⑫ | ⑬ | ⑭ | ⑮ | ⑯ | ⑰ | ⑱ | ⑲ | ⑳ | ① | ② | ③ | ④ |
| PRECIPITACIONES DIAS ANTERIORES AL MUESTREO | 0 (HOY) | 1 (AYER) | 2 (ANTEAYER) | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BOCATOMA | CATANA | | | | | | | | | | CRISTALARES | | | | | | | | | | | | | |
| FUENTE DE ABASTECIMIENTO | SALINAS <input type="checkbox"/> | | | | | PRESIDENTE <input type="checkbox"/> | | | | | CRITALARES <input type="checkbox"/> | | | | | EL SILENCIO <input type="checkbox"/> | | | | | | | | |
| ID MUESTRA AGUA | A-CA1 <input type="checkbox"/> | | | | | A-CA2 <input type="checkbox"/> | | | | | A-CR1 <input type="checkbox"/> | | | | | A-CR2 <input type="checkbox"/> | | | | | | | | |
| ID MUESTRA SEDIM. | S-CA1 <input type="checkbox"/> | | | | | S-CA2 <input type="checkbox"/> | | | | | S-CR1 <input type="checkbox"/> | | | | | S-CR2 <input type="checkbox"/> | | | | | | | | |

2. CONDICIONES AMBIENTALES

| | | | |
|----------------------------------|----------------------------------|---|--|
| SOLEADO <input type="checkbox"/> | NUBLADO <input type="checkbox"/> | PARCIALMENTE NUBLADO <input type="checkbox"/> | PRECIPITACIÓN <input type="checkbox"/> |
|----------------------------------|----------------------------------|---|--|


3. MUESTREO Y RECEPCIÓN DE MUESTRA EN LABORATORIO.

| PROCESO | RESPONSABLE | FECHA | HORA | FIRMA | OBSERVACIONES | TEMPERATURA DE RECEPCIÓN (°C) |
|-----------|-------------|-------|------|-------|---------------|--------------------------------|
| MUESTREO | | | | c.c. | | |
| RECEPCIÓN | | | | c.c. | | |

4. OBSERVACIONES: _____

5. CALCULO DE CAUDAL A PARTIR DE AFORO CON FLOTADOR.

| NUMERO DE REPETICIONES | TIEMPO (s) | SECCION A | | | | SECCION B | | | |
|--------------------------------|------------|-----------|-------------|-------|------|-----------|-------------|-------|------|
| | | VERTICAL | PROFUNDIDAD | ANCHO | AREA | VERTICAL | PROFUNDIDAD | ANCHO | AREA |
| 1 | | 0 | | | | 0 | | | |
| 2 | | 1 | | | | 1 | | | |
| 3 | | 2 | | | | 2 | | | |
| 4 | | 3 | | | | 3 | | | |
| 5 | | 4 | | | | 4 | | | |
| 6 | | 5 | | | | 5 | | | |
| 7 | | 6 | | | | 6 | | | |
| 8 | | 7 | | | | 7 | | | |
| 9 | | 8 | | | | 8 | | | |
| 10 | | 9 | | | | 9 | | | |
| 11 | | 10 | | | | 10 | | | |
| 12 | | 11 | | | | 11 | | | |
| 13 | | 12 | | | | 12 | | | |
| 14 | | 13 | | | | 13 | | | |
| 15 | | 14 | | | | 14 | | | |
| 16 | | 15 | | | | 15 | | | |
| 17 | | 16 | | | | 16 | | | |
| 18 | | 17 | | | | 17 | | | |
| 19 | | 18 | | | | 18 | | | |
| 20 | | 19 | | | | 19 | | | |
| 21 | | 20 | | | | 20 | | | |
| 22 | | 21 | | | | 21 | | | |
| 23 | | 22 | | | | 22 | | | |
| 24 | | 23 | | | | 23 | | | |
| | | 24 | | | | 24 | | | |
| TIEMPO PROMEDIO (s) | | TOTAL | | | | TOTAL | | | |
| VELOCIDAD MEDIA (m/s) | | | | | | | | | |
| ÁREA SECCION (m ²) | | | | | | | | | |
| LONGITUD A-B (m) | | | | | | | | | |
| CAUDAL (m ³ /s) | | | | | | | | | |

| | | | |
|---|---|---------|------------|
|  | FORMATO DE CAPTURA DE DATOS EN CAMPO PARA TOMA Y REMISION DE MUESTRAS DE AGUA Y SEDIMENTO AFORO VOLUMETRICO UNIVERSIDAD DEL CAUCA Laboratorio de Genética Humana | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | | FECHA | 07/01/2015 |
| | | VERSIÓN | 04 |
| | | CODIGO | FORLA02 |

1. DATOS DE MUESTREO

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------|--------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ACUEDUCTO | SALADITO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NUMERO DE MUESTREO | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ | ⑨ | ⑩ | ⑪ | ⑫ | ⑬ | ⑭ | ⑮ | ⑯ | ⑰ | ⑱ | ⑲ | ⑳ | ① | ② | ③ | ④ |
| PRECIPITACIONES DIAS ANTERIORES AL MUESTREO | 0 (HOY) | 1 (AYER) | 2 (ANTEAYER) | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BOCATOMA | CATANA | | | | | | | CRISTALARES | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FUENTE DE ABASTECIMIENTO | SALINAS <input type="checkbox"/> | | PRESIDENTE <input type="checkbox"/> | | | CRITALARES <input type="checkbox"/> | | | EL SILENCIO <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | |
| ID MUESTRA AGUA | A-CA1 <input type="checkbox"/> | A-CA2 <input type="checkbox"/> | | | A-CR1 <input type="checkbox"/> | | | A-CR2 <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ID MUESTRA SEDIM. | S-CA1 <input type="checkbox"/> | S-CA2 <input type="checkbox"/> | | | S-CR1 <input type="checkbox"/> | | | S-CR2 <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | |

2. CONDICIONES AMBIENTALES

| | | | |
|----------------------------------|----------------------------------|---|--|
| SOLEADO <input type="checkbox"/> | NUBLADO <input type="checkbox"/> | PARCIALMENTE NUBLADO <input type="checkbox"/> | PRECIPITACIÓN <input type="checkbox"/> |
|----------------------------------|----------------------------------|---|--|

3. MUESTREO Y RECEPCIÓN DE MUESTRA EN LABORATORIO

| PROCESO | RESPONSABLE | FECHA | HORA | FIRMA | OBSERVACIONES | TEMPERATURA DE RECEPCIÓN (°C) |
|-----------|-------------|-------|------|-------|---------------|--------------------------------|
| MUESTREO | | | | c.c. | | |
| RECEPCIÓN | | | | c.c. | | |


4. OBSERVACIONES

| |
|--|
| |
|--|

5. CALCULO DE CAUDAL A PARTIR DE AFORO VOLUMETRICO

| REPETICIÓN | TIEMPO (s) |
|---------------------|------------|
| 1 | |
| 2 | |
| 3 | |
| 4 | |
| 5 | |
| TIEMPO PROMEDIO (s) | |
| VOLUMEN (L) | |
| CAUDAL (L/s) | |

Anexo D. Formato de registro cálculo de porcentaje de humedad y materia orgánica sedimento.

| | | | | | | | |
|---|--|---|--|--|--|---------|------------|
|  | | FORMATO DE REGISTRO PROCESAMIENTO DE SEDIMENTO | | | | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | | CALCULO DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD Y MATERIA ORGANICA DE MUESTRA DE SEDIMENTO | | | | FECHA | 29/01/2015 |
| | | | | | | VERSIÓN | 02 |
| | | UNIVERSIDAD DEL CAUCA Laboratorio de Genética Humana | | | | CODIGO | FORLA06 |

| MUESTREO: | | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ | ⑨ | ⑩ | ⑪ | ⑫ | ⑬ | ⑭ | ⑮ | ⑯ | ⑰ | ⑱ | ⑳ | ㉑ | ㉒ | ㉓ | ㉔ | |
|-----------|----|------|------------|---------|-------------|-----------|-------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------|--------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------------------------|-------------------------|---|---|---|--|
| DD | MM | AAAA | ID MUESTRA | REPLICA | MUESTRA (g) | # CAPSULA | CAPSULA (g) | SEDIMENTO FRESCO+ CAPSULA (g) | SEDIMENTO SECO+ CAPSULA (g) | SEDIMENTO CALCINADO+ CAPSULA (g) | % HUMEDAD | % MATERIA ORGANICA | OBSERVACIONES | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) | (7)=[(4)-(5)]/[(5)-(3)] | (8)=[(5)-(6)]/[(5)-(3)] | | | | |
| | | | S-CA1 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | S-CA2 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | S-CR1 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | S-CR2 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

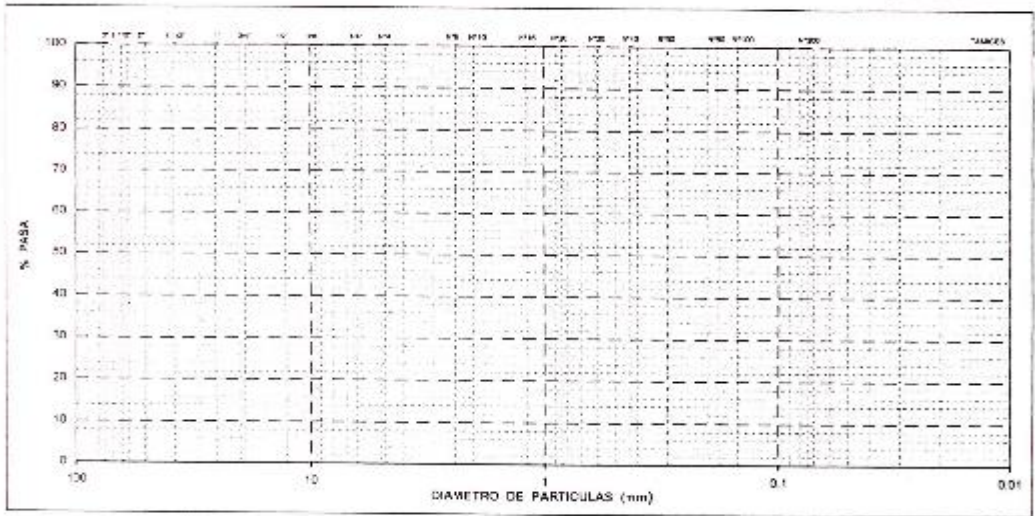
Anexo E. Formato de registro análisis granulométrico sedimento.



Universidad del Cauca
 Facultad de Ingeniería Civil
 Laboratorio de Materiales, Suelos y Pavimentos

ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO

Obra : _____
 Remitente : _____
 Muestra N° : _____ Descripción : _____ Fecha : _____



| TAMICES | PESO RETENIDO (g.) | % RETENIDO | % RETENIDO ACUMULADO | % PASA |
|---------|--------------------|------------|----------------------|--------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

COEFICIENTE DE UNIFORMIDAD

$$C_u = \frac{D_{60}}{D_{10}}$$

COEFICIENTE DE CURVATURA

$$C_c = \frac{D_{30}^2}{D_{10} \cdot D_{60}}$$

CLASIFICACION

AASHO _____

USCE _____

Observaciones : _____

Ingeniero _____

Geotecnólogo _____

**Anexo F. Registro fotográfico pruebas fisicoquímicas del sedimento.
Laboratorio de Ingeniería Ambiental y Laboratorio de Materiales, Suelos y
Pavimentos, Universidad del Cauca.**



Procesamiento muestra sedimento.



Prueba de granulometría por tamiza, Laboratorio de suelos.




Prueba de textura método de Bouyoucos, Laboratorio de suelos.

Anexo G. Registro fotográfico pruebas físicas del agua. Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Universidad del Cauca.



