

**COMPORTAMIENTO DE LA FILTRACIÓN GRUESA EN LA REMOCIÓN DE  
*HELICOBACTER PYLORI* EN FUENTES SUPERFICIALES DE AGUA**



Universidad  
del Cauca

**MARIA CRISTINA LEDEZMA MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
MAESTRIA EN RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS CONTINENTALES  
POPAYAN  
2021**

**COMPORTAMIENTO DE LA FILTRACIÓN GRUESA EN LA REMOCIÓN DE  
*HELICOBACTER PYLORI* EN FUENTES SUPERFICIALES DE AGUA**  
Informe final de trabajo de grado modalidad investigación como requisito  
para optar al título de Magister en Recursos Hidrobiológicos Continentales

**MARIA CRISTINA LEDEZMA MUÑOZ**

**Directora:**

**PhD. CLAUDIA PATRICIA ACOSTA ASTAIZA  
PROFESOR TITULAR  
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD**

**Co Director:**

**PhD. JAVIER ERNESTO FERNANDEZ MERA  
PROFESOR TITULAR  
FACULTAD INGENIERIA CIVIL**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
MAESTRIA EN RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS CONTINENTALES  
POPAYAN  
2021**

**Nota de aceptación**

---

---

---


---

Director: 

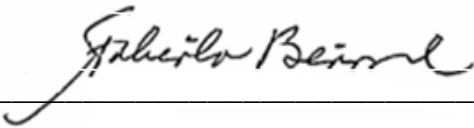
PhD. Claudia Acosta

Co Director: 

PhD. Javier Fernández

Jurado: 

Mg. Andrés Quiroga

Jurado: 

Mg. Fabiola Berón Cañarte

Lugar y fecha de sustentación: Popayán, 23 de agosto de 2021

## DEDICATORIA

*A Díos, por ser mi gran maestro.  
A mi hijo Joshua, por ser la mayor  
motivación de mi vida y quien  
cursó conmigo este proceso.  
A mi familia y a Carlos por su  
apoyo incondicional.*

## AGRADECIMIENTOS

- ✓ Desde el fondo de mi corazón quiero agradecer infinitamente a Dios, por estar presente en mi vida siempre, darme perseverancia, fortaleza, paciencia y sabiduría para llevar a cabo este proceso de formación en esta investigación.
- ✓ Agradezco a mis asesores Claudia Patricia Acosta y Javier Fernández Mera, por apoyarme siempre, impulsarme, y acompañarme todo este tiempo, con sus consejos acertados y sus valiosas enseñanzas, haciéndome parte del proyecto de investigación titulado “Validación del filtro lento en arena para la remoción del patógeno emergente *Helicobacter pylori* en sistemas de abastecimiento de agua rural” ID: 4952, financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones.
- ✓ Al todo el personal del Laboratorio de Genética Humana de la Universidad del Cauca, compañeros y amigos, Doctora Sulma Muñoz, al Ingeniero Javier Leyton, Ingeniera Camila Vásquez, Tecnóloga Sofia Ruiz y al profesor Andrés Javier, por disposición, colaboración y acompañamiento en el desarrollo de este proyecto.
- ✓ Al laboratorio de Análisis Ambientales del Sena Cauca, especialmente a mi amiga y colega Victoria Pizo, por su apoyo incondicional.
- ✓ Al laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad del Cauca, a las futuras ingenieras Isabel Cifuentes y Mariana Rojas por su valiosa contribución al desarrollo de este proyecto.
- ✓ A la Universidad del Cauca y al Departamento de Ingeniería ambiental por su apoyo.
- ✓ A la comunidad de las Guacas por permitir realizar el estudio en su acueducto.
- ✓ Muy especialmente a mis compañeros y Docentes de la Maestría por compartir sus conocimientos y todas las maravillosas vivencias en este andar.
- ✓ Finalmente, a mi familia por su amor, paciencia, apoyo incondicional y constante motivación para cumplir mis metas y hacer mis sueños realidad.

## RESUMEN

La tecnología filtración en múltiples etapas (FiME) es una alternativa que reduce el riesgo por contaminación fecal permitiendo la potabilización del agua de manera confiable en acueductos de zona rural. Está compuesta por dos etapas, la primera que se considera como pretratamiento, consiste en dos filtros en grava, y una segunda o última etapa de tratamiento que incluyen filtración lenta en arena (FLA). Sin embargo, con el fin de reducir los costos de construcción, su implementación se hace parcial, dejando los FLA para una posterior implementación, limitando su potencial de tratamiento. Con el fin de evaluar el comportamiento de la FG en la remoción de *Helicobacter pylori* en fuentes superficiales de agua, se realizó el seguimiento, durante 15 semanas, a la calidad del agua cruda y tratada del acueducto Las Guacas, municipio de Popayán, Cauca, operado y mantenido por la propia comunidad.

Los resultados de la etapa de pretratamiento presentaron eficiencias de remoción de turbiedad y color del 40 y 30%, respectivamente, mientras que, según el análisis de varianza en los coliformes totales ( $p=0.8675$ ) y fecales ( $p=0.1280$ ) no hay diferencias significativas, indicando una remoción nula. La presencia del *H. pylori*, fue determinada con la técnica molecular (PCR), se encontró tanto en el agua cruda y como después de su tratamiento, esto se asocia con una limitada operación y una baja frecuencia de mantenimiento del sistema. No se evidenció relación entre los parámetros físicos y microbiológicos con la presencia de la bacteria. La implementación de la tecnología FiME sin el complemento de FLA, es poco confiable para asegurar la calidad del agua, particularmente desde el punto de vista microbiológico, especialmente en el control del *H. pylori*.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, filtración en gravas, filtración en múltiples etapas, acueductos rurales, PCR.

## ABSTRACT

Multi-stage filtration technology (MSF) is an alternative that reduces the risk of fecal contamination, allowing the reliable water supply in rural areas. It is composed by two treatment stages: a first stage that is considered liked pretreatment, consisting of two filters in gravel (GF), and a second or final stage of treatment that include slow sand filtration (SSF). However, in order to reduce construction costs, its implementation is partial, leaving the SSF for later construction, limiting its treatment potential. In order to evaluate the behavior of the GF in the removal of *Helicobacter pylori* in surface water sources, the quality of the raw and treated water of the Las Guacas water supply system, located at the municipality of Popayán, it was monitored for 15 weeks. The system was operated and maintained by the community itself.

The results showed turbidity and color removal efficiencies of 40 and 30%, respectively, while according to the analysis of variance in total ( $p = 0.8675$ ) and fecal coliforms ( $p = 0.1280$ ) there are no significant differences indicating zero removal. The presence or absence of *H. pylori* determined with the molecular technique (PCR), found in raw water and even after its treatment, this is associated with a limited operation and a low frequency of maintenance of the system, without showing a relationship between the physical and microbiological parameters with the presence of *H. pylori*. The implementation of the MSF technology without the complement of SSF, is unreliable to ensure the quality of the water, particularly from the microbiological point of view, especially in the control of *H. pylori*.

Keywords: *Helicobacter pylori*, gravel filtration, multi-stage filtration, rural aqueducts, PCR.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	14
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	17
2. JUSTIFICACIÓN .....	20
3. OBJETIVOS .....	22
3.1 OBJETIVO GENERAL .....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
4. MARCO TEÓRICO .....	23
4.1 HELICOBACTER PYLORI .....	23
4.2 MÉTODO DE DETECCIÓN DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA .....	24
4.3 SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA POR FILTRACIÓN EN GRAVA Y FILTRACIÓN LENTA EN ARENA. ....	26
4.4 RECOMENDACIONES SOBRE EL MANTENIMIENTO DE LOS SISTEMAS DE FILTRACIÓN EN GRAVAS .....	32
4.5 EXPERIENCIAS EN LA REMOCIÓN DE PATÓGENOS .....	33
5. METODOLOGÍA .....	36
5.1 TIPO DE ESTUDIO .....	36
5.2 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	36
5.3 METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DE OBJETIVO 1 .....	38
5.3.1 Puntos de muestreo .....	38
5.3.2 Parámetros, frecuencia y estimación del número de datos. ....	38
5.3.3 Materiales y métodos por parámetro. ....	39
5.4 PARÁMETROS FÍSICOS E HIDRÁULICOS .....	40
5.5 PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS .....	41



5.6	DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE <i>H. PYLORI</i> .....	42
5.6.1	Puesta a punto de la PCR para la detección de <i>H. pylori</i> en muestras de agua. ....	42
5.6.2	Concentración de las muestras de agua por centrifugación. ....	42
5.6.3	Extracción y Cuantificación de ADN a partir de muestras de agua....	43
5.6.4	Evaluación de primers. ....	44
5.6.5	Amplificación de ADN extraído. ....	44
5.6.6	Visualización del ADN amplificado. ....	46
5.6.7	Límite de detección la técnica PCR para <i>H. pylori</i> .....	46
5.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	47
5.8	METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DEL OBJETIVO 2. ....	49
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
6.1	CALIDAD DEL AGUA CRUDA.....	50
6.2	CONDICIONES DE OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO DEL SISTEMA. ....	51
6.3	Calidad de agua tratada. ....	54
6.3.1	Turbiedad y color. ....	54
6.3.2	Coliformes totales y <i>E. coli</i> . ....	58
6.3.3	Otros parámetros.....	60
6.4	REMOCIÓN DE HELICOBACTER PYLORI.....	61
6.5	CORRELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL Y LA PRESENCIA O AUSENCIA DE <i>H. PYLORI</i> EN EL AGUA CRUDA Y TRATADA.....	66
7.	CONCLUSIONES .....	68
8.	RECOMENDACIONES .....	69

9. REFERENCIAS.....	71
10. ANEXOS .....	78

## LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros de muestreo y su frecuencia. ....	39
Tabla 2. Protocolo de medición de los parámetros fisicoquímicos e hidráulicos. ...	40
Tabla 3. Secuencia de Primers utilizados en la PCR. ....	44
Tabla 4. Condiciones de la PCR para la amplificación.....	45
Tabla 5. Estadísticas descriptivas: Turbiedad y Color para el agua cruda y tratada en cada filtro del agua de abastecimiento de la planta Los Llanos. ....	55
Tabla 6. Prueba de Múltiples Rangos para parámetros físicos del agua de abastecimiento de la planta Los Llanos. ....	56
Tabla 7. Estadísticas descriptivas para Coliformes totales y <i>E. coli</i> . Planta los Llanos. ....	58
Tabla 8. Detección de <i>H. pylori</i> en la planta de tratamiento los Llanos, relacionadas al mantenimiento. Periodo octubre 2019 a marzo 2020. ....	62
Tabla 9. Análisis bivariado por IBM SPSS Statistics entre parámetros microbiológicos y <i>H. pylori</i> .....	67
Tabla 10. Análisis bivariado por IBM SPSS statistics entre parámetros físicos y <i>H. pylori</i> .....	67

## LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Reacción en cadena de la polimerasa (pcr). .....	26
Figura 2. Esquema Isométrico de un filtro grueso dinámico FGD <sub>i</sub> . .....	29
Figura 3. Esquema isométrico de un filtro grueso de flujo ascendente en capas FGAC. ....	30
Figura 4. Componentes básicos de un FLA con control a la entrada. ....	31
Figura 5. Ubicación geográfica de la planta de tratamiento Acueducto Las Guacas sector los Llanos. ....	36
Figura 6. Esquema de la Planta de Tratamiento de Agua Potable. Sector los Llanos .....	37
Figura 7. Sistema de toma de muestras mediante macro gotero puntos 1 y 2.....	42
Figura 8. Unidades de FGD <sub>i</sub> operando sin nivel superficial de agua. ....	52
Figura 9. Filtro en grava con y sin presencia de lodo en la superficie. ....	53
Figura 10. Diagrama de cajas y bigotes para turbiedad y color por punto de muestreo. ....	57
Figura 11. Coliformes totales y <i>E. coli</i> en agua cruda y filtrada.....	59
Figura 12. Detección de <i>H. pylori</i> en muestras de agua cruda y tratada, semanas 12 y 13 por Electroforesis en gel de agarosa. ....	62

## LISTADO DE ANEXOS

ANEXO A. FORMATOS PARA LA TOMA Y CUSTODIA DE LAS MUESTRAS DE AGUA DEL ACUEDUCTO LAS GUACAS.....	78
ANEXO B. Protocolo de concentración de células por centrifugación a partir de muestras de agua.....	81
ANEXO C. Protocolo de extracción de ADN de muestras de agua.....	83
ANEXO D. Protocolo de cuantificación de ADN por espectrofotometría usando NANODROP.....	86
ANEXO E. Protocolo multiplex para la determinación de la presencia de <i>Helicobacter pylori</i> .....	88
ANEXO F. Protocolo de electroforesis para tipificación de <i>H. pylori</i> .....	90
ANEXO G. Resultados de mediciones fisicoquímicas planta de tratamiento las guacas. Sector los llanos.....	92
ANEXO H. Análisis estadístico parámetros físicos y microbiológicos. Anova simple y prueba de múltiples rangos.....	99
ANEXO I. Resultados de determinación de <i>H. pylori</i> en el agua de la planta de tratamiento las Guacas, sector los llanos. Resumen.....	103
ANEXO J. Correlación de Spearman entre parámetros físicos, microbiológicos vs <i>H. pylori</i> .....	106

## INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) un bacilo gram negativo, curvo, móvil, micro aerofílico, coloniza y permanece en la mucosa gástrica humana. Es uno de los agentes infecciosos más comunes catalogado como patógeno carcinógeno emergente, responsable de la infección de más del 60% de la población mundial (Aziz et al., 2015). Su presencia en la mucosa gástrica induce una respuesta inflamatoria que ocasiona el desarrollo de gastritis crónica (Vinagre et al., 2015). De acuerdo con estudios epidemiológicos la gastritis crónica causada por infecciones con *H. pylori*, sin tratamiento médico, puede determinar la aparición de cáncer gástrico por el daño causado a la mucosa del estómago, por ello la Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer-OMS reconoce al *H. pylori* como carcinógeno tipo I, del mismo modo la infección crónica de la bacteria está asociada al desarrollo de ulcera gástrica y duodenal, carcinoma gástrico y Maltoma (Henao Riveros, et al., 2009; Graham, D. Y. y Shiotani, 2008; Ramos y Sánchez, 2009).

En el estómago de los humanos se encuentra un reservorio de *H. pylori* y entre las principales vías de transmisión se consideran las vías oral-oral, gastro-oral y fecal-oral, sin embargo, un gran número de estudios muestran su énfasis en la ruta de infección oral por el consumo de aguas contaminadas con la bacteria (Aziz et al., 2015, Bartram J, 2010; Goh y Yamaoka, 2011). Por otra parte otros estudios muestran que la formación de biopelículas en los sistemas de distribución de agua les provee protección y pueden actuar como ambientes de acumulación pasiva de especies permitiendo conservar la prevalencia de la bacteria (Cuervo y Gaviria, 2017; Servetas et al., 2016; Giao et al, 2008).

La incidencia de la infección por *H. pylori*, está relacionada con las condiciones socioeconómicas e higiénico sanitarias. En este sentido los países menos desarrollados, donde las condiciones de saneamiento básico y de suministro de agua potable son precarias, tienen mayor afectación por esta bacteria, siendo los niños los que presentan las mayores tasas de infección (Tacikowski et al., 2017; Syam et al., 2015; Ozaydin et al., 2013)

Evidentemente la transmisión del *H. pylori* a través del agua adquiere vital importancia, y la OMS dicta que para proteger las aguas de consumo pueden aplicarse las siguientes medidas de control: prevención de la contaminación por residuos humanos y desinfección adecuada” (OMS, 2005). Sin embargo un estudio realizado en España sobre la supervivencia y viabilidad de este patógeno después de la inoculación en agua clorada, demuestran que en su forma viable pero no cultivable, podría sobrevivir al proceso de desinfección que normalmente se utiliza en el tratamiento del agua potable y alcanzar los puntos finales de consumo y, al mismo tiempo no ser detectables por los métodos de cultivo (Moreno et al., 2007), otros estudios experimentales han recuperado el ADN del microorganismo en aguas de consumo en Inglaterra, Japón y países de medio oriente (Samra et al., 2011; Watson et al., 2004; Horiuchi et al., 2001), lo cual cuestiona la cloración como desinfección efectiva para la eliminación de este patógeno en agua potable.

En países como Colombia, el tratamiento completo del agua es limitada a las zonas urbanas y en las zonas rurales se hacen tratamientos menos convencionales como la filtración en gravas y la filtración lenta en arena en lo que se conoce como filtración en múltiples etapas (FiME) y en algunos casos se realiza la desinfección directa con cloro según la calidad del agua y la infraestructura con la que se cuente. El usar solo filtración en gravas y/o desinfección con cloro podrían presentar limitaciones en la remoción microbiológica incluyendo la remoción de *H. pylori*, ya que la forma de coco a la cual pasa la bacteria es difícil de eliminar por los sistemas tradicionales de desinfección con este agente (Giao et al., 2008; Flores-Encarnación et al., 2015;

Fernandes et al., 2017). En el caso de la filtración lenta en arena, dado que su proceso de tratamiento es tipo biológico, la remoción del *H. pylori* podría ser más efectiva, sin embargo, no hay estudios que lo comprueben.

En este estudio se pretende evaluar la filtración en grava, comúnmente usada en acueductos pequeños en el control de la contaminación generada por el arrastre de sólidos, en la remoción del *H. pylori*. Para ello se realizó el estudio en el acueducto veredal Las Guacas, sector “Los Llanos”, ubicado en la zona nororiental del municipio de Popayán, el cual cuenta solo con un sistema de tratamiento de filtración en gravas.



## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una revisión sistemática mundial revela que el 60% de la población se encuentra infectada con *H. pylori*, regiones con países en vía de desarrollo con mayor prevalencia en la infección son África (79,1%), América Latina y el Caribe (63,4%) y Asia (54,7%), contrastando con prevalencias más bajas en los países desarrollados en América del Norte (37,1%) y Oceanía (24,4%), (Hooi et al., 2017). En nuestro país en los niños es cercana al 75% y en la población mayor de 20 años alcanza 86% (Moncayo et al., 2006). La incidencia de éste patógeno se ve reflejada en cifras del cáncer gástrico en Colombia, dónde representó el 13,7% de todas las muertes por cáncer en el país y es la primera causa de muerte por cáncer en hombres y para mujeres es la tercera causa (después de cáncer de mama y cuello uterino), el mayor riesgo de mortalidad se presentó en los departamentos Quindío, Huila y Cauca para hombres y Cauca, Norte de Santander y Huila para mujeres (Pardo et. al, 2017; Adrada et al., 2008)

Las altas incidencias de infección por la bacteria en humanos permitieron concluir que las rutas de infección consideradas tradicionalmente (oral-oral, gastro-oral, fecal-oral) no fueron las únicas y que la ruta de infección por el consumo de agua contaminada tuviese una mayor incidencia que en las otras vías. (Aziz et al., 2015, Bartram J, 2010; Goh et al., 2011). La presencia de *H. pylori* es reportada en fuentes superficiales usadas en sistemas de abastecimiento de agua en Venezuela (Fernández et al. 2008), en aguas subterráneas en Montana, USA (Richards et al., 2011), y más preocupante en aguas de tanques de almacenamiento y en sistemas de distribución de aguas para consumo, como lo han reportado estudios en Perú en

el año 1996 (Hulten et al., 1996), Portugal (Giao et al., 2008), Estados Unidos (Baker & Hegarty, 2001), México (Premoli et al., 2004), Costa Rica (Campos et al., 2011), en Irán y Pakistán confirmando la presencia de *H. pylori* viable en el agua potable como una fuente importante de transmisión, que apunta a una vía de diseminación fecal-oral (Samra et al., 2011; Al-Sulami AA, 2010).

Adicionalmente se reporta en la literatura que la bacteria ha sido encontrada en redes de distribución donde se ha formado biopelícula, la cual se caracteriza por desarrollar comunidades complejas de microorganismos, que incrementa el riesgo de re contaminación microbiológica, por el desprendimiento de la biopelícula (Cuervo y Gaviria 2017; Santiago, 2016; Chowdhury, 2013; Watson et al., 2004).

Considerando que se ha encontrado *H. pylori* en las fuentes de agua usadas en los sistemas de abastecimiento público (Acosta et al., 2018; Ordoñez, 2015) y que en Colombia los procesos de tratamiento utilizados para su potabilización presentan grandes limitaciones de funcionamiento en el pequeño municipio y particularmente en zona rural, donde no se cuenta con la infraestructura para el tratamiento del agua o se implementa parcialmente, generando impactos negativos sobre la calidad del agua, como lo muestra el IRCA Nacional reportado para el año 2018, que a pesar de clasificar el riesgo como bajo tanto para el área urbana (7.35%) como la rural (10,68%), estas cifras no incluyen los auto abastecedores, en los cuales se encuentran la gran mayoría de acueductos rurales no legalizados, donde el IRCA es 51,7% clasificado como nivel de riesgo alto (INS, 2020), estas cifras muestran la gran brecha que existe en términos de la calidad del agua para consumo humano suministrada entre las zonas urbanas y rurales.

Por otra parte, la Resolución 844 de 2018 del Ministerio de Vivienda Ciudad y Territorio (MVCT) por la que se establecen los requisitos técnicos para los proyectos

de agua y saneamiento básico de zonas rurales que se adelanten bajo los esquemas diferenciales, incorporó en el artículo cuarto en sus principios orientadores: La Progresividad, en el cual se indica que en los proyectos de agua para consumo humano y doméstico y saneamiento básico se deben prever acciones para el mejoramiento gradual del servicio. Esta reglamentación motiva a la construcción de sistemas de tratamiento por fases como lo planteado por Sánchez et al. 2007 en los sistemas de tratamiento por filtración en múltiples etapas FiME, tecnología ampliamente utilizada en la zona rural colombiana.

Por lo tanto, es necesario reflexionar sobre la problemática de la infección con *H. pylori* en Colombia y especialmente en el departamento del Cauca, donde un estudio realizado en los municipios de Sotará y Timbío, mostró que las microcuencas Salinas, Presidente, Cristalares y Silencio, utilizadas como fuentes de abastecimiento del acueducto rural El Saladito, presentan una contaminación para coliformes totales entre 2000 y 3000 UFC/100mL y para *E. Coli* entre 1000 y 2500 UFC/100mL y de un total de 288 muestras analizadas, 92 (32,9%) fueron positivas para *H. pylori* (Ordoñez, 2015); y por otra parte, muchos de los sistemas de tratamiento presentan limitaciones de funcionamiento debido a construcciones incompletas o se basan solo en la aplicación de cloro y en la mayoría de casos no existe ninguno, lo que permite inferir razonablemente que puede estar llegando *H. pylori* a los usuarios. Esto puede estar relacionado con la incidencia de cáncer gástrico en la región tal como lo muestra el “Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia”, donde el Cauca es uno de los departamentos con mayor riesgo de mortalidad para cáncer de estómago (Pardo et al., 2017). Un estudio realizado por Adrada et al., (2008), con 225 pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer gástrico mostró que 32.9% de ellos estaban en cabeceras de áreas rurales y el 17.8% en zonas rurales dispersas, representando un poco más de la mitad de la población en estudio, evidenciando la afectación que presenta la zona rural, y que podría estar asociada a la presencia a las bajas condiciones de calidad del agua de consumo humano y de saneamiento y presencia de *H. pylori*.