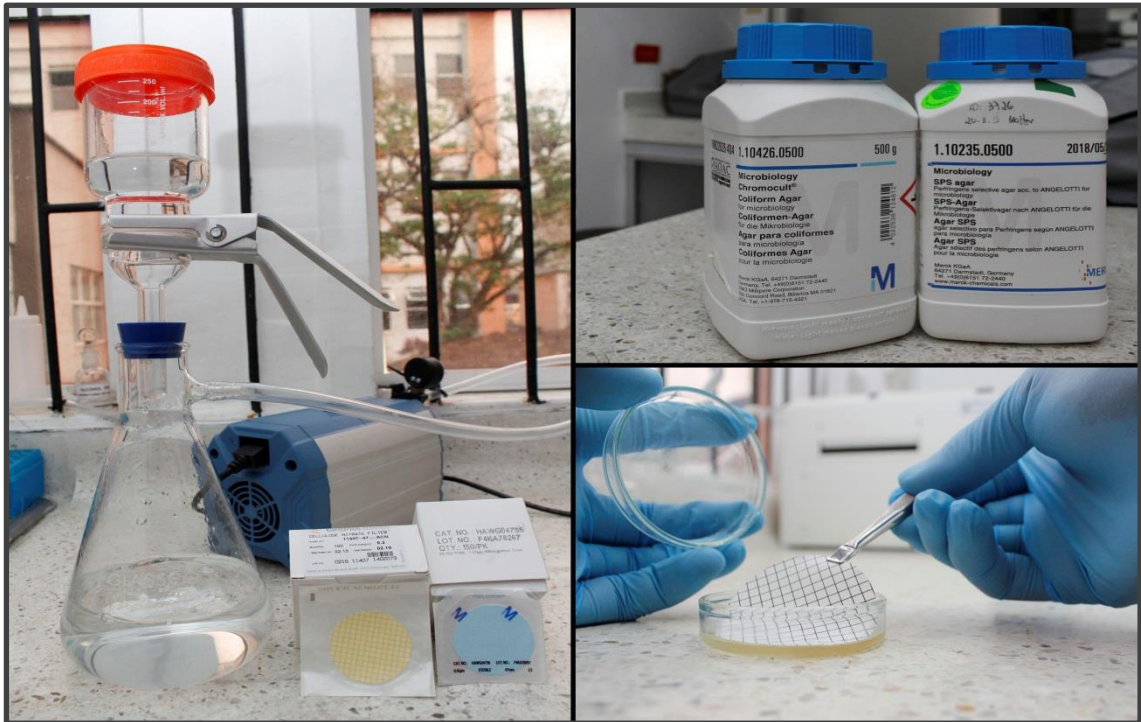
Equipos pruebas fisicoquímicas, laboratorio ingeniería ambiental.

Anexo H. Formato de registro análisis físicos del agua.

| | | | | | |
|---|--|--|--|---------|------------|
|  | FORMATO DE REGISTRO DE MEDICION DE PARAMETROS FISICOQUIMICOS EN MUESTRAS DE AGUA pH, TEMPERATURA, TURBIEDAD, COLOR Y CONDUCTIVIDAD ELECTRICA. | | | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | | | | FECHA | 14/08/2014 |
| | | | | VERSIÓN | 01 |
| | | | | CODIGO | FORLA07 |


| MUESTRO: ① | | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ | ⑨ | ⑩ | ⑪ | ⑫ | ⑬ | ⑭ | ⑮ | ⑯ | ⑰ | ⑱ | ⑳ | ㉑ | ㉒ | ㉓ | ㉔ | ④ |
|------------|--|----|----|------|------------|---------|----|------------------|-----------------|-------------|-----------------------|---------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FECHA | | DD | MM | AAAA | ID MUESTRA | REPLICA | pH | TEMPERATURA (°C) | TURBIEDAD (NTU) | COLOR (UPC) | CONDUCTIVIDAD (µS/cm) | OBSERVACIONES | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | A-CA1 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | A-CA2 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | A-CR1 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | A-CR2 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | Z | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Anexo I. Registro fotográficos análisis microbiológicos. Laboratorio de Genética Humana, Universidad del Cauca




Técnica de filtración por membrana, laboratorio de genética humana.

Anexo J. Formato de registro análisis microbiológicos.

| | | | | | | |
|---|--|--|--|--|---|------------|
|  | | FORMATO DE REGISTRO DE RESULTADOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS COLIFORMES TOTALES | | | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | | TÉCNICA FILTRACIÓN POR MEMBRANA -AGAR CHROMOCULT- | | | FECHA | 14/08/2014 |
| | | | | | UNIVERSIDAD DEL CAUCA Laboratorio de Genética Humana | VERSIÓN |
| | | | | | CODIGO | FORLA03 |

| MUESTREO: ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ | | FECHA | ID MUESTRA | REPLICA | VOLUMEN FILTRADO (mL) (1) | FACTOR DE DILUCION (2) | NUMERO DE COLONIAS (3) | UFC/100 mL (4)=[(3)*100] / [(1)*(2)] | OBSERVACIONES |
|---|----|-------|------------|-------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---|---------------|
| DD | MM | AAAA | | | | | | | |
| | | | A-CA1 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CA2 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CA1 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CA2 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CR1 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CR2 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CR1 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CR2 | X Y Z | | | | | |

| | | | | | |
|---|--|--|--|---------|------------|
|  | FORMATO DE REGISTRO DE RESULTADOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS <i>Escherichia coli</i> | | | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | TÉCNICA FILTRACIÓN POR MEMBRANA -AGAR CHROMOCULT- UNIVERSIDAD DEL CAUCA Laboratorio de Genética Humana | | | FECHA | 14/08/2014 |
| | | | | VERSIÓN | 01 |
| | | | | CODIGO | FORLA04 |

| MUESTRO: ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ | | FECHA | ID MUESTRA | REPLICA | VOLUMEN FILTRADO (mL) (1) | FACTOR DE DILUCION (2) | NUMERO DE COLONIAS (3) | UFC/100 mL (4)=[(3)*100] / [(1)*(2)] | OBSERVACIONES |
|--|----|-------|------------|-------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---|---------------|
| DD | MM | AAAA | | | | | | | |
| | | | A-CA1 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CA2 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CA1 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CA2 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CR1 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CR2 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CR1 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CR2 | X Y Z | | | | | |

| | | | | | |
|---|---|--|--|---------|------------|
|  | FORMATO DE REGISTRO DE RESULTADOS ANALISIS MICROBIOLÓGICOS <i>Clostridium perfringens</i> | | | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | TECNICA FILTRACION POR MEMBRANA -AGAR SPS- | | | FECHA | 14/08/2014 |
| | UNIVERSIDAD DEL CAUCA Laboratorio de Genética Humana | | | VERSIÓN | 01 |
| | | | | CODIGO | FORLA05 |

| MUESTREO: ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ | | FECHA | ID MUESTRA | REPLICA | VOLUMEN FILTRADO (mL) | FACTOR DE DILUCION | NUMERO DE COLONIAS | UFC/100 mL (4)=[(3)*100] /[(1)*(2)] | OBSERVACIONES |
|---|----|-------|------------|-------------|-----------------------|--------------------|--------------------|--|---------------|
| DD | MM | AAAA | | | (1) | (2) | (3) | | |
| | | | A-CA1 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CA2 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CA1 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CA2 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CR1 | X Y Z | | | | | |
| | | | A-CR2 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CR1 | X Y Z | | | | | |
| | | | S-CR2 | X Y Z | | | | | |

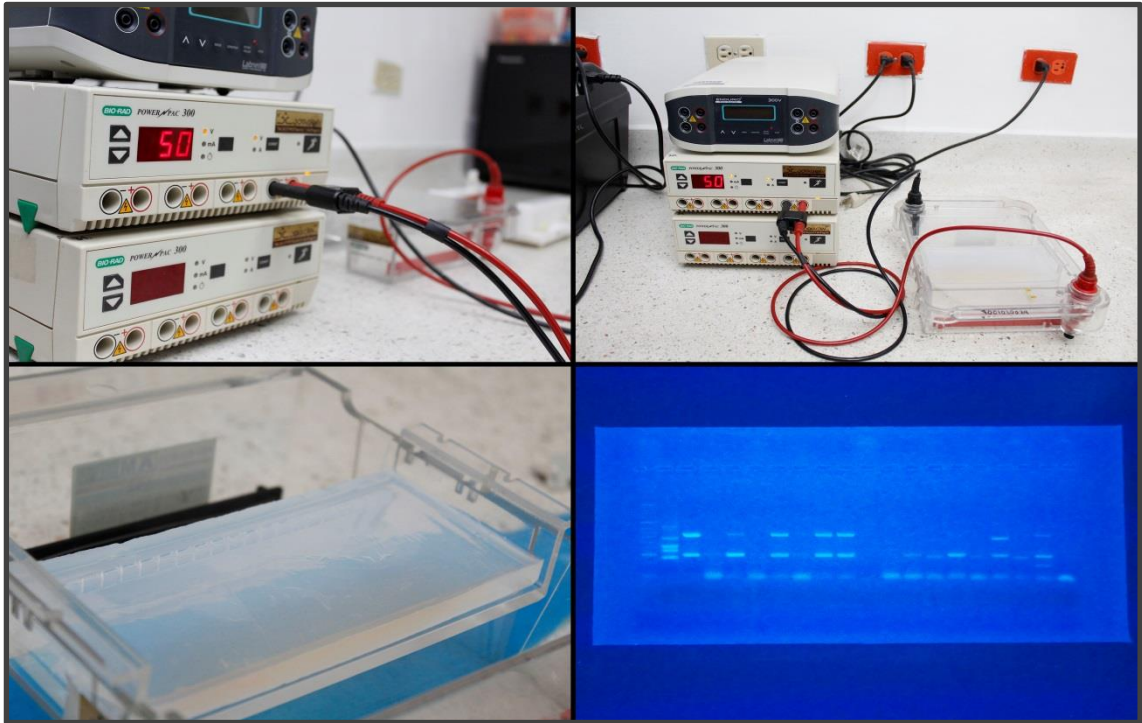
Anexo K. Registro fotográfico pruebas moleculares.



Banco de ADN extraído de muestras de agua, laboratorio de genética humana.




PCR, laboratorio de genética humana.



Electroforesis, laboratorio de genética humana.

Anexo L. Formato de registro pruebas moleculares, multiplex PCR.

| | | | |
|---|--|---------|------------|
|  | FORMATO MULTIPLEX PCR | PÁGINA | 1 DE 1 |
| | CONDICIONES DE LA PRUEBA-RESULTADOS | FECHA | 08/01/2015 |
| | UNIVERSIDAD DEL CAUCA Laboratorio de Genética Humana | VERSIÓN | 04 |
| | | CODIGO | FORLA08 |

FECHA: _____ RESPONSABLE: _____

Condiciones de PCR

| Reactivos | 1 muestra | Muestras = |
|------------------|----------------|------------|
| H ₂ O | 2,0 µL | |
| MIX Q | 5,0 µL | |
| Mix Primer | 2,0 µL | |
| ADN | 5,0 µL | |
| TOTAL | 14,0 µL | |

| Programa : Hp agua | | |
|--------------------|---------------------------|--------|
| Pasos | Temperatura | Tiempo |
| 1 | 95 | 10' |
| 2 | 94 | 30" |
| 3 | 57 | 1,5' |
| 4 | 70 | 1' |
| 5 | Ir a paso 2 por 15 ciclos | |
| 6 | 94 | 30" |
| 7 | 54 | 1,5' |
| 8 | 72 | 1,0' |
| 9 | Ir a paso 6 por 25 ciclos | |
| 10 | 72 | 5,0' |
| 11 | 15 | ∞ |
| 12 | END | |

| Concentración Gel | Voltios | Tiempo |
|-------------------|---------|--------|
| | | |

GEL N°: _____
FOTO N°: _____

| Pb | VARIANTE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|----------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 642 | m2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 567 | m1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 567/258 | m1/s1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 567/286 | m1/s2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 642/258 | m2/s1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 242/286 | m2/s2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 360 | cagA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 286 | s2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 258 | s1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

OBSERVACIONES:

Anexo M. Registró fotográfico de los recorridos por las microcuencas Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio.



Ganadería extensiva.



Plantación forestal.



Bosque natural.



Animales silvestres.



Viviendas localizadas en el área de estudio.



Procesos de erosión.