## 2. JUSTIFICACIÓN

En el contexto Nacional en la zona rural se han implementado técnicas de tratamiento de agua no convencionales como la filtración en múltiples etapas FiME, que dependiendo del grado de contaminación de las fuentes de agua puede estar conformada por dos o tres etapas de filtración: Filtros Gruesos Dinámicos (FGDi), Filtros Gruesos Ascendentes (FGA) y Filtros Lentos de Arena (FLA) (Galvis, 1999). Los dos primeros procesos constituyen la etapa de pretratamiento, que permite reducir la concentración de sólidos suspendidos y la contaminación microbiológica y al llegar al filtro lento de arena, se alcanza una remoción más efectiva de la contaminación microbiológica remanente (Visscher, et al., 1992).

Esta capacidad del FLA se debe a la formación de una capa biológica que tiene como su principal mecanismo procesos de depredación (Haig, 2014; Haig et al. 2011), para producir finalmente agua de baja turbiedad, y virtualmente libre de entero-bacterias, entero-virus y quistes de protozoarios, y se reconoce como una tecnología sencilla, confiable y eficiente (Sánchez et al., 2007).

La tecnología FiME está dirigida al servicio de la población rural que en la mayoría de los casos es de condición socio económica baja, lo cual limita la implementación de la tecnología completa y los proyectos se realizan en dos fases, en la primera se construye la etapa de pretratamiento (FGDi y FGA), mientras que en una segunda fase se construyen los FLA. Si bien la primera fase se encarga de la remoción de sólidos en suspensión y turbiedad, hay reportes en la literatura que indican remoción de coliformes totales y fecales hasta en un 1.5 log para la FG, lo que sugiere que pueden existir otros mecanismos diferentes a los físicos.

Galvis et al. (1999) muestran que al utilizar sistemas de pretratamiento en gravas compuesto por FGDi y filtros gruesos ascendentes en serie (FGAS) de tres etapas

con velocidad de filtración de 0.45 m/h, en aguas con alta turbiedad en el rango de 17 a 500 UNT, y coliformes fecales en promedio de 33000 UFC/100 ml, podrían ser obtenidas turbiedades medias de 8 UNT y coliformes fecales en promedio de 38 UFC/100 ml antes de ser procesadas por filtros lentos. De igual manera Galvis et al. (1999) mostraron plantas FiME a escala real, que operaron con mejores calidades de agua de las presentadas previamente y sistema de Pretratamiento compuesto por FGDI y FGAC, generaron turbiedades en el rango de 1.5 a 6 UNT y coliformes fecales en promedio entre 358 y 58 UFC/100 ml a la salida del sistema de pretratamiento. Si bien el sistema de pretratamiento genera una remoción microbiológica ésta no es suficiente para alcanzar niveles óptimos de potabilidad, por lo cual se requiere el proceso de desinfección para reducir este riesgo.

A pesar de que la tecnología FiME se considera altamente eficiente en la remoción de patógenos no se cuenta con estudios que indiquen la remoción de *H. pylori*, ni mucho menos su remoción en los sistemas de prefiltración en grava (FGDi y FGA). Considerando la importancia de la calidad del agua para la salud humana particularmente en la zona rural, se hace necesario estudiar alternativas tecnológicas como el sistema de pretratamiento por filtración en gravas (FG) presente en el acueducto “Las Guacas” que permitan conocer la capacidad de remoción de *H. pylori* del agua para consumo humano, puesto que el estudio de Ordoñez (2018) demuestra la presencia del patógeno en aguas de abastecimiento de acueductos rurales en el municipio de Popayán. El sistema de abastecimiento de agua de Las Guacas, cuenta con el tipo de tecnología que se buscaba evaluar y presenta la ventaja de su facilidad de acceso ya que se encuentra ubicado en la zona periférica de la ciudad de Popayán, lo cual garantiza el rápido transporte de las muestras a los respectivos laboratorios para su análisis.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la factibilidad de remoción de *Helicobacter Pylori* del agua de consumo humano por medio de sistemas de pretratamiento por filtración en gravas en el acueducto rural de las Guacas, Popayán.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Establecer la factibilidad de remoción del *H. pylori* en agua tratada por sistemas de pretratamiento con filtración en gravas.
- Identificar bacterias de *Escherichia coli* y Coliformes totales como indicadores de contaminación fecal para establecer su relación con la presencia de *H. pylori* en aguas.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 HELICOBACTER PYLORI

La bacteria *Helicobacter pylori* fue aislada por primera vez por Warren y Marshall en 1982, una bacteria patógena en forma de espiral que se encuentra en la capa mucosa que recubre el interior del estómago humano (Warren & Marshall, 1983) y en 1984 lo relacionaron con la gastritis antral crónica y las úlceras pépticas.

Linda Morris Brown en su documento Epidemiología y rutas de transmisión, describe las características microbiológicas de la bacteria y refiere a que debido al medio ácido del estómago (hostil para *H. pylori*) la bacteria secreta una enzima llamada ureasa, la cual convierte la urea química en amoníaco, que utiliza para neutralizar la acidez del medio, su forma espiral y sus dos a seis flagelos le dan la movilidad y le permiten penetrar la capa mucosa a pesar de las contracciones gástricas rítmicas del estómago (Brown, 2000). Su clasificación inicial fue como *Campylobacter pylori*, pero en 1989 se incluyó en un nuevo género, *Helicobacter*, finalmente adquiriendo el nombre *Helicobacter pylori*, publicación realizada en la Unión Internacional de Sociedades microbiológicas (Goodwin et al., 1989).

Después de muchos estudios en los últimos 30 años, se ha demostrado que cambios en la morfología celular y adaptaciones metabólicas son mecanismos que muchos organismos usan para garantizar su supervivencia en entornos adversos (Nava Nolasco et al., 2015). Como ya se mencionó *H. pylori*, tiene una forma espiral dentro del huésped humano, pero puede cambiar su morfología al convertirse en una forma de cocoide (en un estado viable pero no cultivable VNC) para disminuir

su metabolismo, como mecanismo de respuesta al estrés ambiental (Sörberg et al., 1996; Azevedo et al., 2007).

En la primera infancia se puede adquirir a través de mecanismos fecales-orales, orales-orales y gastro-orales. La infección por *H. pylori* causa gastritis, úlceras pépticas y duodenales, está relacionada con adenocarcinoma gástrico y linfoma de tipo linfoide asociado a la mucosa (MALT, por sus siglas en inglés), también se ha asociado con afecciones extra gástricas como insuficiencia de crecimiento, anemia por deficiencia de hierro y trombocitopenia púrpura idiopática crónica (PTI) (Henao Riveros et al., 2009; Graham, D. Y., & Shiotani, 2008, Ramirez y Sánchez, 2008), así mismo El-Omar y sus colaboradores al igual que otros estudios han demostrado que el resultado de las enfermedades asociadas a *H. pylori* y la diversidad de resultados clínicos se atribuye a factores ambientales (principalmente la dieta), factores del huésped (características de la capa de moco que cubre la mucosa gástrica, respuesta inmune, etc.) y factores de virulencia de *H. pylori* (Malfertheiner et al., 2007).

En el año 2013 existían 984.000 casos reportados de carcinoma gástrico en el mundo. Esta distribución es muy variable, en la Europa Oriental, Centroamérica y Latinoamérica tienen mayor prevalencia junto con Japón y China. En Colombia (Adrada et al., 2008), el cáncer de estómago es la primera causa de muerte por cáncer en hombres y para las mujeres es la tercera causa después de cáncer de mama y cuello uterino. Los departamentos con mayor riesgo de mortalidad para cáncer de estómago son Quindío, Huila y Cauca para hombres y Cauca, Norte de Santander y Huila para mujeres, mientras que los departamentos de la región Caribe mostraron los riesgos más bajos (Pardo et al., 2017).

#### **4.2 MÉTODO DE DETECCIÓN DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA**

Las fuentes de agua suelen estar contaminadas por residuos de origen doméstico, esta carga contaminante representada por altas concentraciones de materia



orgánica y microorganismos de origen fecal. Por ello se requiere de análisis dirigidos a determinar la presencia de microorganismos patógenos involucrados en la transmisión hídrica como bacterias, virus y protozoos, que pueden causar enfermedades que varían en su gravedad, como gastroenteritis, diarrea, disentería, hepatitis o fiebre tifoidea. El diagnóstico de estos microorganismos, requiere laboratorios y técnicas especializadas (Arcos et al., 2005).

Las bacterias entéricas que colonizan el tracto gastrointestinal del hombre, son eliminadas a través de la materia fecal, por lo tanto son contaminantes del agua, una vez en el agua las condiciones ambientales son muy diferentes y limitando su capacidad de reproducirse y sobrevivir, dificultando su detección a nivel de laboratorio, de modo que se requiere el uso de un grupo de bacterias como indicadores, de que su detección más rápida y sencilla (Olivieri V., 1982).

Estas bacterias son las coliformes totales (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Edwardsiella* y *Citrobacter*, pueden vivir como saprófitos independientes o como bacterias intestinales) y las coliformes fecales (*Escherichia*) como la *E. coli*, que son de origen intestinal (Larrea-murrell et al., 2013) y que son buenos indicadores de contaminación fecal. Estos indicadores se pueden determinar con medios de cultivo cromogénicos y fluorogénicos, que combinados con la técnica de filtración por membrana constituyen una buena alternativa para un análisis rápido y confiable.

Es importante resaltar que cada vez es más frecuente que las enfermedades de origen hídrico, estén relacionadas con la presencia de microorganismos emergentes y reemergentes, como la *H. pylori*, y estimar su presencia en el agua es de vital importancia debido a la prevalencia en los humanos.

En la década de 1980, las herramientas genómicas, revolucionaron la ecología microbiana, cuando se consiguió la recuperación de información genética directamente de individuos y comunidades microbianas completas utilizando el gen del ARN ribosomal 16S (Haig et al., 2011). Una de estas herramientas es la reacción

en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction), esta técnica de biología molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis, utilizando una enzima termoestable, la Taq Polimerasa permite obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de una pequeña fracción; por ello fue merecedor del premio Nobel de Química en 1993 (Kramer, n.d.). La PCR es una técnica biotecnológica muy útil para el diagnóstico de bacterias o virus de difícil cultivo, como es el caso de *H. pylori*.  
 Figura 1.

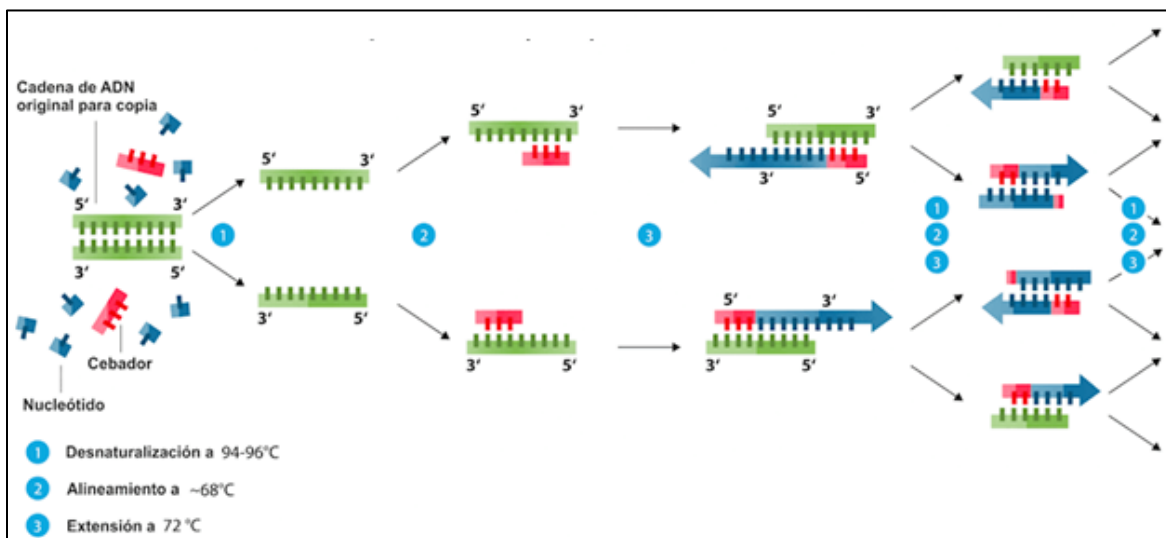


Figura 1. Reacción en cadena de la polimerasa (pcr).

Fuente: <https://es.routestofinance.com/how-polymerase-chain-reaction-works>.

### 4.3 SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA POR FILTRACIÓN EN GRAVA Y FILTRACIÓN LENTA EN ARENA.

Existen diferentes sistemas de tratamiento para la potabilización del agua entre ellas está la planta convencional que requiere de una gran infraestructura y la utilización de sustancias químicas para sus procesos de coagulación, sedimentación, filtración, cloración, generalmente se usan en zona urbanas con grandes poblaciones; las

plantas compactas, en ellas se llevan a cabo todos los procesos en un mismo módulo prefabricado siendo menos costosas que las convencionales, sin embargo su utilización está restringida a calidades de agua con baja variabilidad y bajos niveles de contaminación. Cuando se cuenta con agua con muy baja turbiedad y color el tratamiento podría ser realizado en plantas de filtración directa en donde el agua es coagulada y llevada directamente a los filtros y enseguida se clora. Existe otro tipo de plantas cuya aplicación se hace en pequeños municipios y zonas rurales llamadas plantas de filtración en múltiples etapas, denominadas así porque constan de diferentes etapas de filtración, estos sistemas no utilizan productos químicos como los coagulantes para su proceso de tratamiento, lo cual hace que su operación y mantenimiento más simple que en las otras alternativas de tratamiento y pueda ser manejada por operadores locales de baja escolaridad. Está compuesta por filtros en grava dinámicos, más filtros gruesos ascendentes y filtro lentos en arena.

La Filtración Lenta en Arena (FLA) es una tecnología de tratamiento de agua con más de 200 años de antigüedad (S. J. Haig et al., 2011), empleada con éxito en el norte de Europa y Norteamérica con el fin de tratar aguas superficiales poco contaminadas (Rachwal, A. J., Bauer, M. J., & West, 1988). En países de América Latina como Brasil y Colombia la calidad del agua es diferente y los FLA se taponaban fácilmente por los elevados niveles de turbiedad en los ríos, requiriéndose un frecuente mantenimiento y lo que ocasionó el abandono de muchos de estos sistemas (Bernardo et al., 1999).

El sistema de Filtración en Grava (FG) combinado con el sistema de Filtración Lenta en Arena (FLA), integran la Filtración en Múltiples Etapas (FiME), tal combinación surge por la necesidad de tratar agua con niveles de contaminación muy superiores a los que usualmente se trataban utilizando sólo la FLA, y cumplir el objetivo producir un efluente con turbiedad menor de 10 a 20 UNT, o con menos de 5 mg/l de sólidos suspendidos para facilitar el proceso de tratamiento en las unidades de FLA e incrementar el tiempo de operación de esas unidades de tratamiento, lo cual

permite mejorar el abastecimiento de agua en comunidades rurales, y en pequeños o medianos municipios (Galvis et al., 1999).

A continuación, se describen los componentes de una FiME, empezando por el sistema pretratamiento filtración en grava, (usado en el acueducto “Las Guacas” objeto del estudio), y la posterior etapa de filtración lenta.

La filtración en grava se compone de dos sistemas: un filtro grueso dinámico (FGDi) y un filtro en gravas de flujo ascendente (FGA).

Los FGDi (figura 2) consisten de dos o más unidades en paralelo constituidas con tres capas de grava de diferente tamaño, gruesa en la parte inferior y fina en la superficie, donde el agua va filtrándose a través del lecho de grava desde la superficie hasta el fondo, y en el sistema de drenaje fluye a la siguiente unidad de tratamiento. Se ha reportado una reducción del 23 al 77% en sólidos suspendidos, para agua cruda con sólidos suspendidos entre 7.7 – 928 mg/l y operando a velocidades de filtración entre 1 y 9 m/h de acuerdo con lo reportado el equipos de trabajo de Galvis y Fernández (Sánchez et al., 2007). El FGDi contribuye al mejoramiento de la calidad del agua, y protege a las unidades de tratamiento que la precede de cargas excesivas de sólidos suspendidos, este concepto de FGDi fue desarrollado por CINARA el Instituto de Investigación y Desarrollo en Agua Potable, Valle del Cauca.

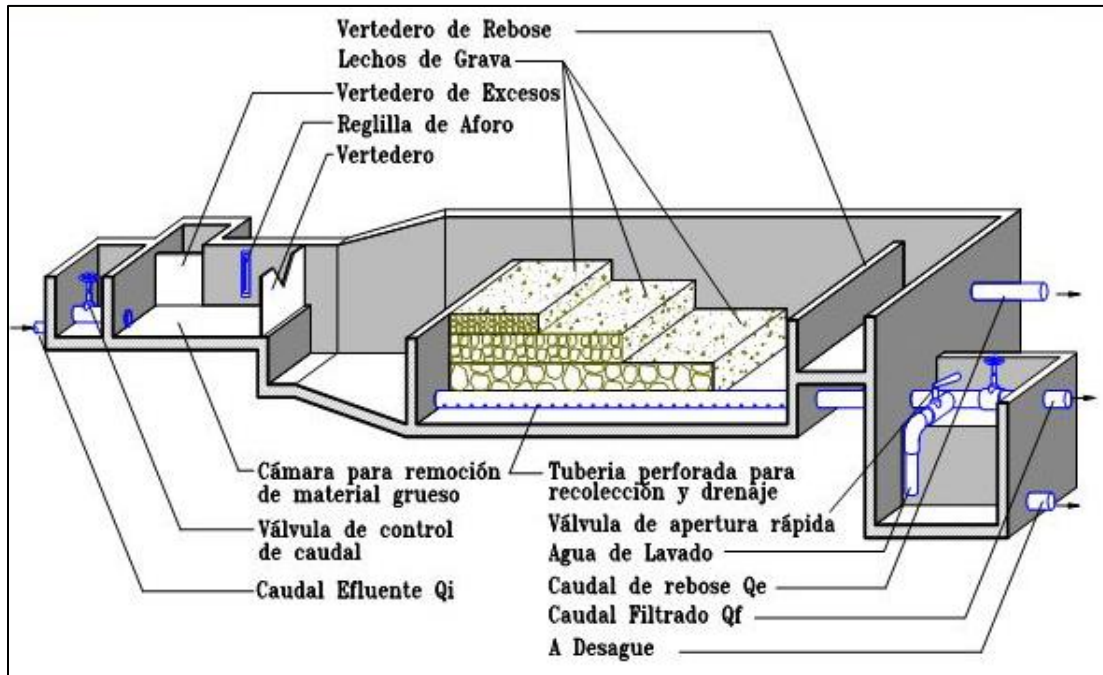


Figura 2. Esquema Isométrico de un filtro grueso dinámico FGD<sub>i</sub>. Adaptado de (Sánchez et al., 2007).

La siguiente unidad de tratamiento consiste de unos filtros en gravas de flujo ascendente, donde el agua pasa a través del lecho de grava de abajo hacia arriba. Las impurezas retenidas por el filtro son las partículas más pesadas que se remueven primero en el fondo del filtro. Para limpiar los filtros, se hace un drenaje por acción de la gravedad de forma sencilla (Sánchez et al., 2007). Existen dos tipos de filtros en gravas ascendentes. La filtración se puede hacer en capas (FGAC) figura 3, o con filtración en serie (FGAS), usado para aguas más contaminadas.

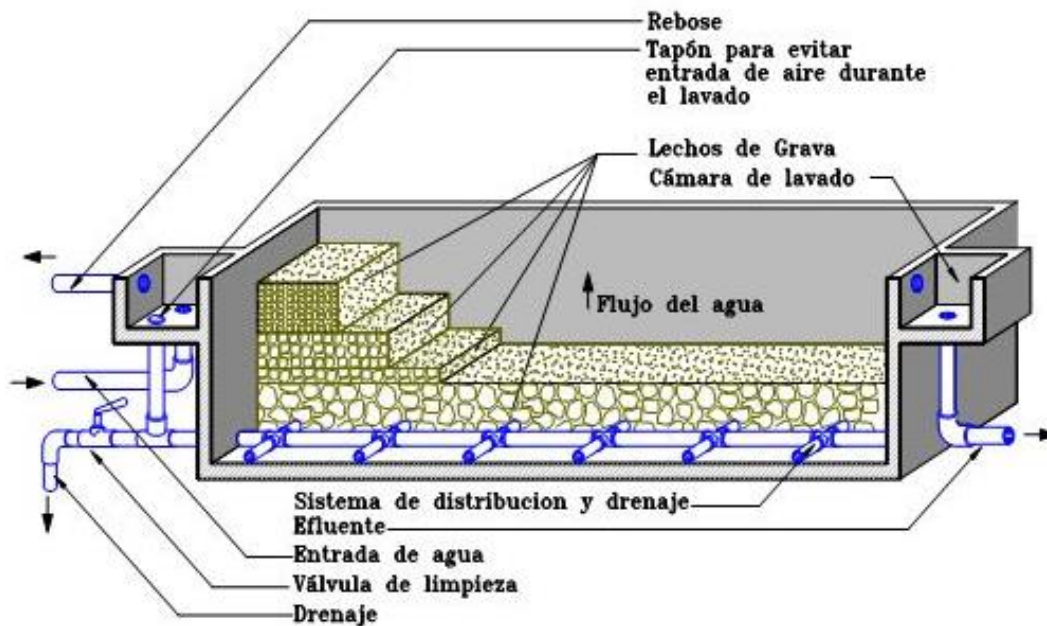
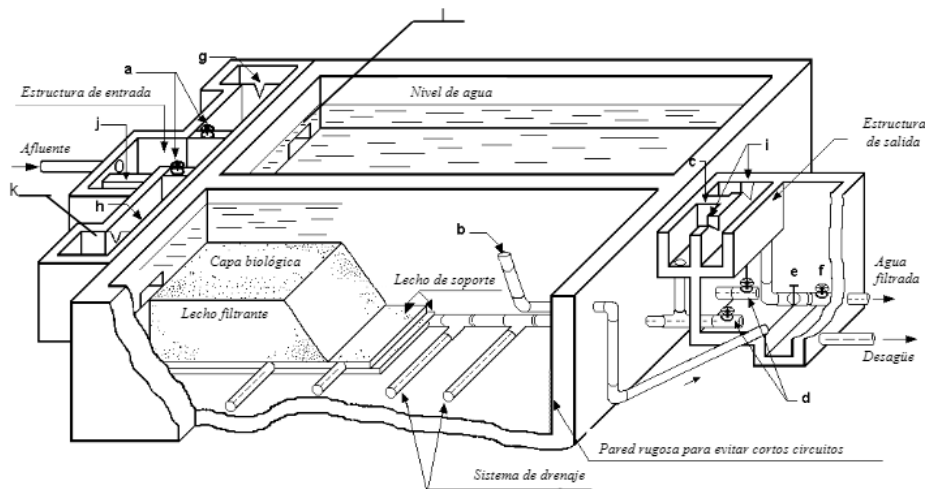


Figura 3. Esquema isométrico de un filtro grueso de flujo ascendente en capas FGAC.

Adaptado de (Sánchez et al., 2007)

La remoción de partículas suspendidas en el agua y presumiblemente los microorganismos asociados a estos sólidos, ocurren por mecanismos físicos de acuerdo con el libro “Algunas miradas teóricas y conceptuales de la filtración” de Amirtharajah, 1988 (Amirtharajah, 1988), y la publicación de Yao y sus colaboradores 1971, (Yao et al., 1995). Estos mecanismos son: tamizado, interceptación, transporte, mecanismos de adherencia y separación (Galvis, 1999). Entre ellos por tamizado o cernido las partículas muy grandes se remueven al pasar a través de los poros de los medios filtrantes, este mecanismo, ocurre en la superficie del lecho filtrante, donde la pérdida de carga está concentrada y es independiente de la tasa de filtración. El tamaño del poro varía entre 0.07 y 0.1 dc (diámetro del grano). Por otra parte, partículas con diámetros mayores a 20  $\mu\text{m}$  se remueven con el uso de arenas con tamaños de 0.20 mm. La superficie del filtro va logrando un proceso de maduración con el tiempo y el tamaño de los poros se reduce, mejorando la remoción de partículas más pequeñas (Sánchez, et al., 2007).

Una vez el agua pre tratada, puede continuar su proceso en la unidad de FLA conformada por una estructura (figura 4), que consiste en un tanque con un lecho de arena fina, colocado sobre una capa de grava que constituye el soporte de la arena que su vez, se encuentra sobre un sistema de tuberías perforadas que recolectan el agua filtrada. El flujo es descendente, con una velocidad de filtración muy baja que puede ser controlada preferiblemente al ingreso del tanque. (OPS et al., 2005).



- |   |   |
|---|---|
| a. Válvula para controlar entrada de agua pretratada y regular velocidad de filtración. | f. Válvula para suministrar agua tratada al depósito de agua limpia |
| b. Dispositivo para drenar capa de agua sobrenadante, "cuello de ganso".                | g. Vertedero de entrada   |
| c. Conexión para llenar lecho filtrante con agua limpia                                 | h. Indicador calibrado de flujo                                     |
| d. Válvula para drenar lecho filtrante  | i. Vertedero de salida.   |
| e. Válvula para desechar agua tratada   | j. Vertedero de excesos   |
|   | k. Cámara de entrada a FLA  |
|   | l. Ventana de acceso a FLA  |

Figura 4. Componentes básicos de un FLA con control a la entrada.

Adaptado de Galvis et al. (1999).

Su mecanismo de tratamiento del agua es una combinación de procesos biológicos y físico-químicos que interactúan de una forma compleja. El agua que entra sin tratar o pretratada pasa a través del medio filtrante por gravedad trayendo consigo materia orgánica e inorgánica, de modo que la superficie del filtro gradualmente se colmata por las impurezas permitiendo el desarrollo de una capa biológica llamada,

Schmutzdecke, por ello el lecho filtrante actúa como una unidad de limpieza de materia orgánica y organismos aeróbicos, como el zooplancton y el resto de la biomasa, los cuales respiran continuamente, generando consumo del oxígeno del agua, requiriendo por lo tanto un flujo continuo en el sistema (Sánchez, et al., 2007).

#### **4.4 RECOMENDACIONES SOBRE EL MANTENIMIENTO DE LOS SISTEMAS DE FILTRACIÓN EN GRAVAS**

En el siguiente apartado se presentan las recomendaciones de Fernández y Chaux, (2007), sobre la operación y mantenimiento de los sistemas de Filtración en Múltiples Etapas.

En la sostenibilidad de los proyectos de abastecimiento de agua es de especial importancia la operación y el mantenimiento (O&M). Una eficiente labor de O&M implica una mayor confiabilidad del sistema en aspectos tanto de calidad como de cantidad y continuidad del agua suministrada. La tecnología de filtración en múltiples etapas para su buen funcionamiento requiere de operadores capacitados y entrenados en las diferentes labores, la cuales pueden dividirse en actividades según la unidad de tratamiento y su frecuencia en: diarias, semanales, anuales y eventuales.

Para el filtro dinámico diariamente se requiere la revisión de los caudales de entrada y su ajuste a las condiciones de diseño y operación. También incluye la revisión y control del nivel de agua sobre el lecho filtrante, en caso de no presentar el nivel de agua se debe ajustar la válvula de salida, cerrándola hasta obtener el nivel de agua sobre el lecho. En caso se presentarse rebose se debe verificar que este deba a la obstrucción del lecho por la retención de sólidos en cuyo caso se debe proceder a la limpieza superficial y de fondo. Esta actividad de limpieza se recomienda con una frecuencia de al menos una a dos veces por semana durante el periodo climático



seco y cada vez que sea necesario en el periodo de lluvias o se presente colmatación de los filtros.

Como actividad eventual se recomienda la extracción, lavado y tamizaje del material filtrante cuando las actividades de lavado superficial y de fondo no restituyan la capacidad de hidráulica del sistema (cantidad de agua filtrada).

Los filtros gruesos ascendentes en capas requerirán de una revisión diaria de las estructuras de entrada y salida, control de los flujos de agua a tratar y revisión del estado superficial del lecho filtrante. Una o dos veces por semana se debe hacer la revisión de la pérdida de carga midiendo los niveles a la entrada y salida del filtro. En caso de que la pérdida de carga este en valores menores de 5cm se recomienda la realización del lavado del filtro con una frecuencia de una a dos veces por semana con lavados de fondo y una vez al mes con el lavado de la capa superficial del lecho. Sí la pérdida de carga presenta valores entre 5 y 10 cm, se debe aumentar la frecuencia de los lavados de fondo a tres veces por semana y los lavados superficiales a una vez por semana. Si la pérdida de carga es mayor a 10 cm, se debe realizar la extracción, lavado, tamizado y la reinstalación del medio filtrante (Fernandez y Chaux, 2007).

#### **4.5 EXPERIENCIAS EN LA REMOCIÓN DE PATÓGENOS**

En Colombia se han reportado datos respecto a la remoción microbiológica de la filtración en grava donde se menciona que la remoción para *E. coli* de 0,6 y 2,5 unidades de log, para aguas con contaminación bacteriológica entre 20000 y 100000 UFC/100mL y con sólidos suspendidos entre 20 y 100 mg/L (Galvis et al., 1999), y en un estudio más reciente dónde se realizó el análisis de la operación y mantenimiento de la filtración en gravas de flujo ascendentes a escala real, para

varias plantas de tratamiento en el Valle del Cauca se mostraron remociones entre 0,1 y 0,6 log para la bacteria *E. coli* (Posso, 2012).

Galvis et al. (1999) muestran que al utilizar sistemas de pretratamiento en gravas compuesto por FGDi y filtros gruesos ascendentes en serie (FGAS) de tres etapas con velocidad de filtración de 0.45 m/h, en aguas con alta turbiedad en el rango de 17 a 500 UNT, y coliformes fecales en promedio de 33000 UFC/100 ml, podrían ser obtenidas turbiedades medias de 8 UNT y coliformes fecales en promedio de 38 UFC/100 ml antes de ser procesadas por filtros lentos. De igual manera Galvis et al. (1999) mostraron plantas FiME a escala real, que operaron con mejores calidades de agua de las presentadas previamente y sistema de Pretratamiento compuesto por FGDI y FGAC, generaron turbiedades en el rango de 1.5 a 6 UNT y coliformes fecales entre 358 y 58 UFC/100 ml a la salida del sistema de pretratamiento. Si bien el sistema de pretratamiento genera una remoción microbiológica ésta no es suficiente para alcanzar niveles óptimos de potabilidad, por lo cual se requiere el proceso de desinfección para reducir este riesgo.

Nkwonta & Ochieng (2009), realizan una revisión de experiencia en Irán, con la utilización de filtros en grava, principalmente con el uso de Filtros gruesos horizontales (FGH), reportando calidades de agua a la salida de los FGH de 1.29 UNT y coliformes Fecales de 6.7 NMP/100ml. Fernández et al. (2006), reportó el uso de sistemas de pretratamiento compuesto por FGDi y FGAC en agua crudas con altos contenidos de materia orgánica, medidos como DBO y DQO, 3.1 y 9.0 mg/L en promedio respectivamente, reduciendo estos valores de 1.6 a 4.6 mg/L a la salida del sistema de pretratamiento.

La tecnología FiME está dirigida al servicio de la población rural que en la mayoría de los casos es de condición socio económica baja, lo cual limita la implementación de la tecnología completa y los proyectos se realizan en dos fases, en la primera se construye la etapa de pretratamiento (FGDi y FGA), mientras que en una segunda

fase se construyen los FLA. Si bien la primera fase se encarga de la remoción de sólidos en suspensión y turbiedad, hay reportes en la literatura que indican remoción de coliformes totales y fecales hasta en un 1.5 log para la FG, lo que sugiere que pueden existir otros mecanismos diferentes a los físicos. La FLA como complemento del tratamiento permite alcanzar una remoción final de hasta 5.6 log en coliformes (Galvis et al., 1998; Galvis et al., 1992; Galvis, 1999). A pesar de que la tecnología FiME se considera altamente eficiente en la remoción de patógenos no se cuenta con estudios que indiquen la remoción de *H. pylori*, ni mucho menos su remoción en los sistemas de prefiltración en grava (FGDi y FGA).

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 TIPO DE ESTUDIO

El estudio desarrollado fue de tipo experimental cuantitativo y se realizó a escala real en una planta de tratamiento de agua para consumo humano.

### 5.2 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La planta de tratamiento pertenece al acueducto veredal Las Guacas, sector “Los Llanos”, identificada con el mismo nombre, ubicada en la zona nororiental del municipio de Popayán a 1995 m.s.n.m. con coordenadas  $2^{\circ}27'23.63''N$  y  $76^{\circ}31'40.61''O$ . (Figura 5).

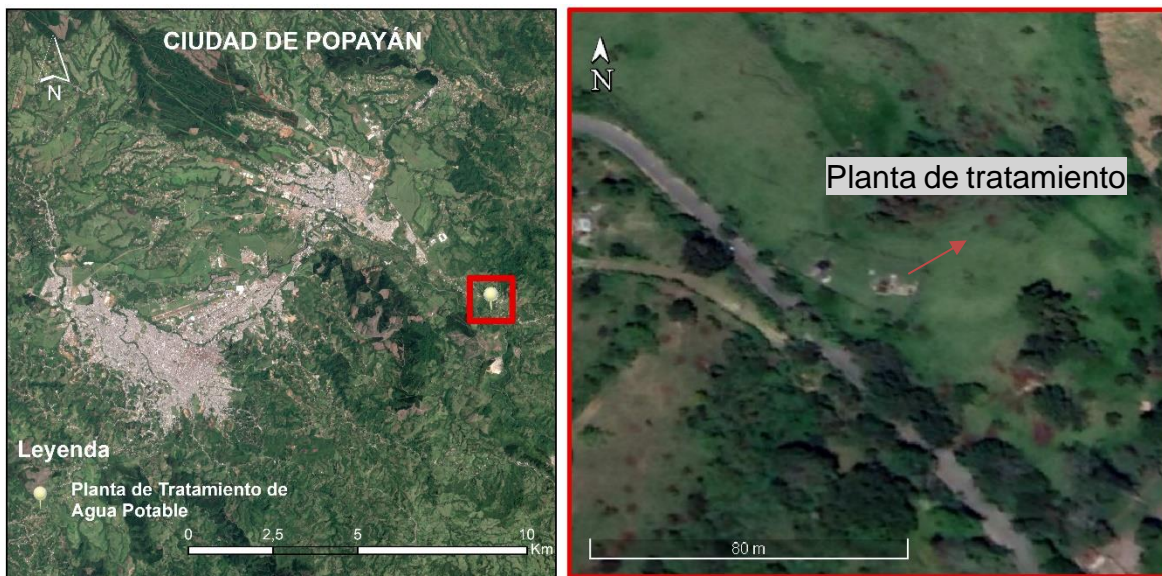


Figura 5. Ubicación geográfica de la planta de tratamiento Acueducto Las Guacas sector los Llanos.

Tomado de <https://www.google.com/maps/search/los+llanos/@2.4661706,-76.5558234,5721m/data=!3m1!1e3!5m1!1e4>

El suministro de agua cruda a la planta de tratamiento lo hacen las quebradas Velasquillo y San Isidro. La planta está conformada por un sistema de tratamiento por filtración en gravas dinámico FGDi, seguido por un filtro en gravas de flujo ascendente FGA, figura 6. El sistema de tratamiento de agua no cuenta con una etapa de filtración lenta en arena, ni con cloración como sistema de desinfección. No cuenta con una estructura de control y medición de flujo a la entrada, ni un macromedidor a la entrada y/o salida de la planta.

La planta fue diseñada para tratar un caudal máximo de 2 L/s, con lo cual se consideraron velocidades de filtración de 2.0 m/h para el filtro dinámico y de 0.65 m/h para el filtro grueso ascendente, con unas áreas de filtración de 3.74 y 11.34 m<sup>2</sup>, para el FGDi y FGAC respectivamente.

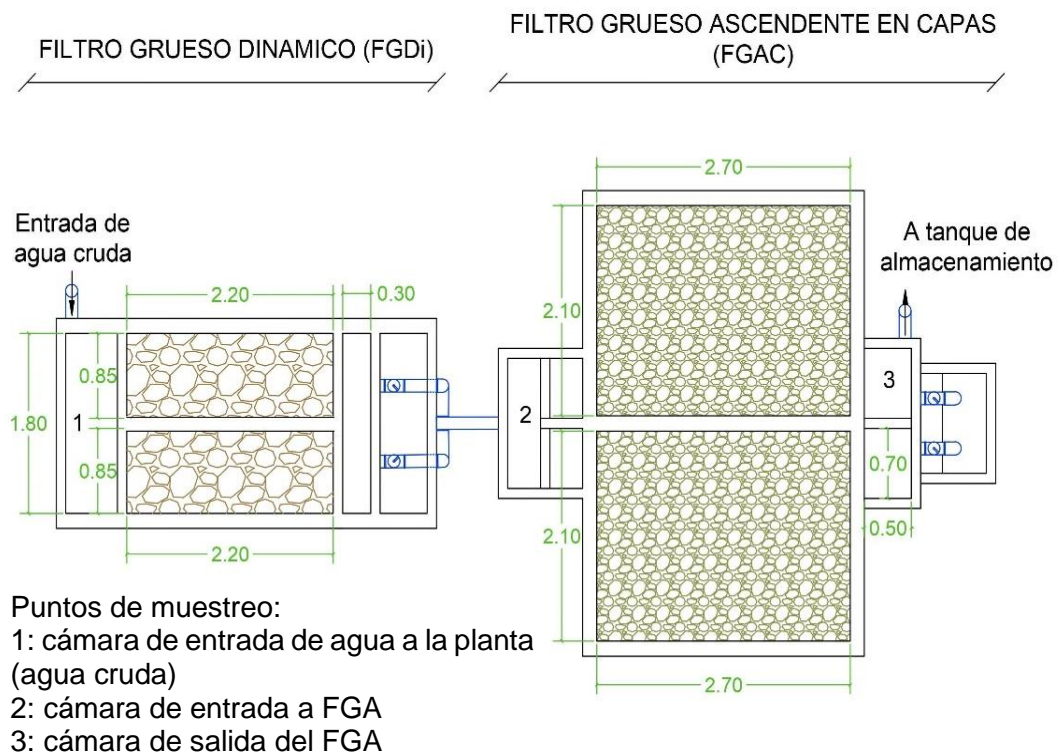


Figura 6. Esquema de la Planta de Tratamiento de Agua Potable. Sector los Llanos

Las actividades de mantenimiento y su frecuencia que fueron recomendadas por el constructor de la planta, incluyeron el lavado de fondo de los FGAC con una frecuencia de al menos una vez por semana. Lavados superficiales de los FGD<sub>i</sub> con una frecuencia de una vez por semana o cada vez que se colmaten por la ocurrencia de picos de turbiedad. Las condiciones de operación y mantenimiento estuvieron siempre bajo el control de la comunidad, sin embargo, no hubo un estricto desarrollo de estas actividades recomendadas en el diseño por ausencia del personal encargado, que permitieran una óptima operación de la planta durante el periodo de estudio.

### **5.3 METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DE OBJETIVO 1**

#### **5.3.1 Puntos de muestreo.**

Para realizar el estudio se establecieron los puntos para tomar las muestras, incluyendo agua cruda y tratada por el sistema de la siguiente manera, el punto 1 corresponde al agua cruda tomada en la cámara de entrada a la planta, el punto 2 al agua filtrada por los filtros dinámicos y se tomó en la cámara de entrada al FGAC y el punto 3 se tomó agua tratada por los GFGAC a la salida de estos, los cuales se presentan en la figura 6.

#### **5.3.2 Parámetros, frecuencia y estimación del número de datos.**

Con el fin de establecer la remoción del *H. pylori* y hacer un seguimiento a la calidad del agua en los puntos de muestreo indicados anteriormente, también, se midieron parámetros físicos, microbiológicos e hidráulicos del sistema de tratamiento, que permitieron explicar su comportamiento respecto a la remoción de estos indicadores de la calidad del agua. La frecuencia del muestreo se realizó entre 1 y 2 dos veces por semana como se presenta en la tabla 1, según el parámetro medido en cada punto.

Tabla 1. Parámetros de muestreo y su frecuencia.

Parámetro	Punto de muestreo			Frecuencia semanal
	1	2	3	
Turbiedad	X	X	X	2
Color	X	X	X	2
pH	X	X	X	1
Temperatura	X	X	X	2
Conductividad	X	X	X	2
Oxígeno disuelto	X	X	X	2
Coliformes totales	X	X	X	1
<i>E. coli</i>	X	X	X	1
<i>H. pylori</i>	X	X	X	1
Pérdida de carga		X		
Caudal	X			2

Para estimar el tamaño de muestra se revisaron estudios anteriores y dado que no se cuenta con información específica de *H. pylori*, se utilizó la información de (Leyton Luna & Capote Muñoz, 2018), quienes encontraron una varianza en los datos de la muestra de 671 para el indicador microbiológico *E. coli*, estableciendo entonces que la diferencia máxima que podemos aceptar en este caso es de 310 UFC/100mL con un nivel de confianza del  $\alpha=0.05$  y  $t(\alpha/2, n-1)= 2.09$ . se determinó un número de muestra igual a 20 aplicando la expresión

$$n = \frac{t^2 * S^2}{E^2} \text{ Donde: } t \text{ es la distribución T-student para una confianza } \alpha/2 \text{ y } n-1 \text{ grados de libertad y } S \text{ es la varianza muestral.}$$

### 5.3.3 Materiales y métodos por parámetro.

Las mediciones se realizaron en el sitio, para los parámetros fisicoquímicos por métodos instrumentales y los parámetros hidráulicos por métodos clásicos y los ensayos microbiológicos (coliformes totales y *E. coli*) se realizaron por el método de filtración por membrana en el Laboratorio de Análisis Ambiental del Sena y la medición de *H. pylori*, (métodos moleculares PCR) en laboratorio de Genética Humana Aplicada de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca.

#### 5.4 PARÁMETROS FÍSICOS E HIDRÁULICOS.

La medición de parámetros como turbiedad, color, pH, y temperatura se realizaron in situ, así como las mediciones de caudal de salida de la planta y de la pérdida de carga de los filtros ascendentes. Utilizando los equipos y protocolos resumidos en la tabla 2, y los formatos de registro según el Anexo A (Formatos de recolección de muestras de agua y cadena custodia).

Tabla 2. Protocolo de medición de los parámetros fisicoquímicos e hidráulicos.

Parámetro	Unidad de medida	Equipo	Método
Turbiedad	Unidades nefelométricas de turbiedad (UNT).	Turbidímetro HACH 2100N (HACH, USA)	Nefelométrico (SM 2130B)
Color	Unidades de platino-cobalto (UPC).	Espectrofotómetro HACH DR 3900 (HACH, USA)	Espectrofotométrico (SM 2120C)
pH	Adimensional	Sonda multiparamétrica HQ40D (HACH, USA)	Potenciométrico (SM 4500H+B),
Temperatura (T)	°C	Termómetro y Sonda Multiparamétrica (HACH, USA)	
Oxígeno Disuelto (OD)	mg/L	Sonda multiparamétrica (HACH, USA)	Método electrométrico.
Conductividad Eléctrica (CE)	µS/cm	Sonda multiparamétrica (HACH, USA)	Método electrónico.
Caudal	L/s	Material volumétrico y cronometro.	Método volumétrico (Ministerio de Ambiente, 2007)
Pérdida de carga	cm	Cinta métrica. Escuadra	Diferencia de altura del nivel del agua

Para el seguimiento del desarrollo de pérdida de carga de las unidades de FGAC, se midió el nivel de agua en las cámaras de entrada de dichos sistemas (ver figura 6, punto 2) y el nivel de agua dentro de las unidades de filtración ascendente, la



diferencia de estos dos niveles se consideró la pérdida de carga. El seguimiento se realizó con una frecuencia de dos veces por semana.

El caudal se midió a la salida de los FGAC, para ello se midió la geometría de la cámara y se determinó el tiempo de llenado a una altura determinada. Con el volumen y el tiempo se obtuvo el caudal.

## 5.5 PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS.

Las muestras para análisis microbiológico y la determinación de *H. pylori* se colectaron mediante un sistema de macro gotero, con un caudal de goteo ajustado a 16 ml/min. aproximadamente, para obtener 500 ml en un periodo de 30 minutos, como se muestra en la figura 7. Para su recolección se tuvieron en cuenta las recomendaciones del Manual de instrucciones para la toma, preservación y transporte de muestras de agua para consumo humano, del Instituto Nacional de Salud (INS., 2011), usando frascos de vidrio color ámbar de 500mL, previamente esterilizados en autoclave marca Sterilizer, SA232 a 121°C durante 15 minutos, posteriormente se realizó la respectiva rotulación, embalaje y transporte a 4°C hasta el laboratorio Análisis Ambientales del Sena - Cauca y el Laboratorio de Genética Humana Aplicada de la Universidad del Cauca, donde se les realizaron los análisis pertinentes. (Anexo A. Formatos toma de muestras de agua y custodia de las muestras).



Figura 7. Sistema de toma de muestras mediante macro gotero puntos 1 y 2.

La determinación de coliformes totales y *E. coli*, se realizó mediante el método de filtración por membrana, siguiendo el protocolo del IDEAM (Navarro, 2007). Se filtraron volúmenes de 100 mL en equipo de filtración al vacío, con membranas de celulosa estériles de 0,45 µm de poro y 47 mm de diámetro (S/PAD, MS, Membrana MCE cuadrículada, Estéril, Blanca). El protocolo se realizó en una cabina de flujo laminar vertical (CFLV Airco). Se utilizó como medio de cultivo Agar Chromocult® Coliform.

## **5.6 DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *H. PYLORI*.**

### **5.6.1 Puesta a punto de la PCR para la detección de *H. pylori* en muestras de agua.**

Para la puesta a punto de la PCR, se validaron y actualizaron los protocolos existentes en el Laboratorio de Genética Humana Aplicada, como lo son: concentración de células, extracción y cuantificación de ADN a partir de muestras de agua, PCR Multiplex y electroforesis.

La validación de estos protocolos, se llevó a cabo utilizando de manera controlada la bacteria *H. pylori* de la cepa NCTC 11638 y 11637, facilitadas por la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá. Adicionalmente, se probaron distintas diluciones en base 10 de estas cepas, para la determinación del límite de detección de la PCR punto final.

### **5.6.2 Concentración de las muestras de agua por centrifugación.**

Las muestras de agua obtenidas de los tres puntos de muestreo de la planta de tratamiento, se concentraron siguiendo el “Protocolo de concentración de células por centrifugación a partir de muestras de agua” (Anexo B). Para realizar la concentración de *H. pylori*, se tomaron 200mL de muestra de cada punto de planta de tratamiento de agua repartidos en 4 tubos de 50 mL Falcon, los cuales se

centrifugaron a 4000 revoluciones por minuto (rpm) durante 30 minutos a 8°C, en una centrifuga Heraeus Megafuge 1.0R. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante mediante una pipeta pasteur con punta en U, usando un sistema de vacío, hasta obtener un volumen final de aproximadamente 5mL.