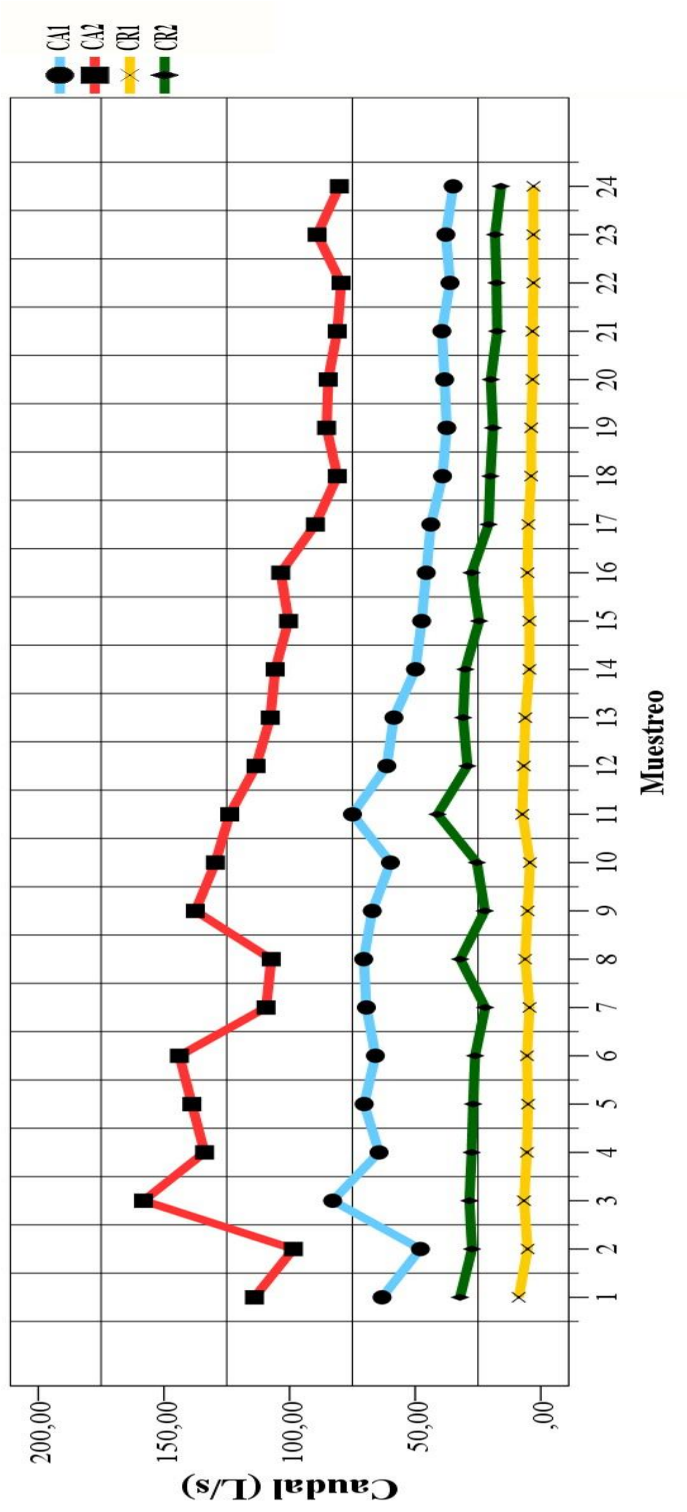


Paso de ganado por los curso de agua.



Animales domésticos.

Anexo N. Comportamiento del caudal durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones.



Anexo O. Tabla de muestreos por mes.

| mes | Numero de muestreos | | | | Total |
|---------|---------------------|-----|-----|-----|-------|
| | CA1 | CA2 | CR1 | CR2 | |
| enero | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| febrero | 4 | 4 | 4 | 4 | 16 |
| marzo | 4 | 4 | 4 | 4 | 16 |
| abril | 4 | 4 | 4 | 4 | 16 |
| mayo | 3 | 3 | 3 | 3 | 12 |
| junio | 4 | 4 | 3 | 3 | 14 |
| julio | 4 | 4 | 5 | 5 | 18 |
| Total | 12 | 12 | 12 | 12 | 96 |

Anexo P. Análisis de varianza ANOVA para el caudal.

Salida software estadístico SPSS versión 19.0 para Windows:

Análisis de varianza univariante

Factores inter-sujetos

| | | Etiqueta del valor | N |
|----------------------|---|--------------------|----|
| Tiempo | 1 | enero | 12 |
| | 2 | febrero | 48 |
| | 3 | marzo | 48 |
| | 4 | abril | 48 |
| | 5 | mayo | 36 |
| | 6 | junio | 42 |
| | 7 | julio | 54 |
| Estacion de muestreo | 1 | CA1 | 72 |
| | 2 | CA2 | 72 |
| | 3 | CR1 | 72 |
| | 4 | CR2 | 72 |

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente:Caudal (L/s)

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|----------------------------|-------------------------------|-----|------------------|-----------|------|
| Modelo corregido | 474232,570 ^a | 27 | 17564,169 | 343,644 | ,000 |
| Intersección | 538231,189 | 1 | 538231,189 | 10530,525 | ,000 |
| Mes | 24485,808 | 6 | 4080,968 | 79,844 | ,000 |
| Estación de muestreo | 340450,943 | 3 | 113483,648 | 2220,314 | ,000 |
| Mes * Estación de muestreo | 15458,519 | 18 | 858,807 | 16,803 | ,000 |
| Error | 13288,996 | 260 | 51,112 | | |
| Total | 1155481,502 | 288 | | | |
| Total corregida | 487521,566 | 287 | | | |

a. R cuadrado = ,973 (R cuadrado corregida = ,970)

Pruebas post hoc

Tiempo

Comparaciones múltiples

Caudal (L/s)

Bonferroni

| (I)Tiempo | (J)Tiempo | Diferencia de medias (I-J) | Error tít. | Sig. | Intervalo de confianza 95% | |
|-----------|-----------|-------------------------------|------------|-------|----------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| enero | febrero | -3,4444 | 2,30740 | 1,000 | -10,5240 | 3,6353 |
| | marzo | -1,4012 | 2,30740 | 1,000 | -8,4809 | 5,6784 |
| | abril | -,4850 | 2,30740 | 1,000 | -7,5646 | 6,5946 |

| | | | | | | |
|---------|---------|-----------|---------|-------|----------|----------|
| | mayo | 8,7708* | 2,38308 | ,006 | 1,4590 | 16,0827 |
| | junio | 13,6875* | 2,34014 | ,000 | 6,5074 | 20,8676 |
| | julio | 22,1831* | 2,28162 | ,000 | 15,1825 | 29,1836 |
| febrero | enero | 3,4444 | 2,30740 | 1,000 | -3,6353 | 10,5240 |
| | marzo | 2,0431 | 1,45933 | 1,000 | -2,4344 | 6,5207 |
| | abril | 2,9594 | 1,45933 | ,915 | -1,5182 | 7,4369 |
| | mayo | 12,2152* | 1,57626 | ,000 | 7,3789 | 17,0515 |
| | junio | 17,1319* | 1,51055 | ,000 | 12,4972 | 21,7666 |
| | julio | 25,6274* | 1,41821 | ,000 | 21,2760 | 29,9788 |
| marzo | enero | 1,4012 | 2,30740 | 1,000 | -5,6784 | 8,4809 |
| | febrero | -2,0431 | 1,45933 | 1,000 | -6,5207 | 2,4344 |
| | abril | ,9163 | 1,45933 | 1,000 | -3,5613 | 5,3938 |
| | mayo | 10,1721* | 1,57626 | ,000 | 5,3358 | 15,0084 |
| | junio | 15,0887* | 1,51055 | ,000 | 10,4540 | 19,7235 |
| | julio | 23,5843* | 1,41821 | ,000 | 19,2329 | 27,9357 |
| abril | enero | ,4850 | 2,30740 | 1,000 | -6,5946 | 7,5646 |
| | febrero | -2,9594 | 1,45933 | ,915 | -7,4369 | 1,5182 |
| | marzo | -,9163 | 1,45933 | 1,000 | -5,3938 | 3,5613 |
| | mayo | 9,2558* | 1,57626 | ,000 | 4,4195 | 14,0922 |
| | junio | 14,1725* | 1,51055 | ,000 | 9,5378 | 18,8072 |
| | julio | 22,6681* | 1,41821 | ,000 | 18,3166 | 27,0195 |
| mayo | enero | -8,7708* | 2,38308 | ,006 | -16,0827 | -1,4590 |
| | febrero | -12,2152* | 1,57626 | ,000 | -17,0515 | -7,3789 |
| | marzo | -10,1721* | 1,57626 | ,000 | -15,0084 | -5,3358 |
| | abril | -9,2558* | 1,57626 | ,000 | -14,0922 | -4,4195 |
| | junio | 4,9167 | 1,62379 | ,057 | -,0655 | 9,8988 |
| | julio | 13,4122* | 1,53827 | ,000 | 8,6925 | 18,1320 |
| junio | enero | -13,6875* | 2,34014 | ,000 | -20,8676 | -6,5074 |
| | febrero | -17,1319* | 1,51055 | ,000 | -21,7666 | -12,4972 |
| | marzo | -15,0887* | 1,51055 | ,000 | -19,7235 | -10,4540 |
| | abril | -14,1725* | 1,51055 | ,000 | -18,8072 | -9,5378 |
| | mayo | -4,9167 | 1,62379 | ,057 | -9,8988 | ,0655 |
| | julio | 8,4956* | 1,47087 | ,000 | 3,9826 | 13,0085 |
| julio | enero | -22,1831* | 2,28162 | ,000 | -29,1836 | -15,1825 |
| | febrero | -25,6274* | 1,41821 | ,000 | -29,9788 | -21,2760 |
| | marzo | -23,5843* | 1,41821 | ,000 | -27,9357 | -19,2329 |
| | abril | -22,6681* | 1,41821 | ,000 | -27,0195 | -18,3166 |
| | mayo | -13,4122* | 1,53827 | ,000 | -18,1320 | -8,6925 |
| | junio | -8,4956* | 1,47087 | ,000 | -13,0085 | -3,9826 |

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 51,112.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Subconjuntos homogéneos

Estacion de muestreo

Comparaciones múltiples

Caudal (L/s)

Bonferroni

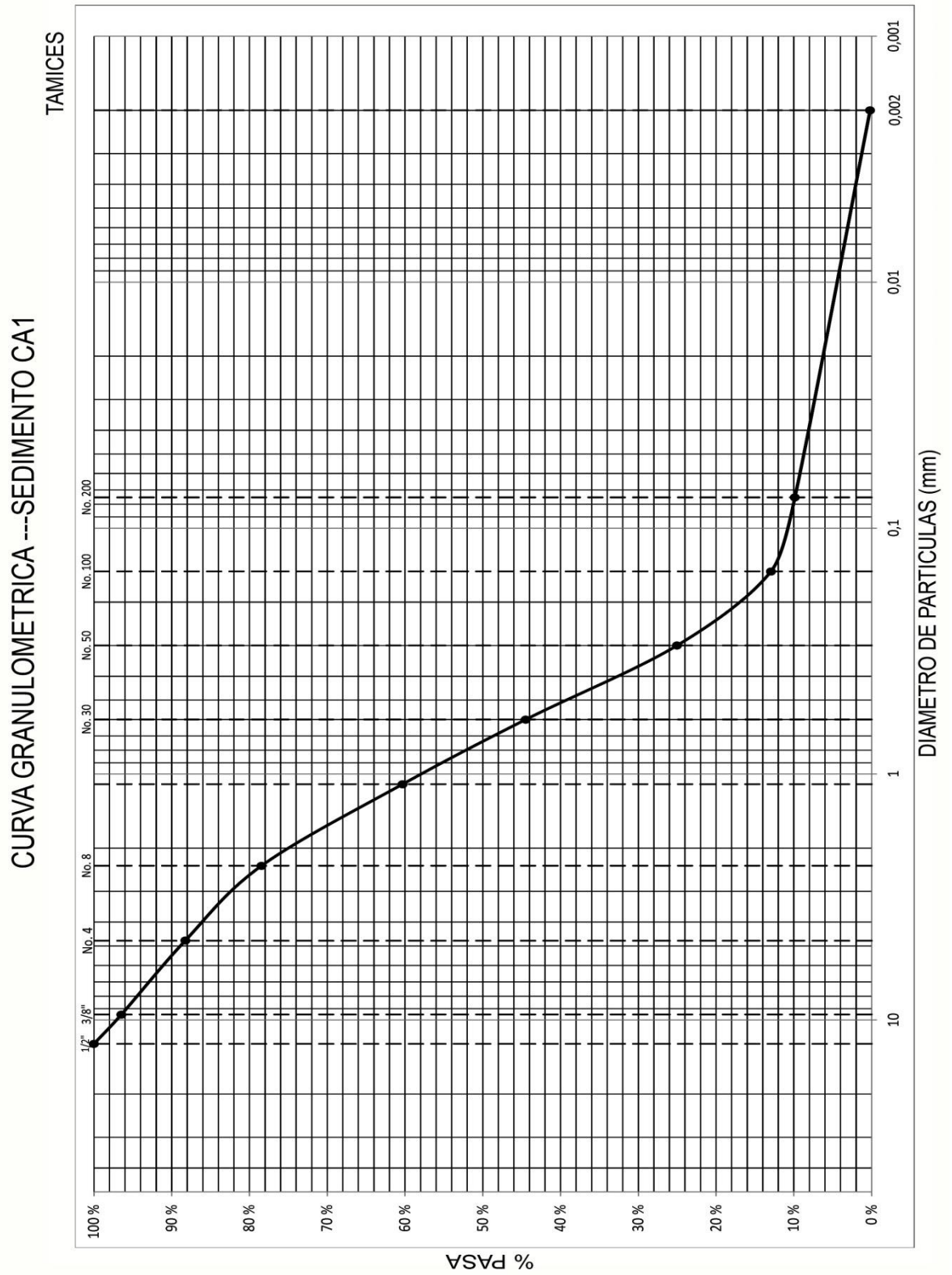
| (I)Estacion de muestreo | de (J)Estacion de muestreo | Diferencia de medias (I-J) | Error típ. | Sig. | Intervalo de confianza 95% | |
|-------------------------|----------------------------|----------------------------|------------|------|----------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| CA1 | CA2 | -53,7375* | 1,19154 | ,000 | -56,9053 | -50,5697 |
| | CR1 | 49,4142* | 1,19154 | ,000 | 46,2463 | 52,5820 |
| | CR2 | 29,2850* | 1,19154 | ,000 | 26,1172 | 32,4528 |
| CA2 | CA1 | 53,7375* | 1,19154 | ,000 | 50,5697 | 56,9053 |
| | CR1 | 103,1517* | 1,19154 | ,000 | 99,9838 | 106,3195 |
| | CR2 | 83,0225* | 1,19154 | ,000 | 79,8547 | 86,1903 |
| CR1 | CA1 | -49,4142* | 1,19154 | ,000 | -52,5820 | -46,2463 |
| | CA2 | -103,1517* | 1,19154 | ,000 | -106,3195 | -99,9838 |
| | CR2 | -20,1292* | 1,19154 | ,000 | -23,2970 | -16,9613 |
| CR2 | CA1 | -29,2850* | 1,19154 | ,000 | -32,4528 | -26,1172 |
| | CA2 | -83,0225* | 1,19154 | ,000 | -86,1903 | -79,8547 |
| | CR1 | 20,1292* | 1,19154 | ,000 | 16,9613 | 23,2970 |

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 51,112.