Este volumen previamente re suspendido se transfirió a tubos de micro centrifuga de 1.5mL, los cuales se centrifugaron sucesivamente a 12000 rpm por 5 minutos, eliminando el sobrenadante hasta obtener dos replicas con un volumen final de 200uL, usando una centrífuga Eppendorf 5415C.

Para realizar el control del método, se realizó el mismo procedimiento de concentración de una muestra de 50mL, constituida por agua del punto 3 de la planta de tratamiento y 10uL de cepa *H. pylori* 11638, a una dilución de  $1 \times 10^{-1}$ . A este control positivo una vez concentrado, junto con las muestras se les realizó todo el procedimiento de extracción, cuantificación, amplificación y visualización del ADN, para garantizar así la confiabilidad del análisis a lo largo del estudio.

### **5.6.3 Extracción y Cuantificación de ADN a partir de muestras de agua.**

Para extraer el ADN genómico bacteriano las muestras concentradas fueron procesados mediante cuatro pasos “lisar-enlazar-lavar-eluir” usando el E.Z.N.A.® DNA tissue kit (Omega Bio-Tek, Doraville, USA), siguiendo las recomendaciones del fabricante y el protocolo de Extracción de ADN del Laboratorio de Genética Humana (Anexo C. Protocolo de extracción de ADN a partir de muestras de agua).

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™. (Anexo D. Cuantificación de ADN Nanodrop).

#### 5.6.4 Evaluación de primers.

Para la detección de *H. pylori* presente en las muestras de agua se utilizaron los genes: VacA (gen que codifica la proteína vacuolizante VacA, formas alélicas s1, s2, m1 y m2) y CagA (gen que codifica la citotoxina CagA) (tabla 3), primers previamente utilizados para la detección de *H. pylori* en el Laboratorio de Genética Humana Aplicada (Acosta et al. 2014)

La especificidad de las secuencias de nucleótidos se verificó en una búsqueda BLAST utilizando la configuración predeterminada:

<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

Tabla 3. Secuencia de Primers utilizados en la PCR.

Región de ADN amplificado	Primer	Secuencia (5´-3´)	Tamaño producto de PCR (bp)	Referencia
<b>VacA s1/ s2</b>	VAI-F	ATG GAA ATA CAA bpd ACA CAC	(259/286)	(Atherton et al., 1995; Yamaoka et al 1999; Erzin et al, 2006)
	VAI-R	CTG CTT GAA TGC GCC AAA C		
<b>VacA m1/m2</b>	VAG-F	CAA TCT GTC CAA TCA AGC GAG	(567/642)	(Yamaoka et al 1999; Erzin et al, 2006)
	VAG-R	GCG TCA AAA TAA TTC CAA GG		
<b>CagA</b>	CAGA-F	GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G	349	(Yamaoka et al 1999; Erzin et al, 2006)
	CAGA-R	CTG CAA AAG ATT GTT TGG CAG A		

#### 5.6.5 Amplificación de ADN extraído.

El ADN obtenido de las muestras se amplificó por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), según metodología descrita, estandarizada y adaptada previamente en el Laboratorio de Genética Humana, Universidad del

Cauca (Acosta et al., 2014) para determinar la presencia de *H. pylori* teniendo en cuenta los primers citados en la tabla 3.

La mezcla para amplificación contenía 0.36µL de cada primer, 5µL de Qiagen Multiplex PCR® preparado acorde a las recomendaciones del fabricante, 0.84µL de agua grado molecular libre de RNAsas y 7µL de ADN genómico, para un volumen total de la PCR de 15µL. La especificidad de la PCR fue verificada usando ADN de tres cepas de *H. pylori* (TX30a, 11638 y 11637) y adicionalmente el control positivo de concentración detallado en el numeral 5.7.2. Los tubos de PCR fueron brevemente centrifugados a baja velocidad para llevar toda la muestra a la parte baja del tubo. Posteriormente las muestras fueron llevadas al termociclador (MyCycler Thermal Cycler™, BIORAD) bajo las condiciones mostradas en la tabla 4. (Anexo E, Protocolo PCR Multiplex para la determinación de la presencia de *Helicobacter pylori*).

Tabla 4. Condiciones de la PCR para la amplificación.

Paso	Proceso	T °C	Tiempo	ciclos
1	Desnaturalización inicial	95	10 min	1
2	Desnaturalización	94	30 s	15
	Acoplamiento	57	1,5 min	
	Extensión	70	45 s	
3	Desnaturalización	94	30 s	25
	Acoplamiento	54	1 min	
	Extensión	72	1 min	
4	Extensión final	72	5 min	1

### **5.6.6 Visualización del ADN amplificado.**

Los productos de amplificación se evidenciaron en geles de agarosa al 1,5% en tampón TAE 1X (Tris-Acético-EDTA) usando como colorante EZ-VISION® THREE según el protocolo de electroforesis del Laboratorio de Genética Humana Aplicada (Anexo F. Protocolo Electroforesis para tipificación de *H. pylori*). Usando una cámara de electroforesis marca Bio Rad con una fuente de corriente a 80 voltios durante 60 minutos. Al finalizar, la presencia de los fragmentos amplificados se comprobó mediante visualización en el equipo Gel Doc™ XR+ Imaging System Molecular Imager (BIO-RAD, USA), teniendo como referencia las bandas de amplificación de la cepa de control 11637 y 11638.

### **5.6.7 Límite de detección la técnica PCR para *H. pylori***

Para determinar el límite de detección se realizó la amplificación del ADN de la cepa de referencia 11637 *H.p*, preparando diluciones sucesivas de 1:10 hasta 5 veces, a partir de una concentración de 26.7ng/μL, las cuales fueron amplificadas según la metodología descrita anteriormente, usando 5μL de ADN, 0.3μL de cada primer, 5μL de Qiagen Multiplex PCR® y 2,2μL de agua grado molecular libre de RNAsas, para un volumen total de la PCR de 15μL. Una vez amplificado el ADN se logró la visualización en una placa de electroforesis del ADN hasta la cuarta dilución equivalente a  $26.71 \times 10^{-4}$  ng/μL), (los resultados se presentan en el anexo I), es decir se alcanza a amplificar ADN en muestras con una concentración de 0.0267ng/L, o con un contenido de 0.0016ng de ADN.

## 5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

La información y datos obtenidos en las pruebas fueron almacenados en físico y luego se alimentó una base de datos en el programa Excel que sirvió como insumo para los respectivos análisis estadísticos.

El análisis estadístico se realizó con el programa Statgraphics 18, para determinar si el sistema de tratamiento (filtración en gravas) generó efectos sobre la remoción de los parámetros del estudio, se realizaron análisis de varianza (ANOVA), comparando los tres puntos de muestreo considerados (agua cruda, salida de filtro dinámico y salida del filtro grueso ascendente). Para aquellos análisis que reportaron que existen diferencias significativas, se realizó un análisis de Múltiples Rangos para establecer cuáles son iguales y cuales son diferentes, para discriminar entre las medias se usó el procedimiento de diferencia mínima significativa LSD (Least significant difference) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Si no existe una diferencia significativa en los valores medidos se considera que el efecto es nulo. Todos los análisis estadísticos se realizarán con un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0,05$ .

Estos resultados del análisis estadístico permitirán saber si hubo un efecto significativo o no de cada una de las estructuras sobre los parámetros en estudio, teniendo dos casos: a. si los valores de los parámetros son mayores a la entrada que los de la salida se tiene un efecto positivo al disminuir la contaminación, b. en caso que se obtengan valores superiores a la salida del tratamiento, el efecto será negativo.

En el primer caso se podrá entonces determinar el grado de eficiencia de remoción de la contaminación para cada parámetro calculándola con la siguiente expresión:

$$\textit{Eficiencia de Remoción} = \frac{Ex - Sx}{Ex} * 100\%$$

*Donde, Ex, es el parámetro medido a la entrada del proceso, Sx es el parámetro medido a la salida del sistema.*



## 5.8 METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DEL OBJETIVO 2.

Para determinar si existe correlación entre la concentración de los indicadores de contaminación fecal y la presencia y/o ausencia de *H. pylori* en el agua cruda tratada por cada unidad de filtración, se realizó un análisis estadístico bivariado utilizando el software “IBM SPSS Statistics 24”, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman, teniendo en cuenta el criterio  $\rho$ :  $\rho > 0,95$  y  $\rho < 0,05$ . Para los análisis se usó como variable independiente la presencia de *H. pylori* y como variables dependientes los indicadores bacterianos de contaminación fecal, coliformes totales, *E. coli*.

Con los datos de *H. pylori*, coliformes totales y *E. coli* se realizó un estudio de correlación múltiple entre estos parámetros. Para ello se realizaron correlaciones simples entre cada uno de los parámetros, con cual se miden la relación lineal que existen entre estos parámetros, dos a dos, sin tener en cuenta la posible influencia del otro. También se realizó el mismo análisis para los parámetros turbiedad y color.

El valor del coeficiente de Spearman, oscila entre -1 y +1, se puede interpretar indicándonos asociaciones negativas o positivas respectivamente. El valor cero significa no correlación, pero no independencia. El hecho que exista correlación entre las variables no implica que exista causalidad o independencia entre ellas. Las diferencias en los valores de los datos se consideraron significativas a  $p < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 CALIDAD DEL AGUA CRUDA

El seguimiento durante el periodo de estudio (15 semanas), de la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua cruda tomada para abastecer el acueducto veredal Las Guacas, sector Los Llanos, proveniente de las quebradas Velasquillo y San Isidro, se resume en la tabla 5. La turbiedad estuvo en un rango de 1.6 y 12.7 UNT, en promedio tuvo un color aparente de 39.6 UPC, con un pH que osciló entre 6.6 a 7.5 y una temperatura media de 18.8 °C, el oxígeno disuelto estuvo en un rango entre 6.9 y 8.9 mg/L, con lo cual se puede garantizar que cualquier proceso de remoción de materia orgánica se realice en forma aeróbica. Respecto a la calidad microbiológica se determinó un promedio de 1213 UFC/100 ml para coliformes totales y un valor promedio de 103 UFC/100 ml para *E. coli*.

Teniendo en cuenta los valores presentados se puede inferir el agua cruda, cumple con los criterios de calidad de agua para la utilización de un sistema FiME compuesto por FGD<sub>i</sub>, FGAC y FLA, más la desinfección como barrera de seguridad, establecidas por Galvis et al. (1999), quienes además recomiendan que para esta calidad del agua se debe usar un FGD<sub>i</sub> a una velocidad máxima de filtración de 3m/h, un FGAC a 0,45 m/h y un FLA con una velocidad de filtración de 0,15m/h. La configuración de la planta consta del pretratamiento con los FGD<sub>i</sub> y FGAC, sin embargo, este no cuenta con el sistema de filtración lenta ni la desinfección.

En el Anexo G se presentan los resultados de las mediciones para los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en los tres puntos de muestreo y así como los parámetros hidráulicos durante el periodo de estudio.

## 6.2 CONDICIONES DE OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO DEL SISTEMA

La operación y mantenimiento (O&M) de los sistemas de tratamiento de agua constituye un elemento crítico en el funcionamiento sostenible del sistema de tratamiento de agua potable, así mismo es necesario asegurar que la infraestructura se utilice correctamente durante la vida útil estimada (Posso, 2012). Así los FGDi son utilizados para reducir los picos de turbiedad y proteger la planta de tratamiento ante altas cargas de sólidos transportadas por la fuente en poco tiempo y la operación de los FGAC está relacionada con el control de la velocidad de filtración, pérdida de carga y el control de la calidad de agua efluente mientras que su mantenimiento está asociado con la limpieza permanente de las unidades y las acciones tendientes a prevenir o reparar daños (Galvis et al., 1999).

En general la O&M del sistema presentó grandes limitaciones. En la planta no se puede realizar un control del caudal de entrada, por lo tanto, toda el agua que entra al sistema es tratada. Se observó que el FGDi, durante 12 semanas no mantuvo el nivel de agua sobre el lecho filtrante, como se muestra en la figura 8, esto no le permite realizar su función de bloqueo de los picos de turbiedad, que se puedan presentar en el agua cruda durante el periodo de lluvias, que ocasiona el arrastre de sólidos a lo largo de las fuentes abastecedoras.



Figura 8. Unidades de FGD<sub>i</sub> operando sin nivel superficial de agua.

En cuanto a las condiciones hidráulicas de operación se determinó que el caudal promedio de agua tratada por la planta, en el tiempo que se realizó el seguimiento, fue de 3.05 L/s, con lo cual la velocidad de filtración teórica en los FGD<sub>i</sub> fue de 2.94 m/h, mientras que, en los filtros en grava ascendentes, los caudales tratados por cada unidad estuvieron en un rango de 0.84 a 2.04 L/s, con un promedio de 1.52 L/s, lo cual representó un rango de velocidad de filtración de 0.53 a 1.30 m/h, con un valor promedio de 0.85 m/h. Estas velocidades alcanzadas están por encima de la recomendada (0.3 a 0.6 m/h) por Galvis et al. (1999), Galvis (1999) y Resolución 330 de 2017 (Ministerio de Salud y Protección Social, 2017), lo cual puede generar reducciones en la eficiencia de remoción e incrementar los requerimientos de mantenimiento por un mayor desarrollo de pérdida de carga hidráulica en el FGAC. Los resultados se encuentran en el anexo G.

La pérdida de carga o pérdida de energía hidráulica ( $h_f$ ) de los FGAC está asociada a la energía necesaria para que el agua fluya por el medio filtrante, por lo cual está

relacionada con la velocidad de filtración y la acumulación de sólidos suspendidos en el medio filtrante. Esta medición le permite al operador tener control sobre frecuencia de mantenimiento, sin embargo, en la planta se determinó que en las primeras cinco semanas se alcanzó un rango de pérdida de carga hidráulica entre de 2.7 a 4.7 cm con grandes cantidades de lodo en la superficie del filtro (ver figura 9), en este periodo se incluyó sólo dos descargas de fondo sin lavado superficial, lo que implica una baja frecuencia de mantenimiento de las unidades de filtración. Galvis et al. (1999) recomienda que este lavado debe ser realizado con una frecuencia de al menos una vez por semana.



Figura 9. Filtro en grava con y sin presencia de lodo en la superficie.

Foto A: Sin realizar mantenimiento al filtro. B: después de realizar el mantenimiento.

Durante las siguientes cinco semanas, se retomó la realización del lavado de los filtros por parte del operario con una frecuencia de una vez por semana, con lavados de fondo y lavado superficial cada dos semanas, esto condujo a una reducción en los valores de la pérdida de carga entre 2.1 y 3.4 cm. Finalmente en las cuatro

últimas semanas del seguimiento, se redujo nuevamente la frecuencia de mantenimiento (no se evidenció la realización de descargas de fondo ni el lavado superficial), produciendo incrementos en la pérdida de carga hidráulica aún mayores, entre 2.6 y 5.8 cm. Estos datos, particularmente los comprendidos entre las primeras cinco semanas y las cuatro últimas, indican que se presentó acumulación de lodo dentro del medio filtrante del FGAC.

### **6.3 Calidad de agua tratada.**

#### **6.3.1 Turbiedad y color.**

Las tecnologías de tratamiento de agua seleccionadas para abastecer la población, deben garantizar su calidad dando cumplimiento a lo exigido en la Resolución 2115 de 2007 del Ministerio de Protección Social y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo, (2007), donde se establecen los valores admisibles para las características físicas, químicas y microbiológicas del agua para consumo humano, sin embargo y gracias a la Resolución 844 de 2018, está permitida la construcción de los sistemas de tratamiento por fases en las zonas rurales, lo cual podría no garantizar el cumplimiento a cabalidad de la norma de la calidad del agua, cuando no se cuenta con sistemas completos de tratamiento incluyendo la desinfección, además esta calidad está supeditada a la correcta selección de la tecnología, al buen funcionamiento y unas óptimas condiciones de operación y mantenimiento.

Las estadísticas descriptivas para las mediciones de Turbiedad y color en cada punto de muestreo se presentan en la tabla 6. En ellos se puede apreciar una disminución en ambos parámetros a la salida del tratamiento. Para determinar si el sistema de tratamiento tuvo un efecto en la remoción de estos parámetros se debe determinar si existen diferencias significativas entre los diferentes puntos de evaluación, para ello se realizó un análisis de varianza tabla 7.

Tabla 5. Estadísticas descriptivas: Turbiedad y Color para el agua cruda y tratada en cada filtro del agua de abastecimiento de la planta Los Llanos.

Periodo octubre 2019 a marzo 2020.

Estadístico	Turbiedad (UNT)			Color (UPC)		
	AGUA CRUDA	FGDi	FGAC	AGUA CRUDA	FGDi	FGAC
Promedio	3,9	3,3	2,3	37,4	33,0	26,3
Desv. Est.	2,1	1,4	0,96	19,7	17,0	16,5
Máximo	12,7	7,3	5,8	92,3	67,0	67,7
Mínimo	1,6	1,7	1,3	8,3	7,7	3,7
Número de Datos	30	30	30	29	29	29

El análisis en la tabla ANOVA descompone la varianza de Turbidez en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 7,59 es el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-P (0,0009) de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de turbidez al menos entre dos puntos de muestreo, con un nivel del 5% de significación. Los resultados completos se encuentran en el Anexo H.

Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se realizó la Prueba de Múltiples Rangos (Tabla 7), por medio de comparación entre los puntos. Se encontró que no existen diferencias significativas entre la turbidez del agua cruda y la encontrada después del FGDi por ser grupos homogéneos, lo que significa que no hay remoción en este punto. Si comparamos este hecho con los estudios de Galvis et al., (1999), quienes reportan que se presentan remociones entre 57.5% y el 71.4% de turbiedad al pasar por los FGDi, se concluye un pobre desempeño en estos filtros. Este pobre desempeño está relacionado con la insuficiente O&M de la unidad; el no contar con un nivel de agua superficial de

manera permanente no permite la utilización de todo el medio filtrante y hace que el flujo se filtre solo por la primera parte de este medio.

De acuerdo con los resultados de la tabla 7, existen diferencias entre el agua cruda y el agua de salida del FGAC, aunque las turbiedades iniciales son bajas, la remoción global de turbiedad de la planta fue del 40.4%, esta remoción podría no ser suficiente para cumplir con los criterios de calidad establecidos en la resolución 2115 de 2007.

Tabla 6. Prueba de Múltiples Rangos para parámetros físicos del agua de abastecimiento de la planta Los Llanos.

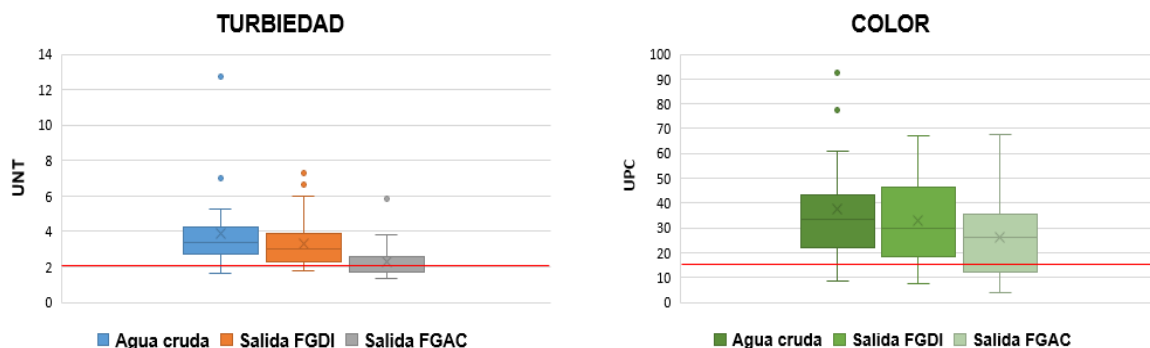
<b>Método: 95,0 porcentaje LSD</b>						
<b>MUESTRA</b>	<b>TURBIEDAD</b>			<b>COLOR</b>		
	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos</b>
			<b>Homogéneos</b>			<b>Homogéneos</b>
Agua Cruda	30	3,9	X	29	37,3	X
Salida FGDi	30	3,3	X	29	32,8	XX
Salida FGAC	30	2,3	X	29	26,3	X

Se realizó el mismo procedimiento para analizar el comportamiento de la planta en cuanto a remoción del color y al hacer la comparación entre los diferentes puntos de muestreo con base en el análisis de varianza se demostró que no existen diferencias significativas entre el agua cruda y el efluente del FGDi, (valor-p=0,0638) al contrario, existe una ligera tendencia a aumentar los valores en el color al salir del filtro, en contraste con el estudio (Vega Serrano, 2013) quien reporta remociones de color del 31,5%. Estos resultados muestran el bajo desempeño del FGDi, su inapropiada operación podría explicar esta situación.

Como se mencionó antes, Anova indicó que no hay diferencias significativas, esto debido probablemente a la variabilidad de los datos como se muestra en la gráfica de cajas y bigotes (figura 10), sin embargo, la prueba de Múltiples Rangos demostró que las medias del color entre el agua cruda y el agua filtrada por el FGAC, son diferentes, (tabla 7), permitiendo reportar solo una remoción del 30% de color



aparente, remoción que no permite cumplir con los valores máximos admisibles exigidos (15 UPC) en la resolución 2115 de 2007, ya que se obtiene como valor promedio a salida de la planta 26,6 UPC. Este valor sería completamente inadecuado si se realizara el proceso de desinfección con cloro por su potencial de generar subproductos como los trihalomentanos, sustancias cancerígenas.



(-----) valor permitido según resolución 2115/2007

Figura 10. Diagrama de cajas y bigotes para turbiedad y color por punto de muestreo.

Fuente: Elaboración propia.

La remoción del color por medio de la filtración gruesa (FGDI+ GFAC) puede estar limitada por el origen mismo del color, (materia orgánica, hierro, manganeso, entre otros). El principal mecanismo de remoción de los filtros en grava está asociado a la sedimentación (Boller 1993; Sánchez 2017), por lo cual es más factible la remoción de color causado por material sólido suspendido como el hierro III, que el color causado por materia orgánica disuelta como ácidos fúlvicos y húmicos. En el caso del presente estudio los bajos niveles de turbiedad (3,9 UNT) y altos de valores de color (37 UPC) en el agua cruda, pueden explicar la baja remoción de este último donde predominarían las sustancias disueltas sobre las suspendidas.

### 6.3.2 Coliformes totales y *E. coli*.

En las estadísticas descriptivas de los resultados que se reportan en la tabla 8, se puede ver a simple vista en los valores promedio que los coliformes totales están en mayor proporción a la salida de la planta, y en *E. coli* ocurre una escasa disminución.