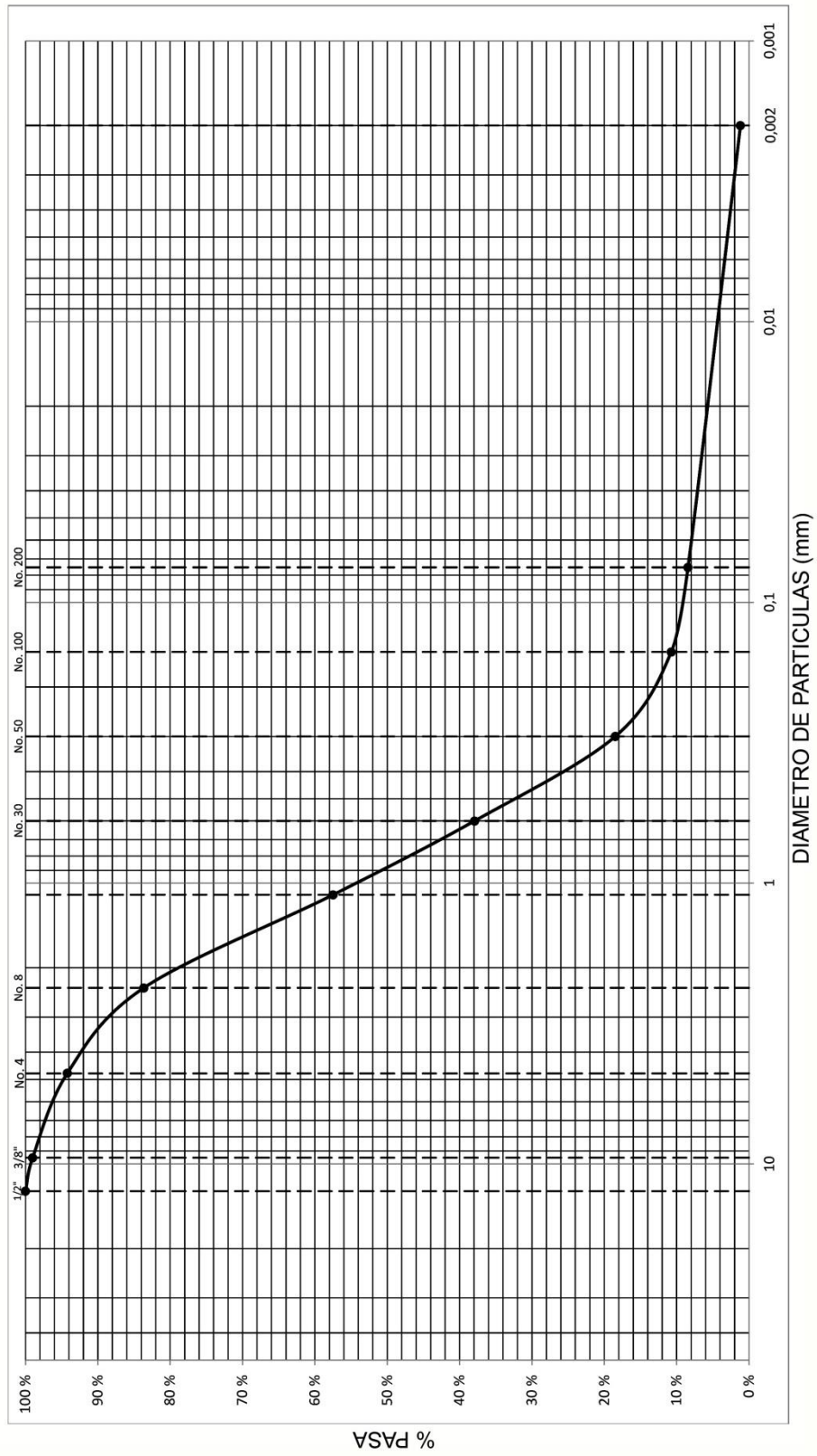
*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Anexo Q. Curvas granulométricas del sedimento