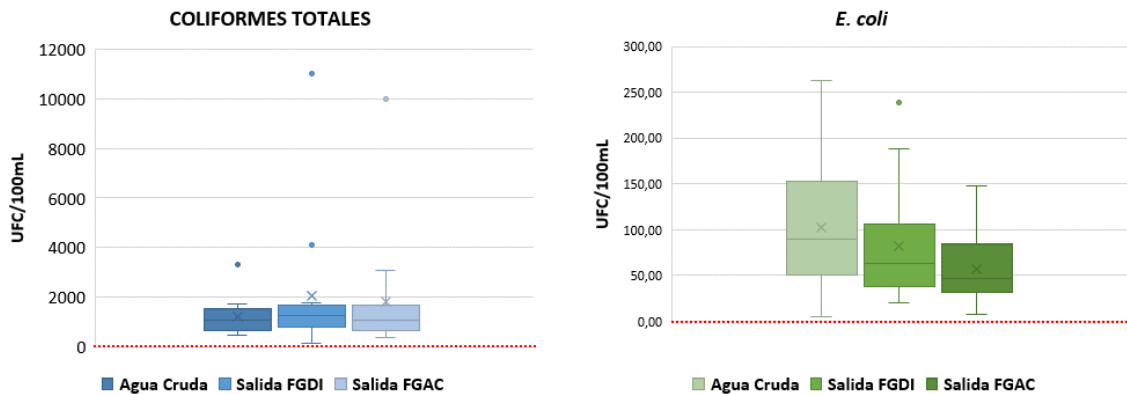
En el análisis de varianza realizado con un nivel de confianza del 95%, se comparó el valor de la media de coliformes totales y *E. coli* del agua cruda con los efluentes de salida de cada unidad de tratamiento (obteniéndose valores  $p= 0,8675$  y  $0,1280$  respectivamente), este indica que no hay evidencia suficiente para asegurar que existen diferencias significativas entre el agua cruda y de salida de cada una de las estructuras, lo que implica que la eficiencia en la remoción de estos parámetros puede ser considerada como nula.

Tabla 7. Estadísticas descriptivas para Coliformes totales y *E. coli*. Planta los Llanos. Periodo octubre 2019 a marzo 2020.

Estadístico	Coliformes Totales			<i>E. coli</i>		
	Agua cruda	FGDi	FGAC	Agua cruda	FGDi	FGAC
Promedio	1213	1343	1184	103	83	57
Desv. Est.	732	958	736	71	63	39
Máximo	3300	4100	3069	263	239	148
Mínimo	483	154	392	5	20	8
Numero de Datos	14	14	14	14	14	14

Por lo tanto, este comportamiento es preocupante, puesto que el agua potable debe tener cero unidades formadoras de colonias por cada 100 mL de muestra. En la figura 11, la gráfica de cajas y bigotes muestra el comportamiento de la planta con relación a los coliformes totales y *E. coli*, es de resaltar que existe una tendencia a generar aporte en el número de coliformes totales cuando el agua ha sido filtrada por los FGDi y los FGAC, contrario a la remoción de microorganismos mediante filtros gruesos reportado en diferentes estudios (Mushila et al., 2016; Sánchez et al.,

2007; Fernández et al., 2006), donde se alcanzan remociones en un rango de 30 a 40% para coliformes fecales y totales, valores suficientes para continuar su remoción por la filtración lenta en arena donde se logran eliminar cerca del 99.99% de la contaminación microbiológica, para finalmente desinfectar el agua para su distribución.



(-----) Valor exigido en la resolución 2115/2007

Figura 11. Coliformes totales y *E. coli* en agua cruda y filtrada.

El comportamiento del sistema de tratamiento en cuanto al mejoramiento de la calidad del agua se puede explicar teniendo en cuenta que la remoción de partículas en un filtro en grava se presenta por diferentes mecanismos, siendo la sedimentación uno de los más importantes. La eficiencia del filtro depende de variables como la velocidad de filtración, la longitud y tamaño del medio filtrante, porosidad y el tamaño de partículas (Boller, 1993; Sánchez, 2017).

La adherencia de las partículas a la superficie del medio filtrante se dará por la interacción de las fuerzas atractivas de van der Waals y las hidrodinámicas; las primeras facilitan la adherencia de las partículas al medio filtrante, generando acumulación de lodo al interior de los poros reduciendo su tamaño, mientras que las

segundas se ven afectadas, ya que al generarse reducciones en el tamaño del poro se incrementa la velocidad intersticial, lo que a su vez aumenta la pérdida de carga y los esfuerzos de corte sobre las partículas retenidas que pueden ser desprendidas y arrastradas por en esta acción (Boller, 1993). Sánchez (2017) encontró que la remoción de partículas con diámetros menores a 5  $\mu\text{m}$  solo podrán ser removidas con eficiencias entre el 45 y 70% a velocidades menores a 0.5 m/h. Si bien en el presente estudio no se midió el tamaño de las partículas podría suponerse que la eficiencia de retención alcanzada por los FGAC de entre 30 al 40% pueda ser debida a estos dos fenómenos descritos anteriormente. El filtro en estudio fue operado con velocidades de filtración que abarcaron el rango de 0.53 a 1.30 m/h y estuvieron por encima de las velocidades reportadas por Sánchez (2017), lo que implica una baja remoción de partículas con diámetros menores de 5  $\mu\text{m}$ . como por ejemplo partículas coloidales y microorganismos, que presentan tamaños por debajo de 1  $\mu\text{m}$ .

Por otro lado, si bien los filtros trabajaron a velocidades de filtración altas, se logran bajas eficiencias de remoción (30 al 40%), que, aunque sean bajas implican la retención de partículas que se van acumulando al interior de los filtros en grava y como consecuencia de las deficientes condiciones de operación y baja frecuencia de mantenimiento, se estarían generando condiciones propicias para que ocurra el fenómeno de desprendimiento de partículas descrito por Boller (1993). Estos desprendimientos de partículas y posiblemente de microorganismos junto a ellas, podrían explicar los valores más altos en los filtros en grava que en el agua cruda.

### **6.3.3 Otros parámetros.**

Los parámetros de pH, conductividad y oxígeno disuelto hicieron parte del seguimiento y control, con el objetivo de verificar las condiciones de la calidad del agua cruda y tratada no tuvieran alteraciones que fueran a afectar el proceso.

Particularmente el rango de pH en el agua presentó una muy baja variación y estuvo en el rango de 6.6 a 7.4, cumpliendo con la normatividad y reflejando que no hubo una contaminación de carácter químico que genere una influencia negativa sobre el proceso. Similarmente ocurre con la conductividad al presentar variaciones mínimas durante el tiempo de estudio.

El oxígeno disuelto permaneció con valores superiores a 7mg/L a la salida de los FGAC, indicando una buena disponibilidad de este elemento en el agua tratada para que los posibles procesos de remoción de materia orgánica puedan darse aeróbicamente.

#### **6.4 REMOCIÓN DE HELICOBACTER PYLORI**

La determinación de la presencia de *H. pylori* se realizó por medio de la técnica molecular reacción en cadena de la polimerasa (PCR), analizando muestras del agua cruda y después de cada unidad de filtración con el objetivo de detectar su presencia y el comportamiento del sistema de filtración respecto a ella.

Se analizaron 30 muestras por cada punto de muestreo y se detectó la presencia de la bacteria en todas las etapas del proceso, en tres muestras de agua cruda (10%) esto evidencia la contaminación fecal que presenta la fuente de abastecimiento. Así mismo en seis muestras (20%) después de pasar por el FGD<sub>i</sub> y en seis (20%) a la salida del FGAC, su distribución se presenta en la tabla 9, donde se relacionan las mediciones con los puntos de muestreo y los periodos de mantenimiento realizados en la planta.

Se identificaron tres periodos según la frecuencia de las operaciones de mantenimiento realizadas, como descargas de fondo y lavado superficial de los filtros. Se evidenció que, en el segundo periodo comprendido entre las semanas sexta y onceava, se realizaron correctamente estas actividades y no se detectó ADN de *H. pylori* en ninguno de los puntos de muestreo.

Tabla 8. Detección de *H. pylori* en la planta de tratamiento los Llanos, relacionadas al mantenimiento. Periodo octubre 2019 a marzo 2020.

Periodo	Mantenimiento realizado	Muestras positivas para <i>H. pylori</i> por punto de muestreo		
		Agua cruda	FGDi	FGAC
1. Semanas 1 a 5	Dos descargas de fondo sin lavado superficial.	0	4	2
2. Semanas 6 a 11	Descargas de fondo semanal con lavado superficial	0	0	0
3. Semanas 12 a 15	Sin descargas de fondo ni lavado superficial	3	2	4
Total, muestras positivas		3	6	6
Numero de datos		30	30	30

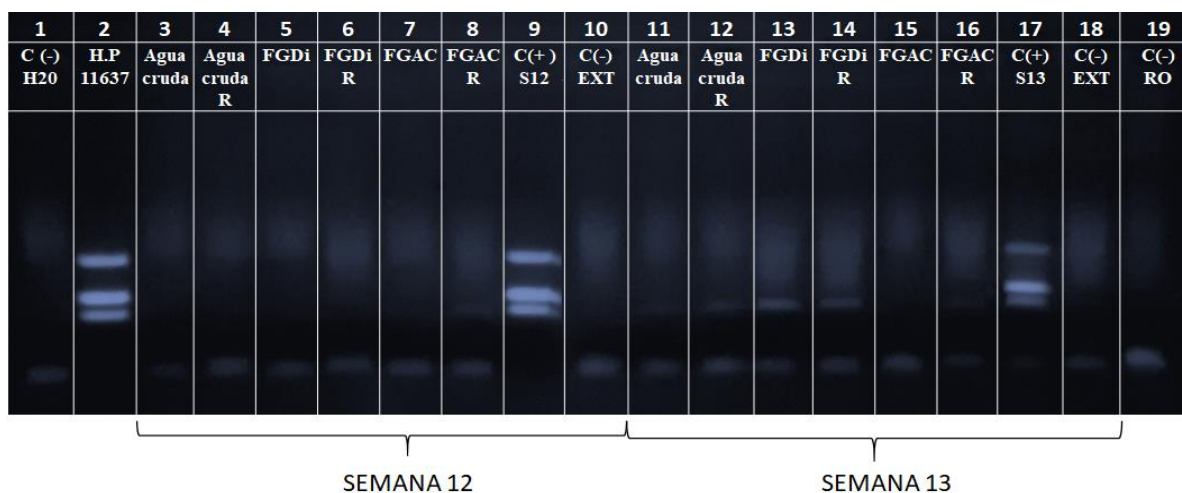


Figura 12. Detección de *H. pylori* en muestras de agua cruda y tratada, semanas 12 y 13 por Electroforesis en gel de agarosa.

Control de referencia de la PCR: carril 2, cepa *H.p* NCTC 11637

Controles negativos del proceso de extracción: carril 10 y 18.

Controles negativos de la PCR: Carriles 1 y 19, reactivos de multiplex para la PCR.

Control positivo del proceso completo aislamiento de ADN con la cepa *H.p* NCTC 11637: carriles 9 y 17 por semana.

Muestras negativas: carriles 3 al 7 y 15. Muestras positivas: carriles 8, 11, 12, 13, 14 y 16.

Mientras que, en el primer y tercer periodo, el mantenimiento no se realizó de manera adecuada, ni con la frecuencia que se requiere en este tipo de filtros y el número de muestras positivas para *H. pylori* fue mayor a la salida de los filtros en grava (FGDi y FGAC) que, en el agua cruda. Como se observa en la placa de electroforesis (figura 12), en la doceava semana solo hay ADN en la salida de los FGAC y en la semana 13 se evidencia ADN en los tres puntos de muestreo. Los resultados completos se presentan en el anexo I.

La mayor presencia de *H. pylori* a la salida de los filtros podría estar asociada con la baja frecuencia de lavado, la acumulación de partículas en la grava y su posible desprendimiento debido las altas tasas de filtración que se presentaron durante la operación del FGAC (0.53 a 1.3 m/h) que pudieron generar esfuerzos de corte lo suficientemente grandes como para generar el desprendimiento y arrastre de las partículas retenidas como lo describió Boller (1993) y entre ellas el *H. pylori*. Esto implica que no se está generando remoción del patógeno en este sistema de tratamiento.

Otros estudios en Colombia han evidenciado este patógeno en aguas de consumo humano, Ordoñez (2015), reporto la presencia de *H. pylori* en un 33% de las muestras analizadas en cuatro fuentes de abastecimiento del acueducto rural, El Saladito en Timbío, Cauca, siendo aguas superficiales típicas para zonas montañosas como las de este caso. También se reporta la presencia de *H. pylori* en fuentes de agua cruda y potabilizada por Adams et al. (2003), Campos et al. (2011), Álvarez y Ceballos, (2018), particularmente Vesga (2018) muestra en su investigación realizada en tres plantas de potabilización de agua en Bogotá, que utilizan el método convencional de tratamiento y filtración directa, que el porcentaje de detección del ADN de *H. pylori* por PCR, fue 22.6% en el agua cruda y 27.1% en el agua potabilizada en las plantas, valor que supera al agua cruda, es de recalcar que estas plantas de tratamiento utilizan también métodos químicos y aun así fue posible detectar este ADN bacteriano.

Encontrar ADN de la bacteria en el agua de abastecimiento en este acueducto indica que falta más intervención en la zona alta de la microcuenca (aguas arriba de la bocatoma) en particular con el control de vertimientos de aguas residuales domésticas, es decir se requiere mayor esfuerzo en la gestión integral del recurso hídrico, siendo este, un factor determinante en la salud y calidad de vida de las comunidades.

Esto, asociado con el hecho de que el tratamiento que se está realizando en el acueducto Las Guacas no garantiza la eliminación del patógeno, es muy significativo cuando se habla de la vía de transmisión y el nivel de riesgo por el consumo de agua contaminada con el patógeno, como lo han demostrado otros estudios donde se determinó en agua cruda y potable no solamente de la presencia de bacterias, si no que estas son viables y cultivables lo que significa que tienen un potencial infectivo (Vesga, 2018; Santiago, 2016).

Para controlar el riesgo por la contaminación fecal es necesario hacer la desinfección con cloro, sin embargo, esta no garantiza la remoción de patógenos emergentes como por ejemplo quistes de *Giardia* y *Cryptosporidium* y tampoco de *H. pylori*. En este sentido algunos estudios (Solarte et al., 2006) mostraron que para reducir la infectividad de los ooquistes de *Cryptosporidium* es necesario usar altas concentraciones de cloro y tiempos de contacto prolongados (hasta 80 mg/L por 90 min.), por otra parte Moreno et al. (2007) estudiaron la supervivencia y viabilidad de *H. pylori* usando concentraciones de hasta 0.96 mg/L de cloro libre durante varios tiempos de control, encontrando que la bacteria podría sobrevivir en su forma viable pero no cultivable, (Moreno et, al. 2007).

En España un estudio realizado en aguas residuales y potables demostró la presencia y además la viabilidad de la bacteria usando técnicas de cultivo y moleculares, logrando la cuantificación del patógeno mediante DVC-FISH (Conteo directo de viables, Hibridación in situ con Sondas Fluorescentes), demostrando la presencia de un número considerable de células viables, con actividad metabólica



y por tanto potencialmente infectivas, en muestras de agua potable (Santiago, 2016).

Así mismo en un estudio realizado en tres plantas de potabilización en Bogotá, con el objetivo de determinar la presencia, viabilidad y virulencia de la bacteria mediante las técnicas de cultivo, PCR convencional, qPCR y FISH, los resultados también muestran la presencia de células viables y cultivables, tanto en el agua cruda como en el agua tratada, es decir que aun después de su tratamiento y desinfección con cloro, (0.79 - 1.98 mg/L Cl<sub>2</sub> residual) valores normalmente usados en los procesos de desinfección (Vesga, 2018). Estos resultados son muy relevantes puesto que pueden evidenciar la transmisión del patógeno a través del agua de consumo y su potencial infectivo.

En México, realizaron ensayos de desinfección con ozono y cloro para evaluar sus efectos sobre las células VBNC *H. pylori*. Determinaron que el ozono mostró una reducción bacteriana de 5 log utilizando una concentración de desinfectante y un tiempo de exposición (CT) de 4 mg min/L, aunque con cloro lograron reducción bacteriana, con un CT de 20 mg min/L de cloro, confirmada por qPCR-PMA, se observaron células intactas de VBNC mediante el microscopio de barrido de emisión de campo (FESEM), y también se observó la formación de aglomerados de células supervivientes (Orta de Velásquez et al., 2017).

Esta resistencia sumada a la formación de biopelículas (Gião et al., 2010) como una estrategia bacteriana en respuesta al estrés ambiental, supone un riesgo de infección para los consumidores de aguas tratadas de forma deficiente, inadecuada, interrumpida, intermitente o incompleta como suele suceder en muchos de los acueductos rurales.

Si bien los anteriores estudios muestran que la desinfección con cloro posee limitaciones para la eliminación de *H. pylori*, en el caso del acueducto Las Guacas sería conveniente la complementación del sistema con la introducción de filtros lentos en arena.

Por lo tanto, teniendo en cuenta estudios epidemiológicos que muestran que individuos infectados por *H. pylori* tienen un riesgo mayor de adenocarcinomas gástricos (Torres et al. 2004; Atherton 2006; Malfertheiner et al. 2007), el estudio realizado en Costa Rica muestra una relación directa entre el consumo de agua contaminada con *H. pylori* con zonas de alta incidencia de cáncer gástrico (Montero-Campos, 2019), con los hallazgos de este estudio se deja una puerta abierta al estudio de la calidad del agua cruda y tratada en zonas rurales y urbanas en el Cauca, sabiendo que el departamento tiene una alta incidencia en cáncer gástrico (Torres et al. 2004; Adrada et al. 2008; Pardo et al. 2017).

#### **6.5 CORRELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL Y LA PRESENCIA O AUSENCIA DE *H. PYLORI* EN EL AGUA CRUDA Y TRATADA.**

Teniendo los resultados del comportamiento del sistema de filtración en gravas respecto a la remoción de los parámetros físicos turbiedad y color, los microbiológicos coliformes totales y fecales (indicadores de contaminación fecal), se estableció la correlación existente con la presencia de ADN de *H. pylori*, mediante el análisis estadístico utilizando el programa IBM SPSS Statistics.

La interpretación del coeficiente de correlación rho de Spearman, indica que valores próximos a 1; indican una correlación fuerte y positiva. Valores próximos a -1 indican una correlación fuerte y negativa. Valores próximos a cero indican que no hay correlación lineal. Puede que exista otro tipo de correlación, pero no lineal. Comparando los indicadores microbiológicos con la presencia de *H. pylori* se encontraron valores que varían entre -0,096 y 0,144 (ver tabla 10), indicando una muy baja o débil correlación, sin embargo, estas correlaciones no son estadísticamente significativas porque en todos los casos el valor p es mayor 0,05, como se muestra en la tabla 11 como la significancia bilateral. Por lo tanto, la

variación de las concentraciones de los indicadores de contaminación microbiológica no se puede establecer como un indicador para sospechar la presencia o ausencia del patógeno.

Al realizar el mismo análisis estadístico entre las variables físicas color y turbiedad con *H. pylori*, tampoco se encuentran evidencias de la existencia de una correlación entre ellos, tabla 11. (Los resultados se presentan en el anexo J).

Tabla 9. Análisis bivariado por IBM SPSS Statistics entre parámetros microbiológicos y *H. pylori*.

		Correlaciones Rho de Spearman					
		Agua cruda		FGDi		FGAC	
		C totales	<i>E. coli</i>	C totales	<i>E. coli</i>	C totales	<i>E. coli</i>
<b><i>H. pylori</i></b>	Coeficiente de correlación	-0,029	0,079	0,144	-0,066	-0,096	0,010
	Sig. (bilateral)	0,922	0,787	0,624	0,882	0,744	0,972
	N	14	14	14	14	14	14

La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 10. Análisis bivariado por IBM SPSS statistics entre parámetros físicos y *H. pylori*

		Correlaciones Rho de Spearman					
		Agua cruda		FGDi		FGAC	
		Turbiedad	<i>Color</i>	Turbiedad	<i>Color</i>	Turbiedad	<i>Color</i>
<b><i>H. pylori</i></b>	Coeficiente de correlación	0,072	-0,494	-0,210	-0,287	0,205	-0,263
	Sig. (bilateral)	0,806	0,073	0,471	0,319	0,481	0,364
	N	14	14	14	14	14	14

La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

## 7. CONCLUSIONES

- El sistema de filtración en gravas del acueducto de Las Guacas, sector Los Llanos, implementado para el tratamiento de agua para consumo humano, usa una fuente de abastecimiento con calidad de agua deficiente por su contaminación microbiológica y alto contenido de color.
- La eficiencia del tratamiento del agua dada por la remoción de la contaminación microbiológica usando los indicadores coliformes totales y *E. coli* se considera nula, no cumple con lo exigido por la normatividad colombiana respecto a los parámetros microbiológicos del agua y al no contar con el proceso de desinfección con cloro, se considera que presenta un alto riesgo para el consumo humano.
- El estudio mostró que el sistema de pretratamiento de filtración en gravas compuesto por filtración dinámica más filtración gruesa ascendente, bajo las condiciones de operación específica en el periodo de estudio no alcanza una adecuada remoción del *H. pylori*.
- Las condiciones de operación y mantenimiento insuficientes generan como consecuencias: altas velocidades de filtración, acumulación de lodos, aumento en las pérdidas de carga y posiblemente desprendimientos de partículas retenidas que se ven reflejados en las bajas eficiencias de remoción de parámetros físicos y nulas en la remoción de los indicadores microbiológicos incluido el *H. pylori*.
- Se determinó que no existe correlación entre los indicadores de contaminación fecal, los parámetros físicos evaluados y la presencia de *H. pylori* en los tres puntos de muestreo, por tanto, no pueden ser usados como indicativos de la presencia o ausencia del patógeno.

## 8. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con el presente estudio para conocer el comportamiento de la filtración en grava respecto a la remoción de *H. pylori*, bajo condiciones controladas de O&M, para lo cual podría ser conveniente la implementación de una planta piloto.
  
- Respecto al funcionamiento de la planta de tratamiento de agua, acueducto Las Guacas se recomienda a corto plazo:
  - a) Realizar mantenimientos periódicos que incluyan lavado de los filtros y de las recamaras, así como descargas de fondo, que garanticen la no acumulación de lodo y eviten los incrementos en la pérdida de carga por falta de estas actividades.
  
  - b) Acondicionar los filtros dinámicos de tal forma que se pueda medir su caudal para poder controlar el agua de entrada y que opere bajo las condiciones recomendadas en el diseño inicial. En este sentido también se deben conseguir los caudales de tratamiento que garanticen las velocidades de filtración que permitan un funcionamiento correcto de las unidades FGAC.
  
- Teniendo en cuenta la gestión integral del recurso hídrico se realizan las siguientes recomendaciones para realizar a mediano plazo:
  - a. Implementar sistemas de saneamiento para el manejo de excretas en las viviendas del área de influencia de la microcuenca que no las posean, para evitar la excreción a campo abierto.

- b. Se debe hacer control de los vertimientos de aguas residuales implementando sistemas de tratamiento individuales en las viviendas que están en el área de influencia de la microcuenca.
  - c. Se considera también muy importante mantener la franja de protección del cuerpo de agua abastecedor particularmente impidiendo el acceso de ganado vacuno. En este sentido se recomienda la implementación de bebederos tecnificados en el área de producción ganadera.
- Desde la perspectiva del consumo de agua potable se recomienda a los usuarios y a quienes realizan la gestión del sistema, las siguientes acciones:
- a. De manera inmediata se recomienda a los usuarios realizar la desinfección casera del agua usando métodos accesibles como: hervir el agua de bebida directa, el uso de filtros caseros de material cerámico poroso o la aplicación de hipoclorito de sodio para lograr una dosis de 1mg/L de cloro.
  - b. A corto plazo, la implementación del sistema de desinfección del agua a la salida de la planta de tratamiento.
  - c. A mediano plazo es necesaria la construcción de la etapa de filtración lenta en arena y la implementación de la respectiva operación de desinfección, ambos garantizarán un agua con mejor calidad desde el punto de vista microbiológico.
  - d. Como consecuencia de la baja eficiencia del tratamiento y la ausencia de desinfección del agua es muy posible que en las redes de distribución se presente la formación de biopelícula por lo cual se recomienda la desinfección de las mismas.