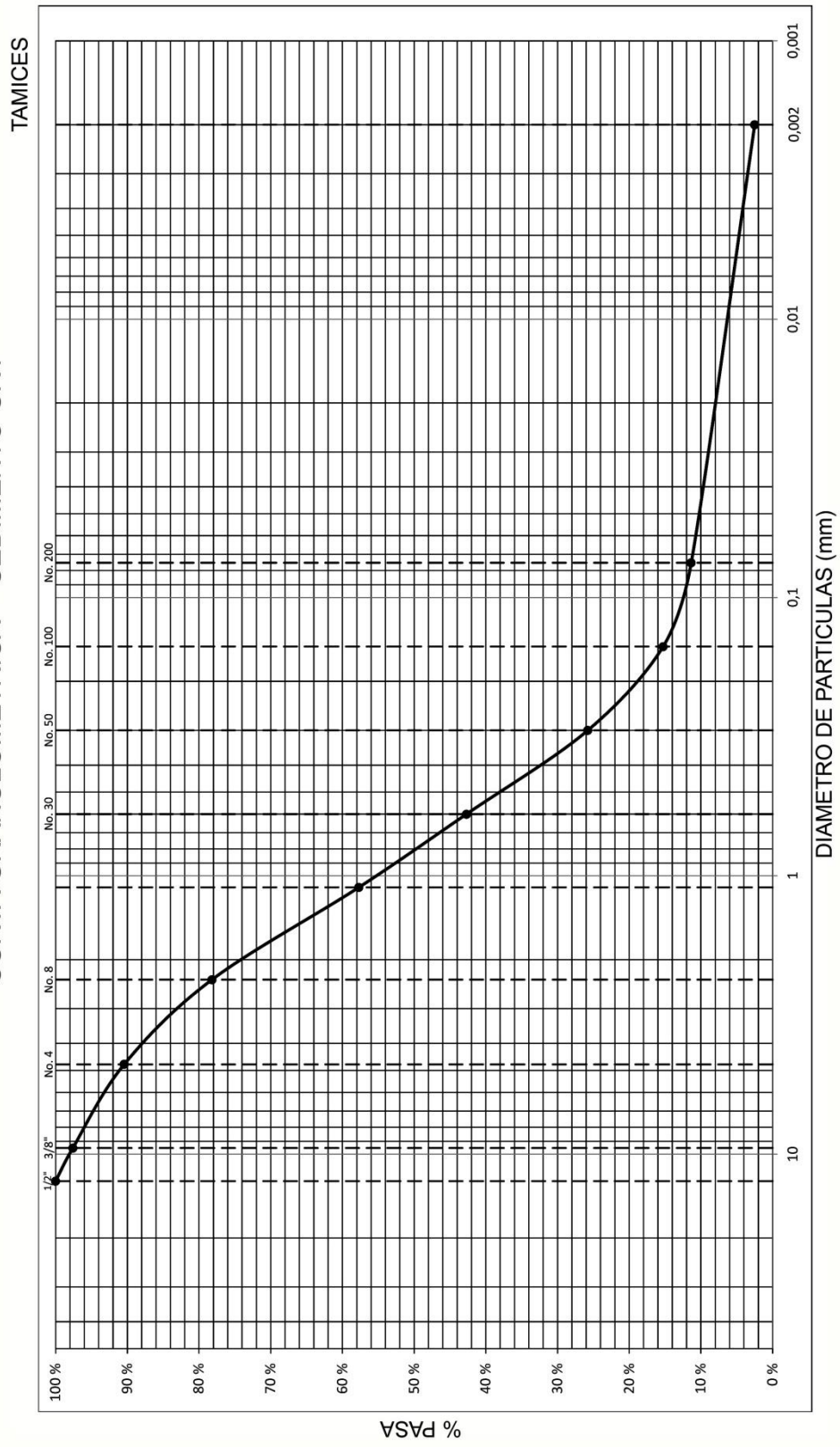


CURVA GRANULOMETRICA ---SEDIMENTO CA2

TAMICES

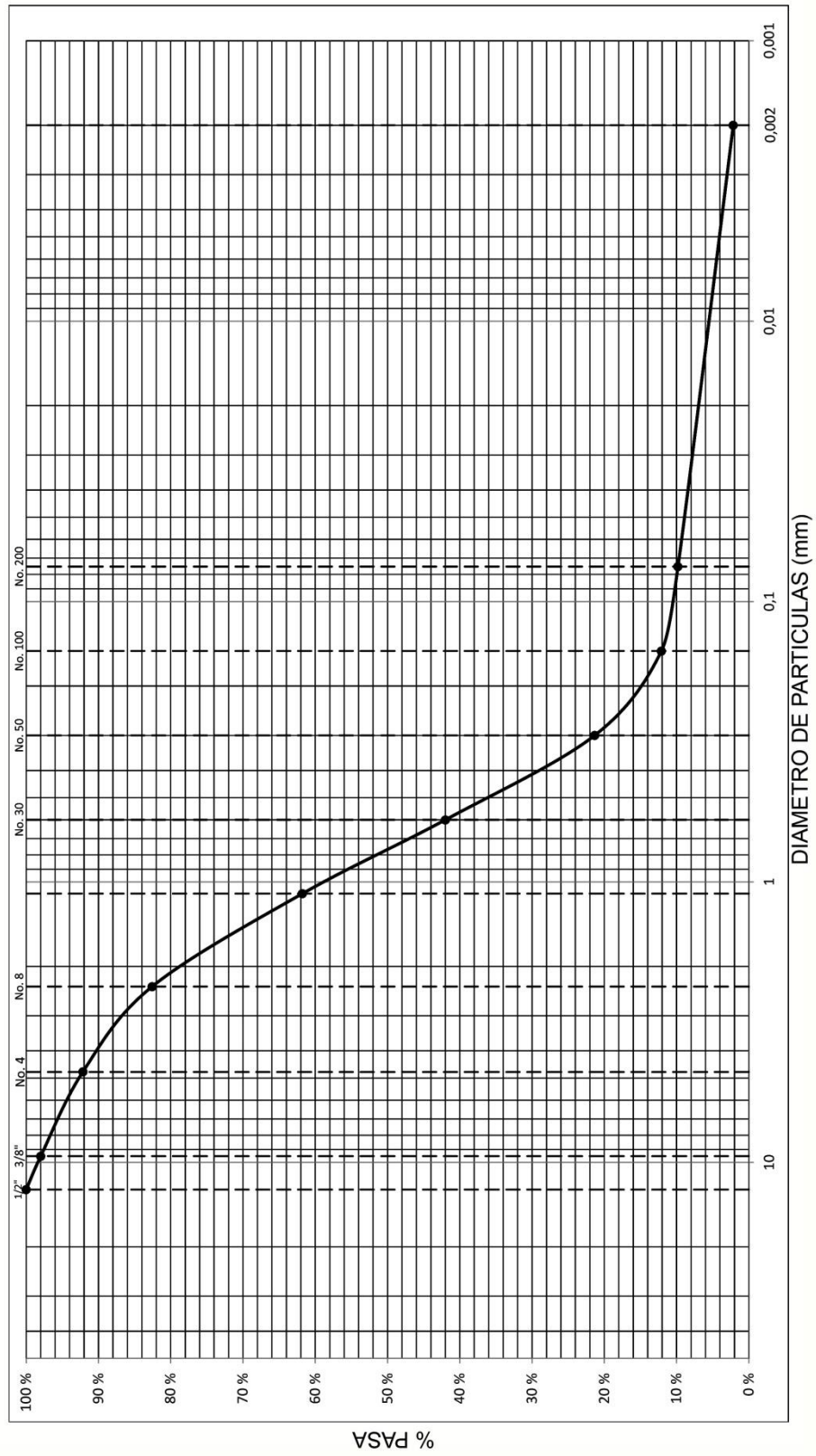


CURVA GRANULOMETRICA ---SEDIMENTO CR1

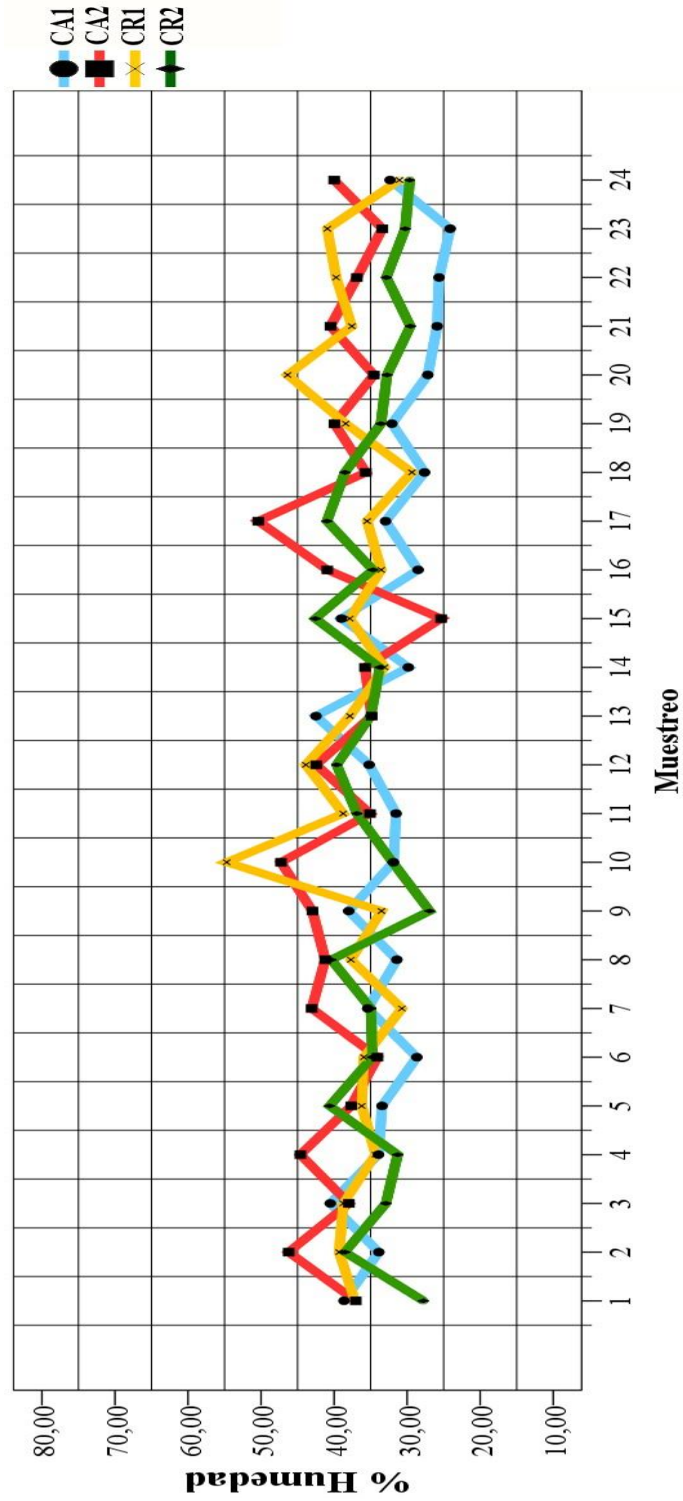


CURVA GRANULOMETRICA ---SEDIMENTO CR2

TAMICES



Anexo R. Comportamiento de la humedad del sedimento durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones.



Anexo S. Análisis de varianza ANOVA para humedad.

Salida software estadístico SPSS versión 19.0 para Windows:

Análisis de varianza univariante

Factores inter-sujetos

| | | Etiqueta del valor | N |
|----------------------|---|--------------------|----|
| Estacion de muestreo | 1 | CA1 | 72 |
| | 2 | CA2 | 72 |
| | 3 | CR1 | 72 |
| | 4 | CR2 | 72 |
| Tiempo | 1 | enero | 12 |
| | 2 | febrero | 48 |
| | 3 | marzo | 48 |
| | 4 | abril | 48 |
| | 5 | mayo | 36 |
| | 6 | junio | 42 |
| | 7 | julio | 54 |

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente:% Humedad

| Estacion de muestreo | Tiempo | Media | Desviación típica | N |
|----------------------|---------|-----------|-------------------|-----------|
| CA1 | enero | 38,643500 | 6,2611418 | 3 |
| | febrero | 35,442283 | 6,2230950 | 12 |
| | marzo | 33,368408 | 7,9527361 | 12 |
| | abril | 35,271250 | 6,9168414 | 12 |
| | mayo | 32,445022 | 6,1896861 | 9 |
| | junio | 29,952250 | 5,2752786 | 12 |
| | julio | 26,993183 | 4,5104990 | 12 |
| | Total | | 32,503669 | 6,8411727 |
| CA2 | enero | 37,029633 | 8,1575913 | 3 |
| | febrero | 41,615583 | 5,5148998 | 12 |
| | marzo | 40,325758 | 5,4500444 | 12 |
| | abril | 39,915583 | 12,7385898 | 12 |
| | mayo | 34,017267 | 8,6000314 | 9 |
| | junio | 40,135600 | 9,7330189 | 12 |
| | julio | 37,690542 | 6,3601506 | 12 |
| | Total | | 39,075571 | 8,4270277 |
| CR1 | enero | 37,155933 | 7,8655783 | 3 |
| | febrero | 37,147750 | 4,7252687 | 12 |
| | marzo | 34,462467 | 8,3072757 | 12 |
| | abril | 43,797642 | 11,5032973 | 12 |
| | mayo | 34,827978 | 3,5329252 | 9 |

| | | | | |
|-------|---------|-----------|------------|-----|
| | junio | 34,414478 | 6,3244055 | 9 |
| | julio | 39,126480 | 8,3852626 | 15 |
| | Total | 37,589464 | 8,1929165 | 72 |
| CR2 | enero | 27,767767 | 5,8698697 | 3 |
| | febrero | 35,837300 | 6,7824127 | 12 |
| | marzo | 34,256067 | 6,6212253 | 12 |
| | abril | 35,878408 | 5,8311908 | 12 |
| | mayo | 36,988678 | 5,4902516 | 9 |
| | junio | 37,692911 | 9,8635189 | 9 |
| | julio | 31,011313 | 2,4503955 | 15 |
| | Total | 34,614842 | 6,5485934 | 72 |
| Total | enero | 35,149208 | 7,5493399 | 12 |
| | febrero | 37,510729 | 6,1900718 | 48 |
| | marzo | 35,603175 | 7,4787069 | 48 |
| | abril | 38,715721 | 10,0074831 | 48 |
| | mayo | 34,569736 | 6,1778771 | 36 |
| | junio | 35,476683 | 8,7338942 | 42 |
| | julio | 33,856881 | 7,5446754 | 54 |
| | Total | 35,945886 | 7,9317521 | 288 |

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente:% Humedad

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|----------------------------|-------------------------------|-----|------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 4312,116 ^a | 27 | 159,708 | 3,021 | ,000 |
| Intersección | 290317,033 | 1 | 290317,033 | 5492,097 | ,000 |
| Estación de muestreo | 1132,535 | 3 | 377,512 | 7,142 | ,000 |
| Mes | 841,400 | 6 | 140,233 | 2,653 | ,016 |
| Estación de muestreo * Mes | 1616,161 | 18 | 89,787 | 1,699 | ,040 |
| Error | 13743,826 | 260 | 52,861 | | |
| Total | 390182,687 | 288 | | | |
| Total corregida | 18055,942 | 287 | | | |

a. R cuadrado = ,239 (R cuadrado corregida = ,160)

Medias marginales estimadas

Gran media

Variable dependiente:% Humedad

| Media | Error típ. | Intervalo de confianza 95% | |
|--------|------------|----------------------------|-----------------|
| | | Límite inferior | Límite superior |
| 35,829 | ,483 | 34,877 | 36,781 |

Pruebas post hoc

Estacion de muestreo

Comparaciones múltiples

% Humedad

Bonferroni

| (I)Estacion de muestreo | (J)Estacion de muestreo | Diferencia de medias (I-J) | Error típ. | Sig. | Intervalo de confianza 95% | |
|-------------------------|-------------------------|----------------------------|------------|-------|----------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| CA1 | CA2 | -6,571901* | 1,2117580 | ,000 | -9,793477 | -3,350325 |
| | CR1 | -5,085794* | 1,2117580 | ,000 | -8,307371 | -1,864218 |
| | CR2 | -2,111172 | 1,2117580 | ,496 | -5,332748 | 1,110404 |
| CA2 | CA1 | 6,571901* | 1,2117580 | ,000 | 3,350325 | 9,793477 |
| | CR1 | 1,486107 | 1,2117580 | 1,000 | -1,735469 | 4,707683 |
| | CR2 | 4,460729* | 1,2117580 | ,002 | 1,239153 | 7,682305 |
| CR1 | CA1 | 5,085794* | 1,2117580 | ,000 | 1,864218 | 8,307371 |
| | CA2 | -1,486107 | 1,2117580 | 1,000 | -4,707683 | 1,735469 |
| | CR2 | 2,974622 | 1,2117580 | ,089 | -,246954 | 6,196198 |
| CR2 | CA1 | 2,111172 | 1,2117580 | ,496 | -1,110404 | 5,332748 |
| | CA2 | -4,460729* | 1,2117580 | ,002 | -7,682305 | -1,239153 |
| | CR1 | -2,974622 | 1,2117580 | ,089 | -6,196198 | ,246954 |

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 52,861.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

Subconjuntos homogéneos

Tiempo

Comparaciones múltiples

% Humedad

Bonferroni

| (I)Tiempo | (J)Tiempo | Diferencia de medias (I-J) | Error típ. | Sig. | Intervalo de confianza 95% | |
|-----------|-----------|----------------------------|------------|-----------|----------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| enero | febrero | -2,361521 | 2,3465593 | 1,000 | -9,561304 | 4,838263 |
| | marzo | -,453967 | 2,3465593 | 1,000 | -7,653750 | 6,745817 |
| | abril | -3,566512 | 2,3465593 | 1,000 | -10,766296 | 3,633271 |
| | mayo | ,579472 | 2,4235160 | 1,000 | -6,856432 | 8,015377 |
| | junio | -,327475 | 2,3798455 | 1,000 | -7,629388 | 6,974438 |
| | julio | 1,292327 | 2,3203399 | 1,000 | -5,827010 | 8,411663 |
| | febrero | enero | 2,361521 | 2,3465593 | 1,000 | -4,838263 |
| marzo | | 1,907554 | 1,4840944 | 1,000 | -2,645989 | 6,461097 |
| abril | | -1,204992 | 1,4840944 | 1,000 | -5,758535 | 3,348551 |
| mayo | | 2,940993 | 1,6030052 | 1,000 | -1,977395 | 7,859382 |
| junio | | 2,034046 | 1,5361837 | 1,000 | -2,679319 | 6,747411 |
| julio | | 3,653848 | 1,4422805 | ,250 | -,771401 | 8,079096 |
| marzo | enero | ,453967 | 2,3465593 | 1,000 | -6,745817 | 7,653750 |
| | febrero | -1,907554 | 1,4840944 | 1,000 | -6,461097 | 2,645989 |