## 9. REFERENCIAS

- Acosta, C. P., Codony, F., Fittipaldi, M., Sierra-Torres, C. H., & Morató, J. (2018). Monitoring levels of viable *Helicobacter pylori* in surface water by qPCR in Northeast Spain. *Journal of Water and Health*, 16(5), 839–845. <https://doi.org/10.2166/wh.2018.195>
- Acosta, C. P., Hurtado, F. A., & Trespacios, A. A. (2014). 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. *Biomedica*, 34(SUPPL.1), 156–162. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1649>
- Adams, B. L., Bates, T. C., & Oliver, J. D. (2003). Survival of *Helicobacter pylori* in a Natural Freshwater Environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7462–7466. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7462-7466.2003>
- Adrada, J. C., Calambás, F. H., Díaz, J. E., Delgado, D. O., & Sierra, C. H. (2008). Características sociodemográficas y clínicas en una población con cáncer gástrico en el departamento de Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 23, 309–314.
- AL-SULAMI AA, A.-T. A. (2010). Isolation and Identification of *Helicobacter pylori* from drinking water in Basra governorate. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 16(9).
- Álvarez, M. del M., & Ceballos, V. (2018). *Detección molecular de Helicobacter pylori como prospectiva para su identificación a partir de cuerpos de agua*.
- Amirtharajah, A. (1988). J. (1988). Some theoretical and conceptual views of filtration. *Journal-American Water Works Association*, 80(12), 36-46.
- Arcos Pulido, M. del P., Ávila De Navia, S. L., Estupiñán Torres, S. M., & Gómez Prieto, A. C. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova - Publicación Científica*, 3(4), 69–79. <https://doi.org/10.22490/24629448.338>
- Atherton, J. C. (2006). The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastroduodenal diseases. In *Annual Review of Pathology* (Vol. 1, pp. 63–96). <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.1.110304.100125>
- 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. In *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 270, Issue 30, pp. 17771–17777). <https://doi.org/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*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(9), 2979–2982.
- Azevedo, N. F., Almeida, C., Cerqueira, L., Dias, S., Keevil, C. W., & Vieira, M. J.

- (2007). Coccoid form of *Helicobacter pylori* as a morphological manifestation of cell adaptation to the environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(10), 3423–3427. <https://doi.org/10.1007/s00338-009-0465-0>
- Aziz, R. K., Khalifa, M. M., & Sharaf, R. R. (2015). Contaminated water as a source of *Helicobacter pylori* infection: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(4), 539–547. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.007>
- Baker, K. H., & Hegarty, J. P. (2001). Presence of *Helicobacter pylori* in drinking water is associated with clinical infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 33(10), 744–746. <https://doi.org/10.1080/003655401317074536>
- Bartram J, C. S. (2010). Hygiene, Sanitation, and Water: Forgotten Foundations of Health. *PLoS Med*, 7(11). <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000367>
- Bernardo, L. Di, Brandão, C. C. S., & Heller, L. (1999). Tratamento de Águas de Abastecimento por Filtração em Múltiplas Etapas. In *Programa de Pesquisa em Saneamento Básico*.
- Boller, M. (1993). Filter mechanisms in roughing filters. *Aqua*, 42(3), 174–185.
- Brown, L. M. (2000). *Helicobacter pylori*: Epidemiology and routes of transmission. *Epidemiologic Reviews*, 22(2), 283–297. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a018040>
- Campos, M., Soto, H., Meléndez, M., Sandoval, C., Santamaría, G., Rojas, B., Cascante, L., Gutiérrez, O., & Montero Campos, V. (2011). Hallazgo de la bacteria *Helicobacter pylori* en agua de consumo humano y su relación con la incidencia de cáncer gástrico en Costa Rica. *Tecnología En Marcha*, 24(3), 3–14.
- Chowdhury, S. (2013). *Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system : A review Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system : A review* (184(10), Issue November 2011). <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2407-x>
- Cuervo, C., & Gaviria, A. (2017). Detection of *Helicobacter pylori* in water and biofilm samples from faucets of official educational institutions in the city of Medellín. *Acta Medica Colombiana*, 42(2), 121–128.
- Fernandes, R. M., Silva, H., Oliveira, R., Almeida, C., Azevedo, N. F., & Vieira, M. J. (2017). Morphological transition of *Helicobacter pylori* adapted to water. *Future Microbiology*, 12(13), 1167–1179. <https://doi.org/10.2217/fmb-2016-0174>
- Fernández-Delgado, M., Contreras, M., García-Amado, M. A., Michelangeli, F., & Suárez, P. (2008). Evidencias de la transmisión acuática de *Helicobacter pylori*. In *Interciencia* (Vol. 33, Issue 6, pp. 412–417).
- Fernández, J., & Chaux, G. (2007). “Mejorando la Calidad del Agua para Consumo Humano con el Uso de Sistemas de Filtración en Múltiples Etapas”. *Colombia Ingeniería Hoy*, 27, p.18-29.
- Fernández, J., Cruz, A., & Benavides, E. (2006). Remoción de materia orgánica por filtración en Múltiples Etapas. *Ingeniería Hoy*, 24, 20–27.
- Galvis, G., Teun Visscher, J., & Lloyd, B. (1992). Multi-stage surface water treatment for community water supply in Colombia. *Waterlines*, 10(3), 26–29.



- <https://doi.org/10.3362/0262-8104.1992.008>
- Galvis, Gerardo. (1999). Development and Evaluation of Multistage Filtration Plants: An Innovative, Robust and Efficient Water Treatment Technology. In *Water Supply*. University of Surrey,. United Kingdom.
- Galvis, Gerardo, Latorre, J., & Visscher, J. T. (1999). *Filtración en múltiples etapas: tecnología innovativa para el tratamiento de agua*. <https://www.ircwash.org/sites/default/files/255.9-99FI-17025.pdf>
- Giao, M. S., Azevedo, N. F., Wilks, S. A., Vieira, M. J., & Keevil, C. W. (2008). Persistence of *Helicobacter pylori* in heterotrophic drinking-water biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(19), 5898–5904. <https://doi.org/10.1128/AEM.00827-08>
- Gião, M. S., Azevedo, N. F., Wilks, S. A., Vieira, M. J., & Keevil, C. W. (2010). Effect of chlorine on incorporation of *Helicobacter pylori* into drinking water biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, *76*(5), 1669–1673. <https://doi.org/10.1128/AEM.01378-09>
- Goh, K., Chan, W., Shiota, S., & Yamaoka, Y. (2011). *Epidemiology of Helicobacter pylori infection and public health implications*. *16*, 1–9.
- Goodwin, C. S., Armstrong, J. A., Chilvers, T., Peters, M., Collins, D., & Sly, L. (1989). Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *39*, 397–405.
- Graham, D. Y., & Shiotani, A. (2008). New concepts of resistance in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, *5*(6), 321.
- Haig, S. (2014). *Characterizing the Functional Ecology of Slows and Filters Through Environmental Genomics*. School Of Engineering College Of Science and Engineering University of Glasgow.
- Haig, S. J., Collins, G., Davies, R. L., Dorea, C. C., & Quince, C. (2011). Biological aspects of slow sand filtration: Past, present and future. *Water Science and Technology: Water Supply*, *11*(4), 468–472. <https://doi.org/10.2166/ws.2011.076>
- Henao Riveros, S. C., Quiroga, A., Martínez Marín, J. D., & Otero Regino, W. (2009). Resistencia primaria a la claritromicina en aislamientos de *Helicobacter pylori*. *Rev. Colomb. Gastroenterol*, *24*(2), 110–114. <https://doi.org/ISSN: 0120-9957>
- Hooi, J. K. Y., Lai, W. Y., Ng, W. K., Suen, M. M. Y., Underwood, F. E., Tanyingoh, D., Malfertheiner, P., Graham, D. Y., Wong, V. W. S., Wu, J. C. Y., Chan, F. K. L., Sung, J. J. Y., Kaplan, G. G., & Ng, S. C. (2017). Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*, *153*(2), 420–429. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.022>
- Horiuchi, T., Ohkusa, T., Watanabe, M., Kobayashi, D., Miwa, H., & Eishi, Y. (2001). *Helicobacter pylori* DNA in drinking water in Japan. *Microbiology and Immunology*, *45*(7), 515–519. <https://doi.org/10.1111/j.1348->

0421.2001.tb02652.x

- Hulten, K., Han, S. W., Enroth, H., Klein, P. D., Opekun, A. R., Gilman, R. H., Evans, D. G., Engstrand, L., Graham, D. Y., & El-Zaatari, F. A. K. (1996). Helicobacter pylori in the drinking water in Peru. *Gastroenterology*, 110(4), 1031–1035. <https://doi.org/10.1053/gast.1996.v110.pm8612990>
- INS. Instituto Nacional de Salud. (2011). *Programa de vigilancia por laboratorio de la calidad de agua para consumo humano, Manual de instrucciones para la toma, preservación y transporte de muestras de agua de consumo humano para análisis de laboratorio*. [https://www.ins.gov.co/sivicap/Documentacion/SIVICAP/2011 Manual toma de muestras agua.pdf](https://www.ins.gov.co/sivicap/Documentacion/SIVICAP/2011%20Manual%20toma%20de%20muestras%20agua.pdf)
- INS. Instituto Nacional de Salud. (2020). *Estado de la vigilancia de la calidad de agua para consumo humano en Colombia 2018*. <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/informe-calidad-agua-2018.pdf>
- Kramer, M. (n.d.). The polymerase chain reaction. *Current Protocols in Molecular Biology*, 15, 1–15.
- Larrea-murrell, J. A., Rojas-badía, M. M., Romeu-álvarez, B., & Heydrich-pérez, M. R. M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. 44(3), 24–34.
- Leyton Luna, J., & Capote Muñoz, A. F. (2018). *Evaluación del impacto de la velocidad de filtración en filtros lentos en arena con el uso de geotextiles NT*. Programa de ingeniería ambiental. Universidad del cauca.
- Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C., Bazzoli, F., El-Omar, E., Graham, D., Hunt, R., Rokkas, T., Vakil, N., Kuipers, E. J., Andersen, L., Atherton, J., Asaka, M., Bazzoli, F., Bytzer, P., Chan, F., Coelho, L. G. V., De Wit, N., Delchier, J. C., ... Xiao, S. (2007). Current concepts in the management of helicobacter pylori infection: The maastricht III consensus report. *Gut*, 56(6), 772–781. <https://doi.org/10.1136/gut.2006.101634>
- Ministerio de Ambiente, V. y D. T. (2007). *Protocolo para el monitoreo y seguimiento del agua*.
- Moncayo, J. I., Santacruz, J. J., Álvarez, A. L., Franco, B., López, M. A., Ángel, A., Gallego, M. L., & Serrano, H. (2006). Comparación de métodos diagnósticos en la infección por Helicobacter pylori en Quindío, Colombia. *Colombia Medica*, 37(3), 203–212.
- Montero-Campos, V. (2019). Helicobacter pylori en Costa Rica, más de una década de investigaciones. *Revista Tecnología En Marcha*, 32, 94–103. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i9.4636>
- Moreno Y, Piqueres P, Alonso JL, Jiménez A, González A, F. M. (2007). Survival and viability of Helicobacter pylori after inoculation into chlorinated drinking water. *Water Research*, 41(15), 3490–3496. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.020>.
- Mushila, C. N., Ochieng, G. M., Otieno, F. A. O., Shitote, S. M., & Sitters, C. W. (2016). Hydraulic design to optimize the treatment capacity of Multi-Stage Filtration units. *Physics and Chemistry of the Earth*, 92, 85–91.

- <https://doi.org/10.1016/j.pce.2015.10.015>
- Nava Nolzco, R. M. F. M., Germán, R. A. G., González Gutiérrez, J. Y., Herrera-Romero, A. U., & Cabrera Maldonado, C. (2015). The coccoid forms of *Helicobacter pylori*: A permanence mechanism. *Basic Research Journal of Medicine and Clinical Science Basic Research Journal of Medicine and Clinical Sciences*, 4(2), 2315–6864.
- Navarro, M. O. (2007). *Determinación de escherichia coli y coliformes totales en agua por el método de filtración por membrana en agar Chromocult* (Vol. 3). Bogotá: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). <http://www.ideam.gov.co/documents>
- Nkwonta, O., & Ochieng, G. (2009). Roughing filter for water pre-treatment technology in developing countries: A review. *International Journal of Physical Sciences*, 4(9), 455–463.
- Olivieri V. (1982). Bacterial indicators of pollution. In *Pipes W.O. Faculty of Agriculture*.
- OPS, OMS, COSUDE, & CEPIS. (2005). Guía para diseño de sistemas de tratamiento de filtración en múltiples etapas. *Organización Panamericana de La Salud*, 1–28.
- Ordoñez, J. F. (2015). *Evaluación de la Calidad Microbiológica de las Fuentes de Abastecimiento del Acueducto Rural El Saladito, Timbío, Cauca*. Universidad del Cauca, Departamento de Ingeniería Ambiental y Sanitaria.
- Orta de Velásquez, M. T., Yáñez Noguez, I., Casasola Rodríguez, B., & Román Román, P. I. (2017). Effects of ozone and chlorine disinfection on VBNC *Helicobacter pylori* by molecular techniques and FESEM images. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 38(6), 744–753. <https://doi.org/10.1080/09593330.2016.1210680>
- Ozaydin, N., Turkyilmaz, S. A., & Cali, S. (2013). Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* in Turkey: a nationally-representative, cross-sectional, screening with the 13 C-Urea breath test. *BMC Public Health*, 13(1), 12–15.
- Pardo, C., de Vries, E., Buitrago, L., & Gamboa, O. (2017). *Atlas de mortalidad por cancer en Colombia*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1007/BF01411734>
- Posso, D. (2012). *Análisis de la operación y mantenimiento de la filtración en gravas de flujo ascendentes a escala real*. [Universidad del Valle]. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/xmlui/bitstream/handle/10893/7675/3750-0446254.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Premoli, G., González, A., Millán-mendoza, B., Percoco, T., & Vielma, A. (2004). Diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Rev Cubana Med Trop*, 56(2), 85–90. <https://doi.org/10.1002/aic.15016>
- Rachwal, A. J., Bauer, M. J., & West, J. T. (1988). Advanced techniques for upgrading large scale slow sand filters. *Ellis Horwood, New York*.
- Ramirez Ramos, A., & Sánchez Sanchez, R. (2008). *Helicobacter pylori* y cancer gastrico. *Revista de Gastroenterología Del Peru*, 28 (3). 258-266, 28(3), 258–


266. <https://doi.org/10.1097/MOG.000000000000128>
- Ramos, A. R., & Sánchez, R. S. (2009). Contribución de Latinoamérica al estudio del *Helicobacter pylori*. In *Acta Gastroenterologica Latinoamericana* (Vol. 39, Issue 3, pp. 197–218). <https://www.redalyc.org/pdf/1993/199317345011.pdf>
- Richards, C. L., Buchholz, B. J., Ford, T. E., Broadaway, S. C., Pyle, B. H., & Camper, A. K. (2011). Optimizing the growth of stressed *Helicobacter pylori*. *Journal of Microbiological Methods*, *84*(2), 174–182.
- Samra, Z. Q., Javaid, U., Ghafoor, S., Batool, A., Dar, N., & Athar, M. A. (2011). PCR assay targeting virulence genes of *Helicobacter pylori* isolated from drinking water and clinical samples in Lahore metropolitan, Pakistan. *Journal of Water and Health*, *9*(1), 208–216. <https://doi.org/10.2166/wh.2010.169>
- Sánchez, L. D., Sánchez, A., Galvis, G., & Latorre, J. (2007). *Filtración en Múltiples Etapas* (15. Documento de Revisión Técnica (ed.)).
- Sánchez, L. D. (2017). Determinación del factor de adherencia en filtros de grava de flujo ascendente en capas. *Ingeniería Y Competitividad*, *19*(2), 121–130. <https://doi.org/10.25100/iyc.v19i2.5299>
- Santiago, P. (2016). *Transmisión de Helicobacter pylori a través del agua: estudio de la presencia del patógeno e identificación de formas viables mediante técnicas moleculares* [Tesis Doctoral.]. [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/75086/SANTIAGO\\_TRANSMISIÓN\\_DE\\_HELICOBACTER\\_PYLORI\\_A\\_TRAVÉS\\_DEL\\_AGUA%3A\\_ESTUDIO\\_DE\\_LA\\_PRESENCIA\\_DEL\\_PATÓ...pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/75086/SANTIAGO_TRANSMISIÓN_DE_HELICOBACTER_PYLORI_A_TRAVÉS_DEL_AGUA%3A_ESTUDIO_DE_LA_PRESENCIA_DEL_PATÓ...pdf?sequence=1)
- Servetas, S. L., Carpenter, B. M., Haley, K. P., Gilbreath, J. J., Gaddy, J. A., & Scott Merrell, D. (2016). Characterization of key *Helicobacter pylori* regulators identifies a role for arsrs in biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, *198*(18), 2536–2548. <https://doi.org/10.1128/JB.00324-16>
- Singh, N., Patel, P., Wyckoff, T., & Augoustides, J. G. T. (2010). Progress in perioperative medicine: Focus on statins. In *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* (Vol. 24, Issue 5, pp. 892–896). <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2010.06.015>
- Solarte, yesid., Peña, M., & Madera, C. (2006). *Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano*.
- Sörberg, M., Nilsson, M., Hanberger, H., & Nilsson, L. E. (1996). Morphologic conversion of *Helicobacter pylori* from bacillary to coccoid form. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *15*(3), 216–219.
- Syam, A. F., Miftahussurur, M., Makmun, D., Nusi, I. A., Zain, L. H., Akil, F., & Utari, A. P. (2015). Risk factors and prevalence of *Helicobacter pylori* in five largest islands of Indonesia: A preliminary study. *PloS One*, *10*(11).
- Tacikowski, T., Bawa, S., Gajewska, D., Myszkowska-Ryciak, J., Bujko, J., & Rydzewska, G. (2017). Current prevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients with dyspepsia treated in Warsaw, Poland. *Przegląd Gastroenterologiczny*, *12*(2), 135–139. <https://doi.org/http://doi.org/10.5114/pg.2017.68042>

- Torres, M. M., Acosta, C. P., Sicard, D. M., & Groot de Restrepo, H. (2004). Genetic susceptibility and risk of gastric cancer in a human population of Cauca, Colombia. *Biomédica : Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 24(2), 153–162. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i2.1261>
- Vega Serrano, H. A. (2013). Evaluación Del Sistema De Filtración En Múltiples Etapas Fime En Tanques Plásticos Con Pre-Sedimentación Y Retro-Lavado En La Hacienda Majavita (Socorro, Santander). In *Ingeniería Ambiental*. [https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/bitstream/handle/20.500.12746/151/402\\_Vega\\_Serrano\\_Haimar\\_Ariel\\_2013\\_Documento.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/bitstream/handle/20.500.12746/151/402_Vega_Serrano_Haimar_Ariel_2013_Documento.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Vesga, F. (2018). *Detección y viabilidad de Helicobacter pylori en aguas crudas y potables en tres plantas de potabilización en la ciudad de Bogotá*. [https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/41877/Detección y viabilidad de Helicobacter pylori en aguas crudas y potables en tres plantas de potabilización en la ciudad de Bogotá.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/41877/Detección_y_viabilidad_de_Helicobacter_pylori_en_aguas_crudas_y_potables_en_tres_plantas_de_potabilización_en_la_ciudad_de_Bogotá.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Vinagre, I. D. F., Queiroz, A. L. de, & Silva Junior, M. R. da. (2015). Helicobacter Pylori Infection in Patients With Different Gastrointestinal Diseases From Northern Brazil. *Arquivos de Gastroenterologia*, 52(4), 266–271. <https://doi.org/10.1590/S0004-28032015000400004>
- Visscher, J., Paramasivam, R., Raman, A., & Heijnen. (1992). *Filtración lenta en arena tratamiento de agua para comunidades. Planeación, diseño, construcción operación y mantenimiento*.
- Warren, J. R., & Marshal, B. J. (1983). *Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis*. 1273–1275.
- 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. *Journal of Applied Microbiology*, 97(4), 690–698. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02360.x>
- Yao, K., Habibian, M., & O'Melia, C. (1995). Water and Waste water filtration: Concepts and aplcations. *Environmental Science & Technology*, 30(11), 50A-2A.

## 10. ANEXOS

### ANEXO A.

#### FORMATOS PARA LA TOMA Y CUSTODIA DE LAS MUESTRAS DE AGUA DEL ACUEDUCTO LAS GUACAS

			
Laboratorio de analisis ambientales			
Centro de teleinformatica y produccion industrial			
Cadena de custodia muestras			
Identificacion de la muestra			
Código de muestra		Muestra de	
Muestreo			
Lugar			
Fecha y hora		Responsable	
Parametros insitu	Temperatura		Conductividad
	pH		Oxigeno disuelto
Preservacion y transporte			
Preservante quimico	Si ( ) No ( )		
Preservante fisico			
Se transporta desde	hasta		
Fecha y hora inicio de transporte		Fecha y hora fin de transporte	
Responsable			
Entrega			
Lugar de entrega			
Responsable entrega		Responsable recepción	

		<b>FORMATO DE REGISTRO DE RESULTADOS ANALISIS MICROBIOLÓGICOS</b>		Página	1 de 1
TECNICA FILTRACION POR MEMBRANA -Agar Chromocult®- Coliform				Fecha	
UNIVERSIDAD DEL CAUCA				Version	1
				Código	

MUESTRO: (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16)															
DD	MM	AAAA	ID MUESTRA	REPLICA	VOLUMEN FILTRADO (ml)	FACTOR DE DILUCION	NUMERO DE COLONIAS		COL. TOTALES UFC/100 ml (4)=[(3)*100] /[(1)(2)]	NUMERO DE COLONIAS		E-COLI UFC/100 ml (6)=[(5)*100] /[(1)(2)]	Promedio		OBSERVACIONES
							COLIFORMES TOTALES 3	COLIFORMES TOTALES 3		COLIFORMES TOTALES 5	COLIFORMES TOTALES 5		COL.TOTALES	E-COLI	



**FORMATO DE CADENA DE CUSTODIA PARA RECEPCION DE  
LA MUESTRA DE AGUA  
PROYECTO: COMPORTAMIENTO DE LA FILTRACIÓN  
GRUESA EN LA REMOCIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN  
FUENTES SUPERFICIALES DE AGUA**

PAG 1 DE 1

VERSION 1

Muestreo No

Recepción de muestras en el laboratorio			Fecha:	T° del agua
Proceso	Responsable	Firma		
Muestreo				

Recepción Hora:

Información de la muestra

Agua cruda	Agua efluente FGD <sub>i</sub>	Agua efluente FGAC

Concentración de ADN

Responsable	fecha:	No de muestras	Observaciones

Extracción de ADN

Responsable	fecha:	No de muestras	Observaciones

Cuantificación de ADN

Responsable	fecha:	No de muestras	Observaciones

PCR de ADN

Responsable	fecha:	No de muestras	Observaciones

Electroforesis de ADN


Responsable	fecha:	No de muestras	Observaciones

OBSERVACIONES ADICIONALES

--



## ANEXO B.

	<b>PROTOCOLO DE CONCENTRACIÓN DE CÉLULAS POR CENTRIFUGACIÓN A PARTIR DE MUESTRAS DE AGUA</b>		
Código:	Versión: 0	Fecha Vigencia: 01-07-2019	Página

- 1. NOMBRE DEL DOCUMENTO: PROTOCOLO DE CONCENTRACIÓN DE CÉLULAS POR CENTRIFUGACIÓN A PARTIR DE MUESTRAS DE AGUA**
- 2. RESPONSABLES:**
  - Jefe de laboratorio de genética humana: Verificar el cumplimiento de las normas técnicas asegurando las pruebas sometidas a investigación.
  - Coordinador del proyecto: Verificar el cumplimiento de las actividades programadas.
  - Investigador: Ejecutar los procedimientos a realizar en el protocolo.
- 3. OBJETIVO:** Obtener células concentradas.
- 4. ALCANCE:** Este protocolo es aplicable a un volumen de 600ml de agua para posteriormente realizar extracción de ADN.
- 5. MARCO NORMATIVO:**
  - Conductas básicas en bioseguridad, ministerio de salud: manejo integral.