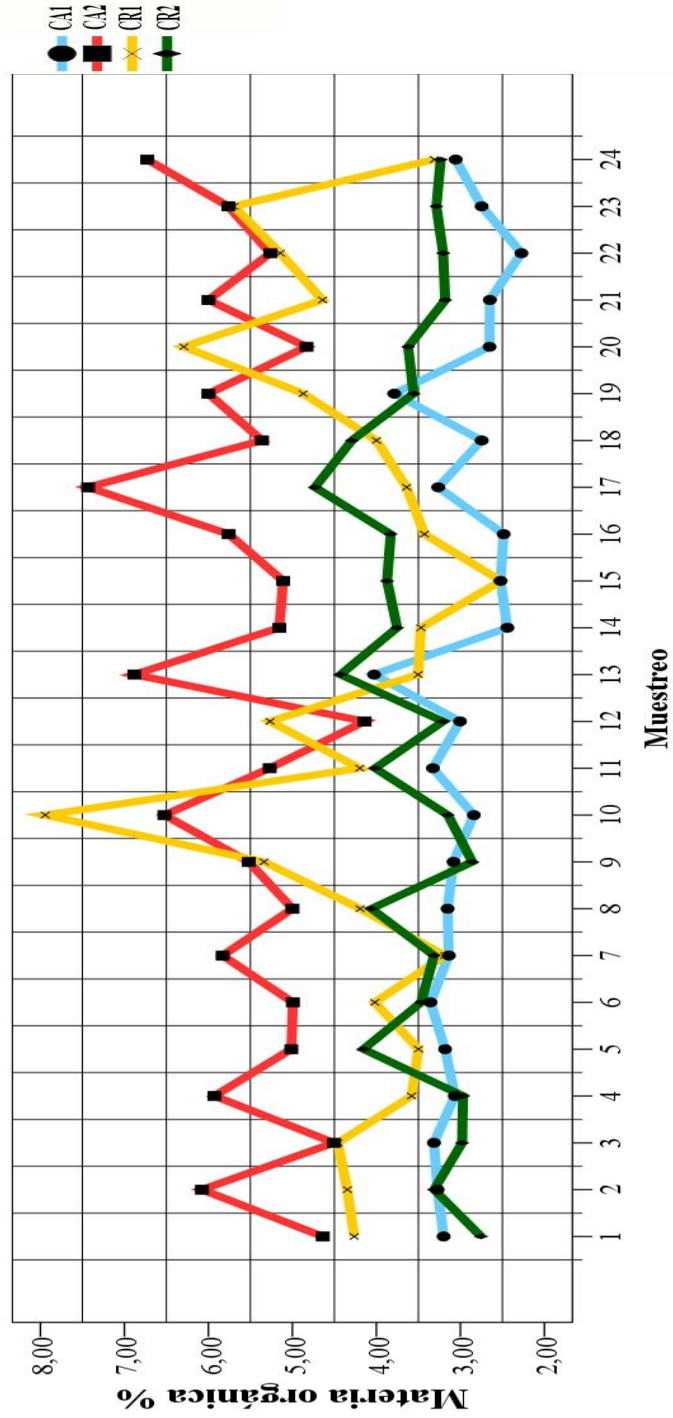
| | | | | | | |
|-------|---------|------------|-----------|-------|-----------|-----------|
| | abril | -3,112546 | 1,4840944 | ,776 | -7,666089 | 1,440997 |
| | mayo | 1,033439 | 1,6030052 | 1,000 | -3,884950 | 5,951827 |
| | junio | ,126492 | 1,5361837 | 1,000 | -4,586873 | 4,839856 |
| | julio | 1,746294 | 1,4422805 | 1,000 | -2,678955 | 6,171542 |
| abril | enero | 3,566512 | 2,3465593 | 1,000 | -3,633271 | 10,766296 |
| | febrero | 1,204992 | 1,4840944 | 1,000 | -3,348551 | 5,758535 |
| | marzo | 3,112546 | 1,4840944 | ,776 | -1,440997 | 7,666089 |
| | mayo | 4,145985 | 1,6030052 | ,215 | -,772404 | 9,064373 |
| | junio | 3,239037 | 1,5361837 | ,755 | -1,474327 | 7,952402 |
| | julio | 4,858839* | 1,4422805 | ,018 | ,433591 | 9,284088 |
| mayo | enero | -,579472 | 2,4235160 | 1,000 | -8,015377 | 6,856432 |
| | febrero | -2,940993 | 1,6030052 | 1,000 | -7,859382 | 1,977395 |
| | marzo | -1,033439 | 1,6030052 | 1,000 | -5,951827 | 3,884950 |
| | abril | -4,145985 | 1,6030052 | ,215 | -9,064373 | ,772404 |
| | junio | -,906947 | 1,6513478 | 1,000 | -5,973662 | 4,159768 |
| | julio | ,712855 | 1,5643729 | 1,000 | -4,087001 | 5,512710 |
| junio | enero | ,327475 | 2,3798455 | 1,000 | -6,974438 | 7,629388 |
| | febrero | -2,034046 | 1,5361837 | 1,000 | -6,747411 | 2,679319 |
| | marzo | -,126492 | 1,5361837 | 1,000 | -4,839856 | 4,586873 |
| | abril | -3,239037 | 1,5361837 | ,755 | -7,952402 | 1,474327 |
| | mayo | ,906947 | 1,6513478 | 1,000 | -4,159768 | 5,973662 |
| | julio | 1,619802 | 1,4958266 | 1,000 | -2,969738 | 6,209342 |
| julio | enero | -1,292327 | 2,3203399 | 1,000 | -8,411663 | 5,827010 |
| | febrero | -3,653848 | 1,4422805 | ,250 | -8,079096 | ,771401 |
| | marzo | -1,746294 | 1,4422805 | 1,000 | -6,171542 | 2,678955 |
| | abril | -4,858839* | 1,4422805 | ,018 | -9,284088 | -,433591 |
| | mayo | -,712855 | 1,5643729 | 1,000 | -5,512710 | 4,087001 |
| | junio | -1,619802 | 1,4958266 | 1,000 | -6,209342 | 2,969738 |

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 52,861.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

Anexo T Comportamiento del contenido de materia orgánica en el sedimento durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones



Anexo U Análisis de varianza ANOVA para materia orgánica

Salida software estadístico SPSS versión 19.0 para Windows:

Análisis de varianza univariante

Factores inter-sujetos

| | | Etiqueta del valor | N |
|----------------------|---|--------------------|----|
| Estacion de muestreo | 1 | CA1 | 72 |
| | 2 | CA2 | 72 |
| | 3 | CR1 | 72 |
| | 4 | CR2 | 72 |
| Tiempo | 1 | enero | 12 |
| | 2 | febrero | 48 |
| | 3 | marzo | 48 |
| | 4 | abril | 48 |
| | 5 | mayo | 36 |
| | 6 | junio | 42 |
| | 7 | julio | 54 |

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente:% Materia Organica

| Estacion de muestreo | Tiempo | Media | Desviación típica | N |
|----------------------|---------|----------|-------------------|----|
| CA1 | enero | 3,199633 | ,9267111 | 3 |
| | febrero | 3,208217 | ,5002131 | 12 |
| | marzo | 3,182042 | ,9269297 | 12 |
| | abril | 3,299492 | ,7751587 | 12 |
| | mayo | 2,482389 | ,3954324 | 9 |
| | junio | 3,112608 | ,9660422 | 12 |
| | julio | 2,681267 | ,3510401 | 12 |
| | Total | 3,024221 | ,7435819 | 72 |
| CA2 | enero | 4,637500 | ,8933432 | 3 |
| | febrero | 5,379692 | 1,1623077 | 12 |
| | marzo | 5,335358 | ,7681329 | 12 |
| | abril | 5,703908 | 1,7872644 | 12 |
| | mayo | 5,341122 | ,7629418 | 9 |
| | junio | 5,905892 | 1,7669593 | 12 |
| | julio | 5,937608 | 1,0490091 | 12 |
| | Total | 5,571279 | 1,2812586 | 72 |
| CR1 | enero | 4,263633 | 1,1075948 | 3 |
| | febrero | 3,971292 | ,7998047 | 12 |
| | marzo | 4,183417 | 1,2183922 | 12 |
| | abril | 5,227675 | 2,3103168 | 12 |
| | mayo | 3,138722 | ,7105770 | 9 |

| | | | | |
|-------|---------|----------|-----------|-----|
| | junio | 4,169933 | 1,2325797 | 9 |
| | julio | 5,016733 | 1,5814784 | 15 |
| | Total | 4,366783 | 1,5346030 | 72 |
| CR2 | enero | 2,754000 | ,3935324 | 3 |
| | febrero | 3,353333 | ,8711051 | 12 |
| | marzo | 3,424750 | ,5849137 | 12 |
| | abril | 3,699417 | 1,2315853 | 12 |
| | mayo | 3,818256 | ,9192720 | 9 |
| | junio | 4,193200 | 1,0056796 | 9 |
| | julio | 3,305467 | ,3021535 | 15 |
| | Total | 3,551071 | ,8666251 | 72 |
| Total | enero | 3,713692 | 1,0913022 | 12 |
| | febrero | 3,978133 | 1,2060771 | 48 |
| | marzo | 4,031392 | 1,2185476 | 48 |
| | abril | 4,482623 | 1,8785649 | 48 |
| | mayo | 3,695122 | 1,2789555 | 36 |
| | junio | 4,368814 | 1,6585023 | 42 |
| | julio | 4,227028 | 1,5997201 | 54 |
| | Total | 4,128339 | 1,4957678 | 288 |

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente:% Materia Organica

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|----------------------------|-------------------------------|-----|------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 318,543 ^a | 27 | 11,798 | 9,480 | ,000 |
| Intersección | 3744,017 | 1 | 3744,017 | 3008,471 | ,000 |
| Estación de muestreo | 193,046 | 3 | 64,349 | 51,707 | ,000 |
| Mes | 18,925 | 6 | 3,154 | 2,534 | ,021 |
| Estación de muestreo * Mes | 33,684 | 18 | 1,871 | 1,504 | ,088 |
| Error | 323,568 | 260 | 1,244 | | |
| Total | 5550,547 | 288 | | | |
| Total corregida | 642,111 | 287 | | | |

a. R cuadrado = ,496 (R cuadrado corregida = ,444)

Medias marginales estimadas

Gran media

Variable dependiente:% Materia Organica

| Media | Error típ. | Intervalo de confianza 95% | |
|-------|------------|----------------------------|-----------------|
| | | Límite inferior | Límite superior |
| 4,069 | ,074 | 3,923 | 4,215 |

Pruebas post hoc

Estacion de muestreo

Comparaciones múltiples

% Materia Organica
Bonferroni

| (I)Estacion de muestreo | (J)Estacion de muestreo | Diferencia de medias (I-J) | Error típ. | Sig. | Intervalo de confianza 95% | |
|-------------------------|-------------------------|----------------------------|------------|------|----------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| CA1 | CA2 | -2,547058* | ,1859280 | ,000 | -3,041366 | -2,052751 |
| | CR1 | -1,342563* | ,1859280 | ,000 | -1,836870 | -,848255 |
| | CR2 | -,526850* | ,1859280 | ,030 | -1,021158 | -,032542 |
| CA2 | CA1 | 2,547058* | ,1859280 | ,000 | 2,052751 | 3,041366 |
| | CR1 | 1,204496* | ,1859280 | ,000 | ,710188 | 1,698803 |
| | CR2 | 2,020208* | ,1859280 | ,000 | 1,525901 | 2,514516 |
| CR1 | CA1 | 1,342563* | ,1859280 | ,000 | ,848255 | 1,836870 |
| | CA2 | -1,204496* | ,1859280 | ,000 | -1,698803 | -,710188 |
| | CR2 | ,815713* | ,1859280 | ,000 | ,321405 | 1,310020 |
| CR2 | CA1 | ,526850* | ,1859280 | ,030 | ,032542 | 1,021158 |
| | CA2 | -2,020208* | ,1859280 | ,000 | -2,514516 | -1,525901 |
| | CR1 | -,815713* | ,1859280 | ,000 | -1,310020 | -,321405 |

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1,244.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

Subconjuntos homogéneos

Tiempo

Comparaciones múltiples

% Materia Organica
Bonferroni

| (I)Tiempo | (J)Tiempo | Diferencia de medias (I-J) | Error típ. | Sig. | Intervalo de confianza 95% | |
|-----------|-----------|----------------------------|------------|-------|----------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| enero | febrero | -,264442 | ,3600480 | 1,000 | -1,369152 | ,840268 |
| | marzo | -,317700 | ,3600480 | 1,000 | -1,422410 | ,787010 |
| | abril | -,768931 | ,3600480 | ,707 | -1,873641 | ,335779 |
| | mayo | ,018569 | ,3718559 | 1,000 | -1,122370 | 1,159509 |
| | junio | -,655123 | ,3651553 | 1,000 | -1,775503 | ,465258 |
| | julio | -,513336 | ,3560250 | 1,000 | -1,605703 | ,579030 |
| febrero | enero | ,264442 | ,3600480 | 1,000 | -,840268 | 1,369152 |
| | marzo | -,053258 | ,2277143 | 1,000 | -,751938 | ,645422 |
| | abril | -,504490 | ,2277143 | ,580 | -1,203170 | ,194190 |
| | mayo | ,283011 | ,2459596 | 1,000 | -,471649 | 1,037672 |
| | junio | -,390681 | ,2357067 | 1,000 | -1,113883 | ,332521 |
| | julio | -,248894 | ,2212986 | 1,000 | -,927889 | ,430100 |
| marzo | enero | ,317700 | ,3600480 | 1,000 | -,787010 | 1,422410 |

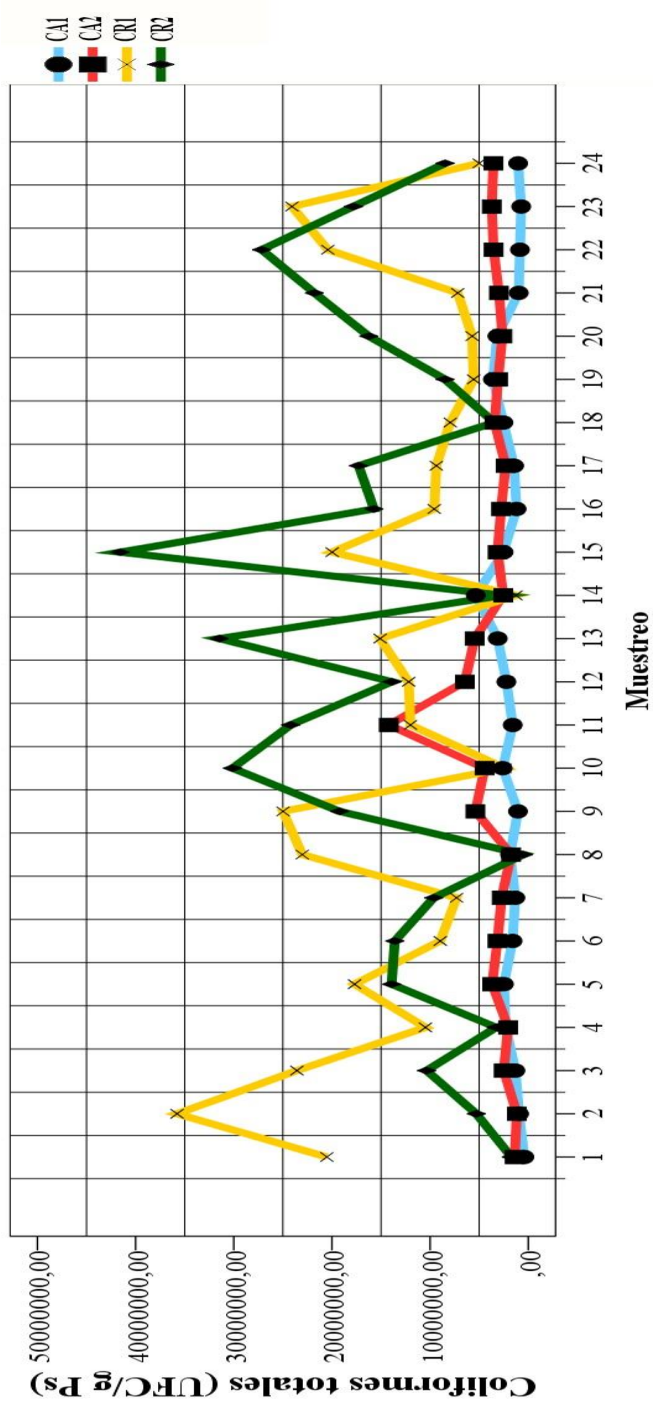
| | | | | | | |
|-------|---------|------------|----------|-------|-----------|----------|
| | febrero | ,053258 | ,2277143 | 1,000 | -,645422 | ,751938 |
| | abril | -,451231 | ,2277143 | 1,000 | -1,149911 | ,247449 |
| | mayo | ,336269 | ,2459596 | 1,000 | -,418391 | 1,090930 |
| | junio | -,337423 | ,2357067 | 1,000 | -1,060625 | ,385780 |
| | julio | -,195636 | ,2212986 | 1,000 | -,874631 | ,483359 |
| abril | enero | ,768931 | ,3600480 | ,707 | -,335779 | 1,873641 |
| | febrero | ,504490 | ,2277143 | ,580 | -,194190 | 1,203170 |
| | marzo | ,451231 | ,2277143 | 1,000 | -,247449 | 1,149911 |
| | mayo | ,787501 * | ,2459596 | ,032 | ,032840 | 1,542161 |
| | junio | ,113809 | ,2357067 | 1,000 | -,609394 | ,837011 |
| | julio | ,255595 | ,2212986 | 1,000 | -,423400 | ,934590 |
| mayo | enero | -,018569 | ,3718559 | 1,000 | -1,159509 | 1,122370 |
| | febrero | -,283011 | ,2459596 | 1,000 | -1,037672 | ,471649 |
| | marzo | -,336269 | ,2459596 | 1,000 | -1,090930 | ,418391 |
| | abril | -,787501 * | ,2459596 | ,032 | -1,542161 | -,032840 |
| | junio | -,673692 | ,2533771 | ,175 | -1,451111 | ,103727 |
| | julio | -,531906 | ,2400320 | ,579 | -1,268379 | ,204568 |
| junio | enero | ,655123 | ,3651553 | 1,000 | -,465258 | 1,775503 |
| | febrero | ,390681 | ,2357067 | 1,000 | -,332521 | 1,113883 |
| | marzo | ,337423 | ,2357067 | 1,000 | -,385780 | 1,060625 |
| | abril | -,113809 | ,2357067 | 1,000 | -,837011 | ,609394 |
| | mayo | ,673692 | ,2533771 | ,175 | -,103727 | 1,451111 |
| | julio | ,141787 | ,2295145 | 1,000 | -,562417 | ,845990 |
| julio | enero | ,513336 | ,3560250 | 1,000 | -,579030 | 1,605703 |
| | febrero | ,248894 | ,2212986 | 1,000 | -,430100 | ,927889 |
| | marzo | ,195636 | ,2212986 | 1,000 | -,483359 | ,874631 |
| | abril | -,255595 | ,2212986 | 1,000 | -,934590 | ,423400 |
| | mayo | ,531906 | ,2400320 | ,579 | -,204568 | 1,268379 |
| | junio | -,141787 | ,2295145 | 1,000 | -,845990 | ,562417 |

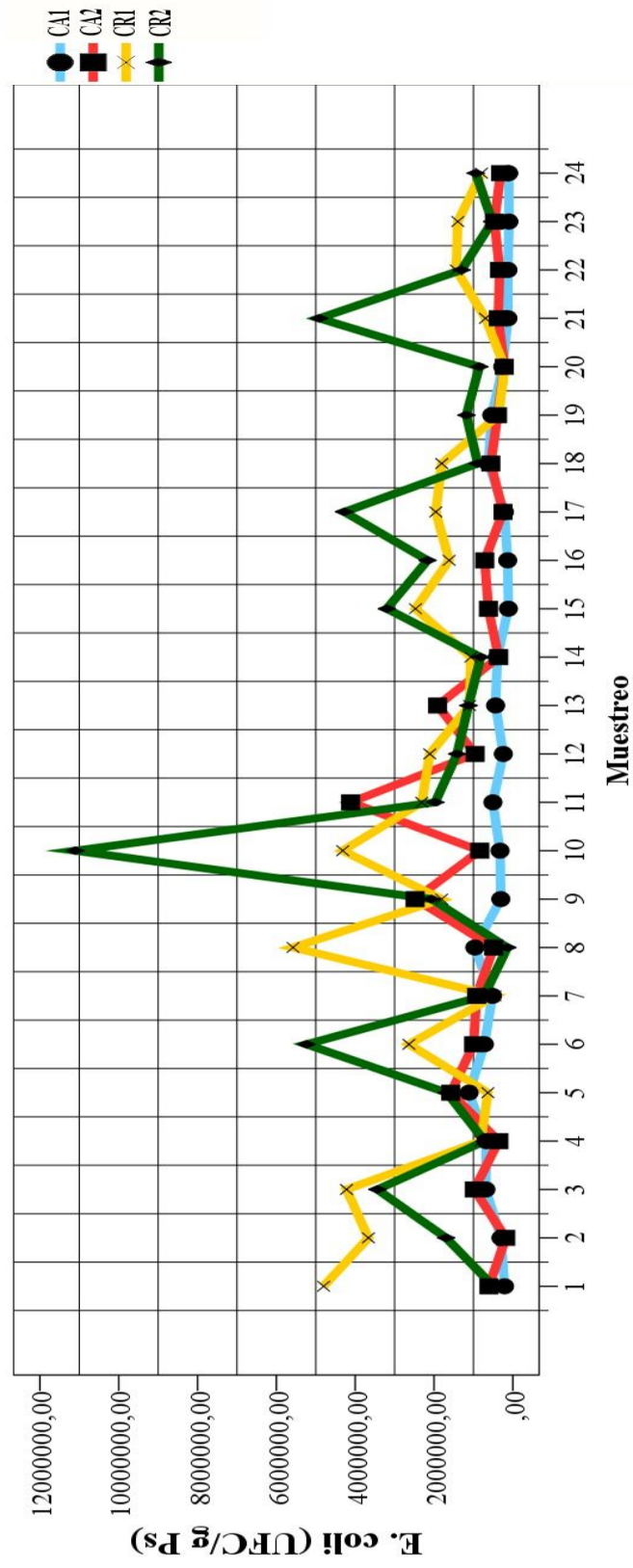
Basadas en las medias observadas.

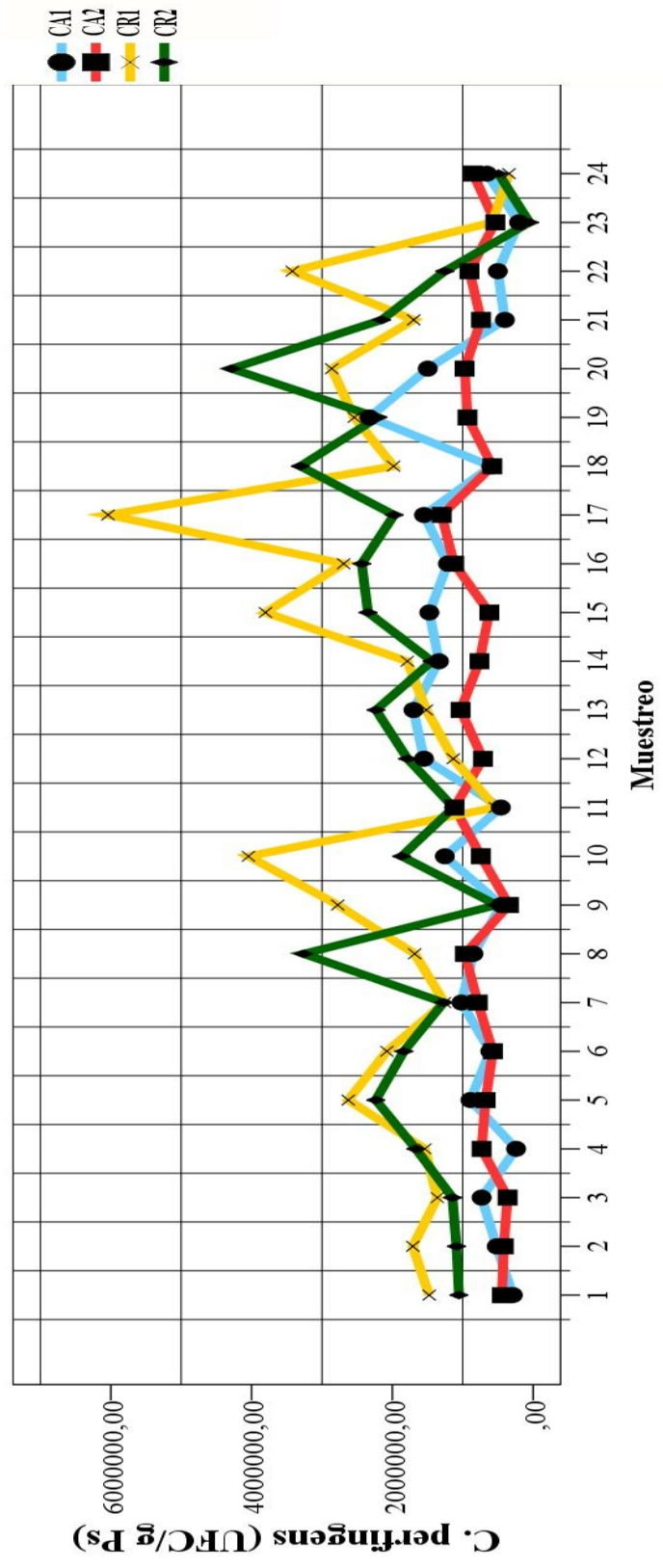
El término de error es la media cuadrática(Error) = 1,244.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