**6. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS:**

Equipos:

Centrífuga refrigerada con capacidad 4000 RPM (Limpiar con alcohol)

Microcentrífuga capacidad 10000 RPM (Limpiar con alcohol)

Micropipeta de 1000 (Limpiar con alcohol)

Bomba de vacío (Limpiar con alcohol, asegurar que no entre agua a la bomba)

Materiales:

Tubos de recolección de 1,5 ml (Estéril para la muestra y reciclados para el balanceo)

Tubos de centrifuga de 50ml (Estéril para la muestra y reciclados para el balanceo)

Gradillas de tubos falcon y de tubos de recolección

Algodón

Montaje de vacío: Pipetas Pasteur (Estéril), Mangueras, Erlenmeyer para filtración

Puntas para micropipeta de 1000. (Estéril)



Fig. 1. Bomba de vacío, mangueras, Erlenmeyer y pipetas Pasteur.

## 7. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO

- a) Encender y limpiar la centrifuga de capacidad 4000 RPM y dejar enfriar hasta 8°C. Diligenciar formato de uso del equipo.
- b) Homogenizar la muestra remitida al laboratorio por inversión durante 1 minuto.
- c) Separar 600ml de la muestra en tubos de centrifuga de 50ml y centrifugar a 4000 rpm por 30 minutos a 8°C, tener en cuenta el balanceo de la centrifuga, asegurando el mismo volumen en todos los tubos y ajustándolos con algodón para que no se muevan en la centrifuga. Realizar el control de concentración con cepa de referencia, tomando 10 µl de una dilución de 10<sup>-1</sup> de la cepa e inocularlo en un tubo de muestra de 50 ml.
- d) Retirar el sobrenadante con un tubo Pasteur con punta en U y el montaje de vacío (Fig. 1) dejando aproximadamente 5ml de muestra en cada tubo, homogenizar con vórtex 20 seg, luego agrupar la muestra en uno de los tubos.
- e) Llevar 1.5ml de cada tubo de muestra a un tubo de microcentrifuga de 1.5ml, debidamente rotulado.
- f) Centrifugar a 10000 rpm durante 5 minutos, tener en cuenta el adecuado balanceo de la centrifuga (Fig. 2).




Fig. 2. Balanceo de la centrifuga de 10000 rpm

- g) Retirar el sobrenadante con micropipeta, dejando aproximadamente 200 µL en el tubo.
- h) Repetir punto e-g hasta acabar con el volumen recolectado de los tubos falcon por muestra.
- i) Dejar aproximadamente 200 µL en 2 tubos de microcentrifuga por punto de muestreo.
- j) En caso de hacer prueba de viabilidad realizar el procedimiento de PMA.
- k) Si se realiza PMA, agrupar el contenido en 4 tubos de microcentrifuga (2 PMA de 500 µL y 2 sin PMA 200 µL) por punto de muestreo.

## 8. REGISTRO DE MODIFICACIONES

FECHA	MODIFICACIONES
02-07-2019	Protocolo tomado a partir de procedimientos del laboratorio de Genética Humana.

## ANEXO C.

	<b>Protocolo de Extracción de ADN a partir de muestras de agua</b>		
	<b>E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit</b>		
Código:	Versión: 0	Fecha Vigencia: 01-07-2019	Página

**1. NOMBRE DEL DOCUMENTO: PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN DE MUESTRAS DE AGUA**

**2. RESPONSABLES:**

- Jefe de laboratorio de genética humana: Verificar el cumplimiento de las normas técnicas asegurando las pruebas sometidas a investigación.
- Coordinador del proyecto: Verificar el cumplimiento de las actividades programadas.
- Investigador: Ejecutar los procedimientos a realizar en el protocolo.

**3. OBJETIVO:** Obtener muestras de ADN extraídos a partir del protocolo.

**4. ALCANCE:** Este protocolo es aplicable para aislar ADN en muestras de agua tratada.

**5. MARCO NORMATIVO:**

Normas de bioseguridad del laboratorio de genética.

**6. EQUIPOS Y REACTIVOS:**

Reactivos	Equipos
Etanol al 100%	Microcentrífuga mesa, capacidad (13,000 x g) (Limpiar con alcohol)
Isopropanol	Agitador vórtex (Limpiar con alcohol)
DNA Wash Buffer	Baño maría con agitación, capacidad (temperatura 70°C)
HBC Buffer	Micro pipeta electrónica de 1000 y 100 µL (Limpiar con alcohol)
Solución de proteasa OB	Puntas para pipeta de 100 y 1000 µL (Estériles, libres de nucleasas)
Buffer BL	Tubos de centrifuga de 50ml (Estériles, libres de nucleasas)
Tampón de elución	Tubos de microcentrífuga 1.5ml (Estériles, libres de nucleasas)
	Columna HiBind® DNA Mini (Estériles, libres de nucleasas)
	Tubos de recolección de 2 ml (Estériles, libres de nucleasas)
	Elementos de protección personal (EPP): bata, guantes, tapabocas.

## 7. PREPARACION DE REACTIVOS.

Preparar el DNA Wash Buffer adicionando 100 mL de etanol por botella (kit D3396-02) y almacenar a temperatura ambiente.

Preparar HBC Buffer adicionando 32 mL de isopropanol por botella (kit D3396-02) y almacenar a temperatura ambiente.

## 8. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO


No.	Descripción de la Actividad
1	Limpiar con alcohol la zona de trabajo y preparar las muestras concentradas y el blanco de extracción.
2	Antes de usar los buffers revisar si hay precipitados. Redisuelva cualquier precipitado por calentamiento a 37°C.
3	Configurar el baño maría a 55°C.
4	Adicionar 20 µL de solución de proteasa OB. Agitar para homogeneizar. Incubar por 1 hora a 55°C.
5	Adicionar 220 µL del Buffer BL. (Ajustar el volumen de BL Buffer requerido basado en la cantidad de material inicial). Nota: Un precipitado tenue puede formar después de la adición del Buffer BL. Esto se no interfiere con la recuperación de ADN.
6	Incubar a 70°C durante 20 minutos. Brevemente agite el tubo dos veces durante la incubación.
7	Tomar la cantidad necesaria de tampón de elución en un tubo de microcentrifuga y calentar a 70°C para su posterior uso en el paso 23 y 26.
8	Adicionar 220 µL de etanol al 100%. Ajustar el volumen de etanol requerida basado en la cantidad de material inicial. Agitar para homogeneizar.
9	Inserte una columna HiBind <sup>®</sup> DNA Mini en un tubo de recolección de 2 ml, rotular las columnas según el orden de las muestras.
10	Transferir la muestra a partir del paso 8 a la columna HiBind <sup>®</sup> DNA Mini, incluyendo cualquier precipitado que se pueda haber formado.
11	Centrifugar a máxima velocidad ( $\geq 10,000 \times g$ ) por 2 minutos.
12	Deseche el filtrado y reutilizar el tubo de recolección.
13	Adicionar 500 µL de Buffer HBC. Nota: el Buffer HBC debe ser diluido con isopropanol antes de su uso.
14	Centrifugar a máxima velocidad durante un minuto.
15	Descarte el filtrado y el tubo de recolección.
16	Inserte la columna HiBind <sup>®</sup> DNA Mini en un nuevo tubo de recolección de 2 ml.
17	Agregar 700 µL de DNA Wash Buffer. Nota: El tampón de lavado de ADN debe ser diluido con etanol antes de su uso.
18	Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto.

19	Deseche el filtrado y reutilizar el tubo de recolección.
20	Repetir los pasos del 17 al 19.
21	Centrifugar la HiBind <sup>®</sup> DNA Mini vacía a máxima velocidad durante 2 minutos para secar la columna. Nota: Este paso es crítico para la eliminación del etanol traza que pueden interferir con las aplicaciones posteriores.
22	Transferir la columna HiBind <sup>®</sup> DNA Mini a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml libre de nucleasa, rotular los tubos según la muestra a contener.
23	Agregar 75 µL de tampón de elución calentado a 70°C.
24	Deje reposar a temperatura ambiente durante 2 minutos.
25	Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto.
26	Repetir los pasos del 23 al 25 y desechar las columnas
27	Almacenar la elución de DNA a -20°C.

#### 9. REGISTRO DE MODIFICACIONES

FECHA	MODIFICACIONES
02-07-2019	Protocolo adaptado de E.Z.N.A. <sup>®</sup> Tissue DNA Kit.

## ANEXO D

	<b>PROTOCOLO DE CUANTIFICACIÓN DE ADN POR ESPECTOFOTOMETRÍA USANDO NANODROP</b>		
	Código:	Versión: 0	Fecha Vigencia: 01-07-2019

**1. NOMBRE DEL DOCUMENTO: PROTOCOLO DE CUANTIFICACIÓN DE ADN POR ESPECTOFOTOMETRÍA USANDO NANODROP**

**2. RESPONSABLES:**

- Jefe de laboratorio de genética humana: Verificar el cumplimiento de las normas técnicas asegurando las pruebas sometidas a investigación.
- Coordinador del proyecto: Verificar el cumplimiento de las actividades programadas.
- Investigador: Ejecutar los procedimientos a realizar en el protocolo.

**3. OBJETIVO:** Determinar cantidad y calidad por medio del Nanodrop del ADN extraído.

**4. ALCANCE:** Este protocolo es aplicable a las muestras de ADN extraídas.

**5. MARCO NORMATIVO:**

Normas de bioseguridad del laboratorio de genética.

**6. EQUIPOS Y REACTIVOS:**

Espectrofotómetro Nanodrop 2000

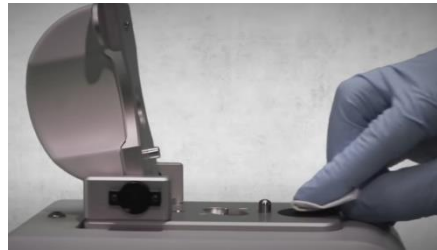
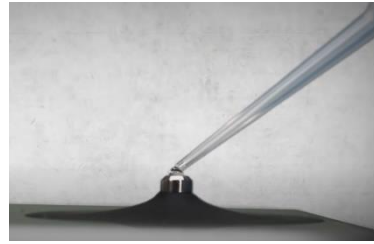
Pipeta de 0.5 a 10 $\mu$ L y Puntas de 10 $\mu$ L

Muestras de ADN extraído preparado

Agua grado molecular y Papel de limpieza

**7. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO**

- a. Precalentar la muestra a 63°C por 10 min y agítese con delicadeza en vórtex.
- b. Conectar el Nanodrop a corriente y al PC.
- c. Iniciar el software del Nanodrop en la PC, este procederá a realizar un chequeo del sistema óptico.
- d. Para la determinación de ADN, seleccionar el tipo de ensayo ácidos nucleicos.
- e. Levantar la cubierta del equipo, se observa una plataforma circular en pedestal. Limpiar el pedestal con 2  $\mu$ L de agua molecular, colocar este volumen sobre el punto del pedestal, cerrar la cubierta despacio, con cuidado de no dejarla caer, abrirla y limpiar con una toalla de laboratorio.



- f. Coloque 2  $\mu\text{L}$  de Tampón de elución para el blanco, colóquelo en el pedestal dar click en blank, después de leerlo se debe limpiar como indica el punto 7.5, también entre lecturas de muestras y al terminar.
- g. Colocar 2  $\mu\text{L}$  de solución de muestra en el pedestal y baje el brazo, Indicar el nombre de la muestra y dar click en el botón de measure.
- h. Los valores leídos se almacenan en una hoja de datos que se muestra en la parte inferior de la pantalla con el nombre de la muestra, los valores de las lecturas y la fecha.

#### 8. REFERENCIAS PARA LA MEDICIÓN.

El Nanodrop 2000c, tiene un límite de detección de 2ng/ $\mu\text{L}$  a 27500 ng/ $\mu\text{L}$ , índice de pureza A260/230 entre 1,8 y 2,2 e Índice de pureza 260/280 entre 1,6 y 2 indica pureza de ADN.


#### 9. REGISTRO DE MODIFICACIONES

FECHA	MODIFICACIONES

#### 9. REFERENCIAS

Adaptado de: Manual de uso del espectrofotómetro NanoDrop 2000c Thermo Scientific Julio 2015. [http://rai.unam.mx/manuales/lgen\\_manual-de-uso\\_Nanodrop.pdf](http://rai.unam.mx/manuales/lgen_manual-de-uso_Nanodrop.pdf)  
 NanoDrop One User Guide. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/manuals/3091-NanoDrop-One-User-Guide-v1.3-sw-SPANISH.pdf>

## ANEXO E.

	<b>PROTOCOLO DE PCR MULTIPLEX</b>		
	Código:	Versión: 0	Fecha Vigencia: 01-07-2020

**8. NOMBRE DEL DOCUMENTO: MULTIPLEX PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Helicobacter pylori*.**

**9. RESPONSABLES:**

- Jefe de laboratorio de genética humana: Verificar el cumplimiento de las normas técnicas asegurando las pruebas sometidas a investigación.
- Coordinador del proyecto: Verificar el cumplimiento de las actividades programadas en el área de Pre-PCR
- Coordinador de área: Se designará un coordinador encargado que verifique se cumplan las actividades programadas en el área de Pre-PCR
- Investigador: Ejecutar los procedimientos a realizar en esta área

**10. OBJETIVO:** Obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular a partir de una reacción con alta sensibilidad y especificidad.

**11. ALCANCE:** Este protocolo es aplicable a las muestras de ADN extraídas y posteriormente cuantificadas.

**12. MARCO NORMATIVO:**

Normas de bioseguridad del laboratorio de genética.

**13. EQUIPOS Y REACTIVOS:**

Cabina de Pre-PCR

Vortex y Centrifuga para tubos de PCR

Pipeta de 0.5 a 10 $\mu$ L y de 20 a 200 $\mu$ L con sus respectivas puntas

Gradilla para tubos de 1.5 mL y tubos de PCR

Tubos de PCR (200 $\mu$ L)

Primers a utilizar

Agua grado molecular y Papel de limpieza

Muestras de ADN extraído preparado

**14. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO**

- a. Limpie la zona de Extracción de ADN y sacar a descongelar las muestras de ADN a procesar. Una vez descongeladas, agitar suave y brevemente con vortex. Finalmente hacerles un spin para llevar toda la muestra la parte baja del tubo.
- b. Diligencie el respectivo formato de corrida de las muestras de PCR Multiplex, con las cantidades de reactivos que se van a utilizar dependiendo del número de muestras (Aumentar un 10% la cantidad para seguridad) y las condiciones.
- c. Limpie con alcohol la zona de Pre-PCR e igualmente todo el material de la cámara de Pre-PCR y organizar el material a esterilizar
- d. Pase el kit de PCR (Primers, agua y mix Q) a la parte baja de la nevera para que se descongele.




- e. Irradie con luz ultravioleta durante 15 minutos.
- f. Una vez irradiada la cámara con el material a utilizar en su interior, saque a descongelar el kit de PCR
- g. Marcar los tubos de PCR con los códigos de las muestras a procesar o el código estipulado en el formato de corrida de las muestras. Incluya el control positivo y los dos controles negativos.
- h. En un tubo de 1.5 mL realizar el MasterMix (Agua, Mix Q y primers) de acuerdo con las cantidades estipuladas en el formato de corrida de las muestras. Para el análisis con tres pares de primers (CagA, VacA s1/s2 y VacA m1/m2), Mix Q y un volumen final de 15  $\mu$ L se tiene por cada tubo: 5  $\mu$ L de Mix Q, 0.36  $\mu$ L de cada primer y 2.84  $\mu$ L de Agua grado molecular; para un volumen total de 10  $\mu$ L. **Nota:** Resuspenda los primers y el mix Q antes de depositarlos en el tubo.
- i. Añada a cada tubo de PCR 10  $\mu$ L de este MasterMix para posteriormente poner 5  $\mu$ L de ADN en su respectivo tubo.
- j. Para el control positivo poner 5  $\mu$ L de ADN extraído de cepa 11637 u 11638. Para los controles negativos, poner 5  $\mu$ L de agua grado molecular para el control de agua y 5  $\mu$ L de MasterMix para el control de reactivos.
- k. Agitar brevemente cada tubo y centrifugar asegurando la ausencia de burbujas en el tubo y que estén bien tapados.
- l. Colocar las muestras en el termociclador y verificar el programa que se va a correr, teniendo en cuenta la temperatura, el tiempo y el número de ciclos. Las condiciones ideales para esta PCR Multiplex son:

Programa: Hp Agua		
Pasos	Temperatura	Tiempo
1	95	10'
2	94	30"
3	57	90"
4	70	45"
5	Ir a paso 2 por 15 ciclos	
6	94	30"
7	54	60"
8	72	60"
9	Ir a paso 6 por 25 ciclos	
10	72	5'
11	15	$\infty$
12	END	

#### 9. REGISTRO DE MODIFICACIONES

FECHA	MODIFICACIONES
17-08-2020	Protocolo tomado a partir de procedimientos del laboratorio de Genética Humana.

## ANEXO F.

	<b>PROTOCOLO DE ELECTROFORESIS PARA TIPIFICACIÓN DE <i>H. pylori</i></b>		
Código:	Versión: 0	Fecha Vigencia: 01-07-2019	Página

**1. NOMBRE DEL DOCUMENTO: ELECTROFORESIS PARA TIPIFICACIÓN DE *H. PYLORI*.**

**2. RESPONSABLES:**

- Jefe de laboratorio de genética humana: Verificar el cumplimiento de las normas técnicas con el fin de asegurar que las pruebas que se someten a investigación cumplan con todos los requerimientos de calidad.
- Coordinador del proyecto: Verificar el cumplimiento de las actividades programadas.
- Coordinador de área: Se designará un coordinador encargado que verifique se cumplan las actividades programadas en el área de electroforesis.
- Investigador: Ejecutar los procedimientos a realizar en el protocolo.

**3. OBJETIVO:** Verificar los productos de PCR Multiplex por medio de geles de agarosa.

**4. ALCANCE:** Este documento es aplicable a todos los productos de PCR Multiplex para la tipificación de *H. pylori* que se deseen verificar por medio de geles de agarosa en el área de electroforesis del laboratorio de genética humana.

**5. MARCO NORMATIVO:**

- Conductas básicas en bioseguridad, ministerio de salud: manejo integral.

**6. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS:**

Equipos:

Balanza analítica

Horno microondas

Micro pipeta de 20uL (Limpiar con alcohol)

Cámara de Electroforesis horizontal

Fuente de poder

Tras luminador

Materiales:

Erlenmeyer 500ml

Espátula y recipiente para pesar

Base con peineta

Puntas de micropipeta 20uL (Estériles)

Gradilla de tubos de PCR

Agarosa

Colorante Loading Dye

EZ Vision three

Buffer TBE

### 7. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO

- a. Antes de iniciar la preparación del gel de agarosa, aliste la base con su respectiva peineta donde realizara el montaje de los geles.
- b. Pesar 1.5g de agarosa con la espátula y la base específica para este polisacárido.
- c. Medir 200mL de buffer TBE 1X.
- d. Una vez medidas las cantidades de agarosa y TBE 1X adicionar en un Erlenmeyer, agitar suavemente y dejar reposar por 15 minutos. De esta manera obtenemos una concentración del gel de 1.5% p/v
- e. Llevar al microondas la solución y calentar en periodos cortos de tiempo (10-30s) y mezclar constantemente hasta disolver la agarosa. La solución estará homogénea y sin burbujas después de hervir durante pocos segundos. (2-5s)
- f. Dejar enfriar a temperatura ambiente por unos minutos, antes de verte al molde del gel.
- g. Verter suavemente la solución en el molde evitando la formación de burbujas, si estas se forman retirarlas cuidadosamente con una punta estéril.
- h. Dejar a temperatura ambiente hasta que gelifique o poner en nevera por 20 minutos.
- i. Preparar la cámara de electroforesis y montar el gel de forma que el lado de los pocillos quede cerca al polo negativo de la cámara (polo negro).
- j. Adicionar a la cámara el buffer de corrida TBE 1X hasta que cubra totalmente el gel y proceder a retirar la peinilla con cuidado de no dañar los pozos.
- k. Prepara cada uno de los tubos de PCR que contienen la muestra, con una mezcla de 1uL de EZ Vision three por cada 5uL de muestra y la cantidad de colorante loading dye que indique su producto.
- l. Ajustar la micro pipeta a 10 u 12uL, según sea el caso, y colocar las muestras en sus pozos respectivos. No olvide registrar el orden de las muestras.
- m. Conectar la cámara de electroforesis a la fuente de poder y establecer un voltaje de 80V durante una hora. Chequear que el amperaje suba hasta 20 – 40 mAmp, lo cual indica que el buffer TBE está bien preparado.
- n. Una vez se acabe el tiempo de la corrida, desconectar la cámara de la fuente de poder. Sacar el gel y visualizarlo bajo la luz UV del tras luminador. Tomarle foto rápidamente, puesto que el ADN se difunde rápidamente fuera del gel.

### 8. REGISTRO DE MODIFICACIONES

FECHA	MODIFICACIONES
02-07-2019	Protocolo tomado a partir de procedimientos del laboratorio de Genética Humana.