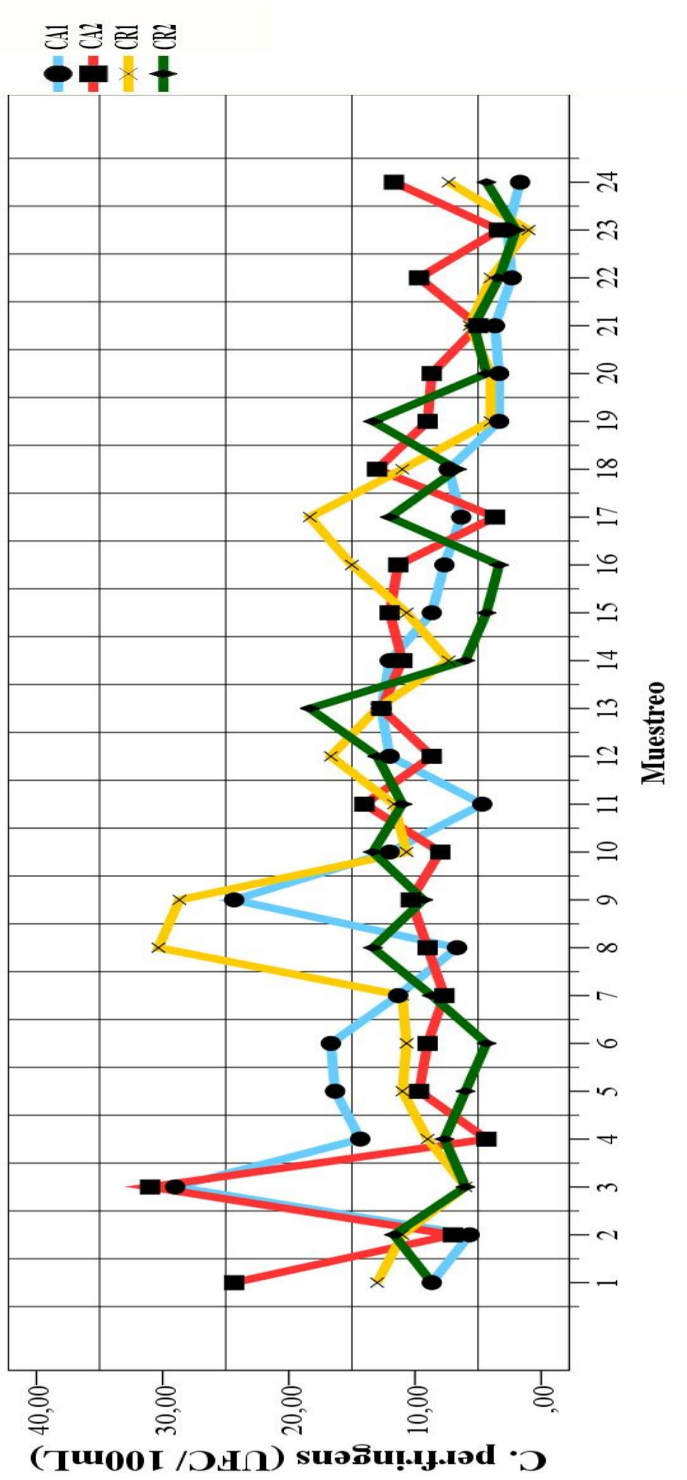
Anexo V. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en el sedimento durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones.

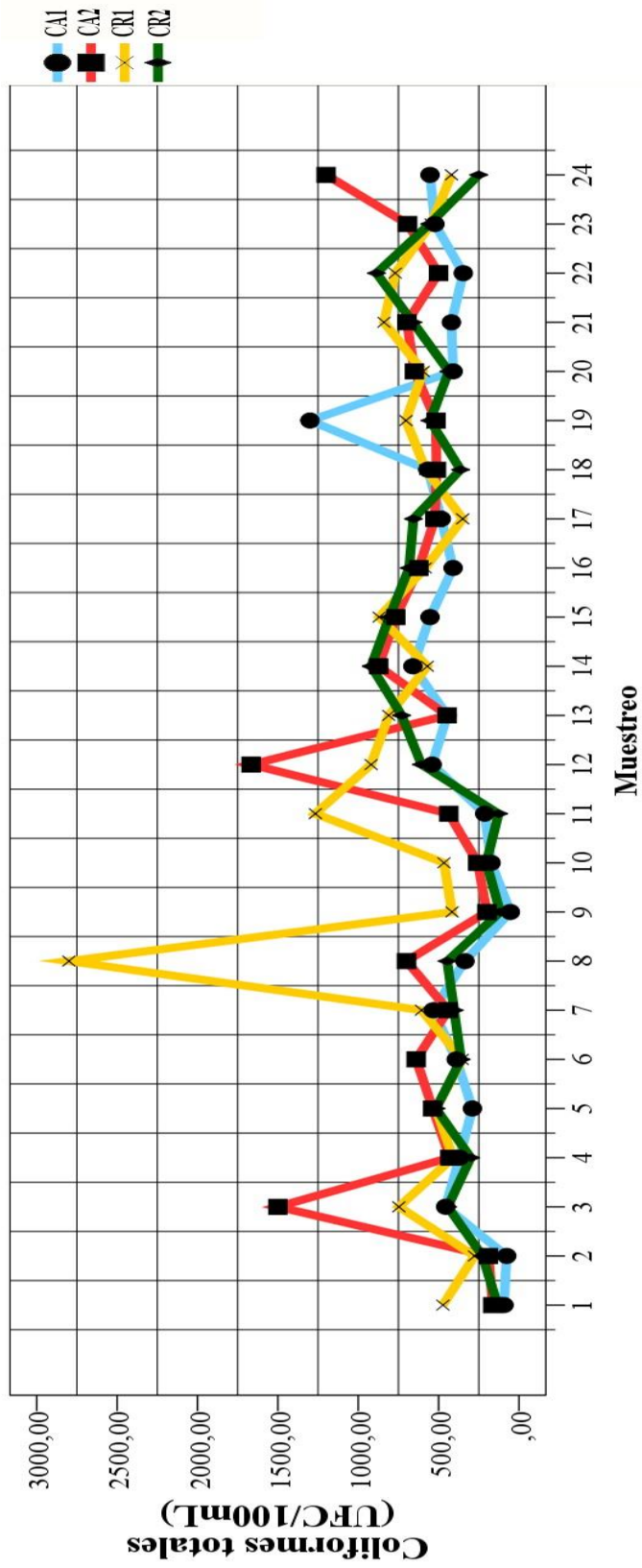


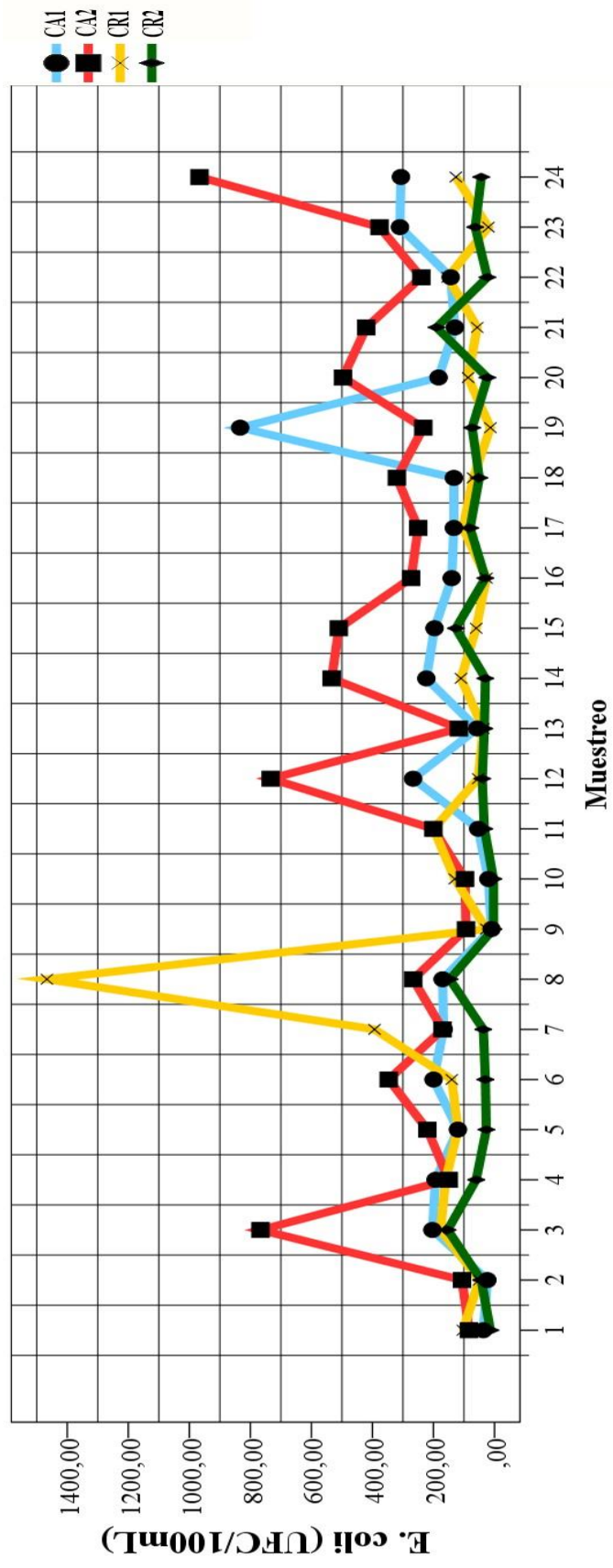




Anexo W. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en el agua durante los 24 muestreos en las cuatro estaciones







Anexo X. Análisis de varianza ANOVA para parámetros físicos del agua y positividad de *H. pylori*.

Análisis de varianza univariante

Factores inter-sujetos

| | | Etiqueta del valor | N |
|--|---|--------------------|-----|
| <i>H. pylori</i> (presencia/ ausencia) | 0 | negativo | 196 |
| | 1 | positivo | 92 |
| Estación de muestreo | 1 | CA1 | 72 |
| | 2 | CA2 | 72 |
| | 3 | CR1 | 72 |
| | 4 | CR2 | 72 |

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas

error^a

Variable dependiente: Turbiedad (UNT)

| F | gl1 | gl2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 6,420 | 7 | 280 | ,000 |

Contrasta la hipótesis nula de que la varianza error de la variable dependiente es igual a lo largo de todos los grupos.

a. Diseño: Intersección + *H_pylori* + Estación de muestreo + *H_pylori* * Estación de muestreo

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Turbiedad (UNT)

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--|----------------------------|-----|------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 455,936 ^a | 7 | 65,134 | 10,976 | ,000 |
| Intersección | 3971,396 | 1 | 3971,396 | 669,247 | ,000 |
| <i>H_pylori</i> | 2,515 | 1 | 2,515 | ,424 | ,516 |
| Estación de muestreo | 434,291 | 3 | 144,764 | 24,395 | ,000 |
| <i>H_pylori</i> * Estación de muestreo | 15,424 | 3 | 5,141 | ,866 | ,459 |
| Error | 1661,556 | 280 | 5,934 | | |
| Total | 6601,399 | 288 | | | |
| Total corregida | 2117,493 | 287 | | | |

a. R cuadrado = ,215 (R cuadrado corregida = ,196)

Medias marginales estimadas

Gran media

Variable dependiente: Turbiedad (UNT)

| Media | Error típ. | Intervalo de confianza 95% | |
|-------|------------|----------------------------|-----------------|
| | | Límite inferior | Límite superior |
| 3,995 | ,154 | 3,691 | 4,299 |

Pruebas post hoc

Estacion de muestreo

Comparaciones múltiples

Turbiedad (UNT)

Bonferroni

| (I)Estacion de muestreo | de (J)Estacion de muestreo | Diferencia de medias (I-J) | Error típ. | Sig. | Intervalo de confianza 95% | |
|-------------------------|----------------------------|----------------------------|------------|-------|----------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| CA1 | CA2 | -2,6483* | ,40600 | ,000 | -3,7271 | -1,5695 |
| | CR1 | -1,3610* | ,40600 | ,005 | -2,4398 | -,2822 |
| | CR2 | ,5191 | ,40600 | 1,000 | -,5597 | 1,5979 |
| CA2 | CA1 | 2,6483* | ,40600 | ,000 | 1,5695 | 3,7271 |
| | CR1 | 1,2872* | ,40600 | ,010 | ,2084 | 2,3660 |
| | CR2 | 3,1674* | ,40600 | ,000 | 2,0886 | 4,2462 |
| CR1 | CA1 | 1,3610* | ,40600 | ,005 | ,2822 | 2,4398 |
| | CA2 | -1,2872* | ,40600 | ,010 | -2,3660 | -,2084 |
| | CR2 | 1,8802* | ,40600 | ,000 | ,8014 | 2,9590 |
| CR2 | CA1 | -,5191 | ,40600 | 1,000 | -1,5979 | ,5597 |
| | CA2 | -3,1674* | ,40600 | ,000 | -4,2462 | -2,0886 |
| | CR1 | -1,8802* | ,40600 | ,000 | -2,9590 | -,8014 |

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 5,934.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.