**ANEXO G.**

**RESULTADOS DE MEDICIONES FISICOQUÍMICAS  
PLANTA DE TRATAMIENTO LAS GUACAS.  
SECTOR LOS LLANOS.**

SEMANA	DIAS	FECHA	Turbiedad (UNT)			Color (UPC)		
			AGUA CRUDA	Salida FGDI	Salida FGAD	AGUA CRUDA	Salida FGDI	Salida FGAD
1	1	8/10/2019	3,06	1,9	1,35	53	25,3	29,3
	2	10/10/2019	2,33	1,89	1,36	27	28,0	14,6
2	7	15/10/2019	1,92	1,75	1,41	20,3	16,3	12,3
	11	19/10/2019	2,66	2,39	1,81	NR	NR	NR
3	14	22/10/2019	3,23	2,66	2,18	37	54,7	51,7
	16	24/10/2019	2,38	2,74	1,64	8,3	7,7	7,6
4	21	29/10/2019	2,12	1,85	1,45	18,3	16,7	17,7
	23	31/10/2019	2,97	2,32	1,47	25,7	19,3	12,0
5	28	5/11/2019	1,6	2,14	2,46	32,7	35,0	36,3
	30	7/11/2019	2,35	1,96	1,71	28	14,7	11,7
6	35	12/11/2019	6,97	6,01	5,86	78,7	66,7	67,7
	37	14/11/2019	7,06	5,03	3,73	61	49,7	41,0
7	48	25/11/2019	5,29	5,1	3,8	77,3	60,7	62,3
	49	26/11/2019	4,26	3,13	2,34	27	16,7	21,7
8	56	3/12/2019	2,70	2,22	1,73	28,7	21,0	15,7
	58	5/12/2019	5,09	4,08	3,53	52,3	43,3	41,0
9	112	28/01/2020	12,70	7,32	2,15	92,3	67,0	35,0
	114	30/01/2020	3,73	3,84	3,07	45,3	52,7	40,3
10	119	4/02/2020	4,27	3	1,98	41,7	40,0	30,3
	121	6/02/2020	2,81	2,64	1,54	22,3	20,7	8,0
11	126	11/02/2020	3,46	3,47	2,57	22	17,3	12,7
	128	13/02/2020	3,35	3,96	2,16	39,7	40,3	26,3
12	133	18/02/2020	4,62	6,67	2,87	22	23,3	11,3
	135	20/02/2020	3,93	3,35	2,73	40,3	32,0	28,3
13	139	24/02/2020	3,39	3,22	2,03	34,7	30,0	26,0
	140	25/02/2020	3,09	3,03	1,91	35	37,3	30,3
14	146	2/03/2020	3,74	3,02	2,23	40,3	35,7	28,7
	147	3/03/2020	3,74	3,39	2,03	33,3	50,0	33,7
15	153	9/03/2020	2,91	2,36	1,74	17,7	10,0	4,3
	154	10/03/2020	3,89	3,52	2,07	21,0	20,3	3,7

**RESULTADOS DE MEDICIONES FISICOQUÍMICAS  
PLANTA DE TRATAMIENTO LAS GUACAS.  
SECTOR LOS LLANOS.**

SEMANA	DIAS	FECHA	pH			Conductividad (µS/cm)		
			AGUA CRUDA	Salida FGDI	Salida FGAC	AGUA CRUDA	Salida FGDI	Salida FGAD
1	1	8/10/2019	7,18	7,12	7,33	82,0	80,3	79,8
	2	10/10/2019	6,97	6,99	7,04	86,1	84,3	84,3
2	7	15/10/2019	7,01	7,06	7,18	86,4	83,4	81,4
	11	19/10/2019	6,93	6,92	6,91	215,3	214,0	214,0
3	14	22/10/2019	7,09	6,9	6,95	59,5	58,1	57,9
	16	24/10/2019	6,88	6,88	6,92	64,5	64,1	68,6
4	21	29/10/2019	6,91	6,63	6,65	26,9	26,6	26,6
	23	31/10/2019	6,99	6,58	6,86	28,4	27,8	27,6
5	28	5/11/2019	6,81	7,00	7,07	24,3	24,5	24,4
	30	7/11/2019	6,58	6,72	6,72	79,3	77,0	77,0
6	35	12/11/2019	6,76	6,82	7,05	63,8	59,1	59,9
	37	14/11/2019	7,03	7,08	7,22	53,6	54,2	54,2
7	48	25/11/2019	7,37	7,37	7,19	56,7	57,5	56,6
	49	26/11/2019	7,26	7,18	7,1	57,8	56,8	57,3
8	56	3/12/2019	7,08	7,19	7,38	66,8	65,5	65,9
	58	5/12/2019	7,17	7,09	7,11	52,4	52,5	52,4
9	112	28/01/2020	7,46	7,27	7,26	50,1	49,8	49,3
	114	30/01/2020	7,3	7,2	7,20	57,2	58,1	58,5
10	119	4/02/2020	7,25	7,39	7,25	56,3	57,5	56,7
	121	6/02/2020	7,11	7,13	7,17	58,4	58,2	57,7
11	126	11/02/2020	7,53	7,28	7,26	81,2	54,0	59,4
	128	13/02/2020	7,28	7,32	7,29	65,4	61,8	64,1
12	133	18/02/2020	7,18	7,13	7,25	80,5	75,2	68,9
	135	20/02/2020	7,13	7,14	7,17	71,7	67,0	68,0
13	139	24/02/2020	7,15	7,21	6,98	67,8	67,0	74,3
	140	25/02/2020	7,26	7,03	6,97	63,9	64,7	65,4
14	146	2/03/2020	7,53	7,13	7,11	76,8	59,6	56,9
	147	3/03/2020	7,31	7,36	7,38	92,5	63,9	73,9
15	153	9/03/2020	6,82	6,82	7,06	60,5	59,8	59,9
	154	10/03/2020	6,85	6,92	7,15	58,9	58,8	62,8

**RESULTADOS DE MEDICIONES FISICOQUÍMICAS  
PLANTA DE TRATAMIENTO LAS GUACAS.  
SECTOR LOS LLANOS.**

SEMANA	DIAS	FECHA	Oxígeno disuelto (mg/L)			Temperatura (°C)		
			AGUA CRUDA FGDI	Salida FGDI	Salida FGAD	AGUA CRUDA FGDI	Salida FGDI	Salida FGAD
1	1	8/10/2019	8,1	7,9	7,6	NR	NR	NR
	2	10/10/2019	7,1	7,2	7,4	NR	NR	NR
2	7	15/10/2019	7,3	7,3	7,6	NR	NR	NR
	11	19/10/2019	NR	NR	NR	19,9	19,2	19,3
3	14	22/10/2019	7,9	7,7	8,1	16,5	16,6	16,9
	16	24/10/2019	7,6	7,7	7,6	16,8	16,9	17,3
4	21	29/10/2019	7,5	7,3	7,2	16,6	16,7	17,0
	23	31/10/2019	7,9	7,7	7,7	16,8	17,0	17,2
5	28	5/11/2019	7,8	7,3	7,6	16,8	17,0	17,5
	30	7/11/2019	8,0	7,9	8,0	17,1	17,2	17,5
6	35	12/11/2019	7,5	7,4	7,3	16,7	17,1	16,8
	37	14/11/2019	7,1	7,6	7,5	17,7	17,9	18,2
7	48	25/11/2019	8,5	8,0	7,8	17,7	17,8	18,2
	49	26/11/2019	7,8	7,5	7,7	18,0	18,0	18,0
8	56	3/12/2019	8,0	8,0	8,1	17,8	17,8	17,9
	58	5/12/2019	7,6	7,5	7,5	17,4	17,4	17,5
9	112	28/01/2020	6,9	7,3	7,5	18,0	18,0	18,4
	114	30/01/2020	8,2	8,1	7,5	18,0	18,2	19,0
10	119	4/02/2020	8,0	8,6	8,8	17,8	17,7	18,3
	121	6/02/2020	7,6	7,9	7,9	17,6	17,7	18,0
11	126	11/02/2020	8,9	8,9	8,1	20,2	22,0	17,6
	128	13/02/2020	8,6	8,3	8,6	22,5	22,6	23,0
12	133	18/02/2020	8,9	9,4	9,3	21,6	21,2	20,0
	135	20/02/2020	8,7	8,8	8,9	22,7	22,2	22,7
13	139	24/02/2020	8,7	8,6	8,5	18,7	19,2	18,5
	140	25/02/2020	8,9	8,7	8,7	20,5	20,7	21,0
14	146	2/03/2020	8,4	8,6	8,5	19,9	20,2	20,2
	147	3/03/2020	8,3	8,5	8,6	21,4	21,9	21,9
15	153	9/03/2020	8,4	8,3	8,4	19,4	19,2	19,4
	154	10/03/2020	8,3	8,4	8,5	22,4	22,3	20,7

**RESULTADOS DE DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS  
PLANTA DE TRATAMIENTO LAS GUACAS.  
SECTOR LOS LLANOS.**

SEMANA	FECHA	Coliformes totales UFC/100mL			Coliformes fecales UFC/100mL		
		AGUA CRUDA	SALID A FGDI	SALID A FGAC	AGUA CRUDA	SALID A FGDI	SALIDA FGAC
1	8/10/2019	976	1151	820	55,00	66	35
2	15/10/2019	1200	1770	1085	5	24	21
3	22/10/2019	1351	1388	657	76	85	49
4	29/10/2019	510	11000	10000	100	105	37
5	5/11/2019	1724	1679	1505	146	109	148
6	12/11/2019	1526	1547	846	263	189	111
7	25/11/2019	1534	1537	568	31	39	8
8	3/12/2019	483	583	392	44	35	52
9	28/01/2020	3300	4100	3069	194	239	90
10	4/02/2020	799	154	1585	119	49	45
12	18/02/2020	1410	1168	1756	173	89	84
13	25/07/2020	984	874	1649	103	50	38
14	3/03/2020	518	566	414	80	60	51
15	10/03/2020	670	947	1041	53	20	24

**PLANTA DE TRATAMIENTO LAS GUACAS.  
SECTOR LOS LLANOS.  
CONDICIONES DE OPERACIÓN**

<b>FILTRO GRUESO ASCEDENTE EN CAPAS No2</b>								
SEMANA	DIAS	FECHA	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Tiempo (s)	Caudal			Velocidad de Filtración
					(cm <sup>3</sup> /s)	L/s	m <sup>3</sup> /h	
1	1	8/10/2019	9219	5,2	1773	1,77	6,38	0,99
	2	10/10/2019	NR	NR	NR	NR	NR	NR
2	7	15/10/2019	9067	5,5	1631,5	1,63	5,87	0,91
	11	19/10/2019	12507	6,2	2041,6	2,04	7,35	1,14
3	14	22/10/2019	10720	6	1787,1	1,79	6,43	1,00
	16	24/10/2019	13400	10,6	1273,6	1,27	4,58	0,71
4	21	29/10/2019	10720	5,9	1822,2	1,82	6,56	1,02
	23	31/10/2019	23137	14,2	1662,8	1,66	5,99	0,93
5	28	5/11/2019	10720	6,4	1672,4	1,67	6,02	0,94
	30	7/11/2019	10050	6,5	1599,7	1,60	5,76	0,90
6	35	12/11/2019	6164	5,3	1163,8	1,16	4,19	0,65
	37	14/11/2019	10720	8,3	1288,9	1,29	4,64	0,72
7	48	25/11/2019	12060	14,5	837,6	0,84	3,02	0,47
	49	26/11/2019	8040	8,6	938,8	0,94	3,38	0,53
8	56	3/12/2019	8040	5,5	1466	1,47	5,28	0,82
	58	5/12/2019	12060	10,6	1140,9	1,14	4,11	0,64
9	112	28/01/2020	8040	5,1	1579,8	1,58	5,69	0,88
	114	30/01/2020	8040	5,6	1447	1,45	5,21	0,81
10	119	4/02/2020	10720	6,7	1600,1	1,60	5,76	0,90
	121	6/02/2020	10720	6,9	1548,6	1,55	5,57	0,87
11	126	11/02/2020	10720	9,3	1152,6	1,15	4,15	0,65
	128	13/02/2020	10720	6,2	1728,4	1,73	6,22	0,97
12	133	18/02/2020	10720	5,9	1822,9	1,82	6,56	1,02
	135	20/02/2020	10720	7,2	1489,6	1,49	5,36	0,83
13	139	24/02/2020	10720	6,1	1766,4	1,77	6,36	0,99
	140	25/02/2020	10720	6,5	1637,9	1,64	5,90	0,92
14	146	2/03/2020	10720	7,2	1481,7	1,48	5,33	0,83
	147	3/03/2020	10720	7,4	1458,3	1,46	5,25	0,82
15	153	9/03/2020	10720	6,8	1575	1,58	5,67	0,88
	154	10/03/2020	10720	6,4	1674,4	1,67	6,03	0,94



**PLANTA DE TRATAMIENTO LAS GUACAS.  
SECTOR LOS LLANOS.  
CONDICIONES DE OPERACIÓN**

**FILTRO GRUESO ASCEDENTE EN CAPAS No1**

SEMANA	DIAS	FECHA	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Tiempo (s)	Caudal			Velocidad Filtración
					(cm <sup>3</sup> /s)	L/s	m <sup>3</sup> /h	
9	112	28/01/2020	8040	6,2	1301,8	1,3	4,7	0,7
	114	30/01/2020	8040	4,9	1654,2	1,7	6,0	0,9
10	119	4/02/2020	10720	7,2	1496,3	1,5	5,4	0,8
	121	6/02/2020	10720	6,1	1777,3	1,8	6,4	1,0
11	126	11/02/2020	10720	9,6	1114,9	1,1	4,0	0,6
	128	13/02/2020	NR	NR	NR	NR	NR	NR
12	133	18/02/2020	10720	6,4	1675,9	1,7	6,0	0,9
	135	20/02/2020	10720	7	1542,5	1,5	5,6	0,9
13	139	24/02/2020	10720	7,2	1481,5	1,5	5,3	0,8
	140	25/02/2020	10720	6,6	1629,0	1,6	5,9	0,9
14	146	2/03/2020	10720	6,9	1561,2	1,6	5,6	0,9
	147	3/03/2020	10720	6,5	1642,1	1,6	5,9	0,9
15	153	9/03/2020	10720	7,2	1493,4	1,5	5,4	0,8
	154	10/03/2020	10720	6,8	1580,5	1,6	5,7	0,9

SEMANA	DIAS	FECHA	Perdidas de carga en cm		Velocidad de filtración	Mantenimiento
			Filtro 1	Filtro 2	Vf (m/h)	
1	1	8/10/2019	4,1	3,1	0,99	NO
	2	10/10/2019	4,1	3,4	NR	NO
2	7	15/10/2019	4,7	3,8	0,91	NO
	11	19/10/2019	3,9	3,7	1,14	NO
3	14	22/10/2019	3,6	3	1,00	NO
	16	24/10/2019	3	1,6	0,71	NO
4	21	29/10/2019	2,7	1,19	1,02	NO
	23	31/10/2019	3,5	2,8	0,93	NO
5	28	5/11/2019	4	3,1	0,94	SI
	30	7/11/2019	3,7	2,6	0,90	SI
6	35	12/11/2019	2,7	1,5	0,65	SI
	37	14/11/2019	3,8	3,3	0,72	SI
7	48	25/11/2019	2,2	1,4	0,47	SI
	49	26/11/2019	2,1	1,2	0,53	SI
8	56	3/12/2019	3,4	1,8	0,82	SI
	58	5/12/2019	2,5	2,4	0,64	SI
9	112	28/01/2020	2,6	2,1	0,88	SI
	114	30/01/2020	4,3	3,5	0,81	SI
10	119	4/02/2020	3,6	3	0,90	SI
	121	6/02/2020	3,9	4,1	0,87	SI
11	126	11/02/2020	3,4	1,8	0,65	NO
	128	13/02/2020	4,9	4,4	0,97	NO
12	133	18/02/2020	4,8	3,9	1,02	NO
	135	20/02/2020	4,4	3,5	0,83	NO
13	139	24/02/2020	4,7	4,5	0,99	NO
	140	25/02/2020	5,4	4,6	0,92	NO
14	146	2/03/2020	5,7	4,3	0,83	NO
	147	3/03/2020	5,8	5,1	0,82	NO
15	153	9/03/2020	3,9	3,2	0,88	NO
	154	10/03/2020	4	3,2	0,94	NO

**ANEXO H.  
ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARAMETROS FÍSICOS Y MICROBIOLÓGICOS.  
ANOVA SIMPLE Y PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGOS**

**RESUMEN ESTADÍSTICO PARA COLOR**

PUNTO DE MUESTREO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar
Agua Cruda	29	37,3	19,7
Salida FGDi	29	32,8	17,0
Salida FGAC	29	26,3	16,5
Total	87	32,1	18,2

PUNTO DE MUESTREO	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
Agua Cruda	52,77%	8,3	92,33	84,03
Salida FGDi	51,85%	7,67	67	59,33
Salida FGAC	62,80%	3,67	67,7	64,03
Total	56,54%	3,67	92,33	88,66

PUNTO DE MUESTREO	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Agua Cruda	2,83752	1,61061
Salida FGDi	1,20511	-0,783987
Salida FGAC	1,75366	0,382107

**TABLA ANOVA PARA COLOR POR PUNTO DE MUESTREO**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1802,2	2	901,101	2,84	0,0638
Intra grupos	26607,4	84	316,755		
Total (Corr.)	28409,6	86			

**PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA COLOR POR MUESTRA**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Salida FGAC	29	26,3	X
Salida FGDi	29	32,8	XX
Agua Cruda	29	37,3	X
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Agua Cruda - Salida FGDi		4,5	9,29454
Agua Cruda - Salida FGAC	*	11,0834	9,29454
Salida FGDi - Salida FGAC		6,58345	9,29454

\* indica una diferencia significativa.

**RESUMEN ESTADÍSTICO PARA TURBIDEZ**

MUESTRA	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
Agua Cruda	30	3,9	2,1	54,75%
Salida FGDi	30	3,3	1,4	42,94%
Salida FGAC	30	2,3	1,0	41,56%
Total	90	3,2	1,7	53,30%

MUESTRA	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado
Agua Cruda	1,6	12,7	11,1	6,32506
Salida FGDi	1,75	7,32	5,57	3,06161
Salida FGAC	1,35	5,86	4,51	4,66454
Total	1,35	12,7	11,35	10,2226

MUESTRA	Curtosis Estandarizada
Agua Cruda	11,5804
Salida FGDi	1,67095
Salida FGAC	6,40013
Total	21,381

**TABLA ANOVA PARA TURBIDEZ POR MUESTRA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	37,6796	2	18,8398	7,63	0,0009
Intra grupos	214,919	87	2,47033		
Total (Corr.)	252,598	89			

**PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA TURBIDEZ POR MUESTRA**

Método: 95,0 porcentaje LSD

MUESTRA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Salida FGAC	30	2,3	X
Salida FGDi	30	3,3	X
Agua Cruda	30	3,8	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Agua Cruda - Salida FGAC	*	1,557	0,80661
Agua Cruda - Salida FGDi		0,522	0,80661
Salida FGAC - Salida FGDi	*	-1,035	0,80661

\* indica una diferencia significativa.

---

**RESUMEN ESTADÍSTICO PARA COLIFORMES TOTALES**

---

PUNTO DE MUESTREO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar
Agua Cruda	14	1213	731,7
Salida FGDi	13	1343	958,2
Salida FGAC	13	1184	736,8
Total	40	1246	795,5

PUNTO DE MUESTREO	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
Agua Cruda	60,31%	483	3300	2817
Salida FGDi	71,32%	154	4100	3946
Salida FGAC	62,25%	392	3069	2677
Total	63,85%	154	4100	3946

PUNTO DE MUESTREO	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Agua Cruda	2,78667	3,56664
Salida FGDi	3,01717	4,40182
Salida FGAC	2,05349	1,86823
Total	4,60533	5,43562

---



---

**TABLA ANOVA PARA COLIFORMES TOTALES POR PUNTO DE MUESTREO**

---

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	188931	2	94465,5	0,14	0,8675
Intra grupos	2,45E+07	37	661956		
Total (Corr.)	2,47E+07	39			

---



---

**PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA COLIFORMES TOTALES POR PUNTO DE MUESTREO**

---

Método: 95,0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Salida FGAC	13	1183,62	X
Agua Cruda	14	1213,21	X
Salida FGDi	13	1343,38	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Agua Cruda - Salida FGDi		-130,17	634,954
Agua Cruda - Salida FGAC		29,5989	634,954
Salida FGDi - Salida FGAC		159,769	646,606

\* indica una diferencia significativa.

---

---

**RESUMEN ESTADÍSTICO PARA E. COLI**

---

Punto de Muestreo	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	
Agua Cruda	14	103	70,8	
Salida FGAC	14	57	38,5	
Salida FGDi	14	83	62,9	
Total	42	81	60,7	

Punto de Muestreo	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
Agua Cruda	68,77%	5	263	258
Salida FGAC	68,05%	8	148	140
Salida FGDi	76,05%	20	239	219
Total	75,15%	5	263	258

Punto de Muestreo	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Agua Cruda	1,34574	0,389545
Salida FGAC	1,81709	0,837446
Salida FGDi	2,36543	1,60439
Total	3,55733	2,00553

---

**TABLA ANOVA PARA E. coli POR PUNTO DE MUESTREO**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	15124,9	2	7562,45	2,17	0,1280
Intra grupos	136064,	39	3488,81		
Total (Corr.)	151188,	41			

---

**PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA E. coli POR PUNTO DE MUESTREO**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Salida FGAC	14	57	X
Salida FGDi	14	83	XX
Agua Cruda	14	103	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Agua Cruda - Salida FGAC	*	46,3571	45,1565
Agua Cruda - Salida FGDi		20,2143	45,1565
Salida FGAC - Salida FGDi		-26,1429	45,1565

\* indica una diferencia significativa.

---

ANEXO I.

RESULTADOS DE DETERMINACIÓN DE *H. PYLORI* EN EL AGUA DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO LAS GUACAS, SECTOR LOS LLANOS.

PUNTO DE MUESTREO		AGUA CRUDA		SALIDA FGDi		SALIDA FGAC	
SEMANA	FECHA	M1	M2	M3	M4	M5	M6
1	8/10/2019	(-)	(-)	Pos	(-)	(-)	(-)
2	15/10/2019	(-)	(-)	Pos	Pos	(-)	(-)
3	22/10/2019	(-)	(-)	(-)	Pos	Pos	Pos
4	29/10/2019	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5	5/11/2019	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	12/11/2019	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	25/11/2019	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
8	3/12/2019	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
9	28/01/2020	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
10	4/02/2020	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
11	11/02/2020	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
12	18/02/2020	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Pos
13	25/07/2020	Pos	Pos	Pos	Pos	(-)	Pos
14	3/03/2020	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Pos
15	10/03/2020	Pos	(-)	(-)	(-)	Pos	(-)

M1= muestra 1 entrada de agua cruda

M2= muestra 2 entrada de agua cruda

M3= muestra 1 en la salida del FGDi

M4= muestra 2 en la salida del FGDi

M5= muestra 1 en la salida del FGAC

M6= muestra 2 en la salida del FGAC

Pos= positivo para presencia de ADN de *H. pylori*.

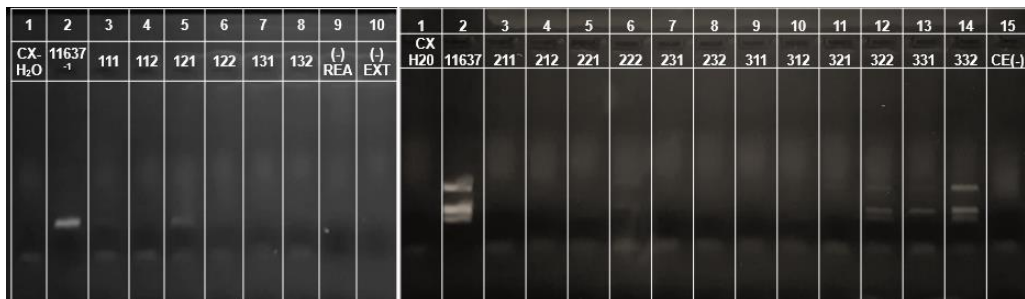
(-) = negativo para presencia de ADN de *H. pylori*.

### Placas de Electroforesis. Límite de detección.



Con la metodología empleada para la amplificación del ADN de la cepa de referencia 11637hp, se determinó la sensibilidad de la técnica usando diluciones 1:10 sucesivas cinco veces, a partir de una concentración de 26.7ng/ $\mu$ L, logrando la visualización del ADN por electroforesis hasta una dilución equivalente a  $10^{-4}$  carril 11, equivalente a  $26.71 \times 10^{-4}$  ng/ $\mu$ L con un contenido de 0.0016ng de ADN.

### Semanas 1 a 3



### Semanas 4- 7





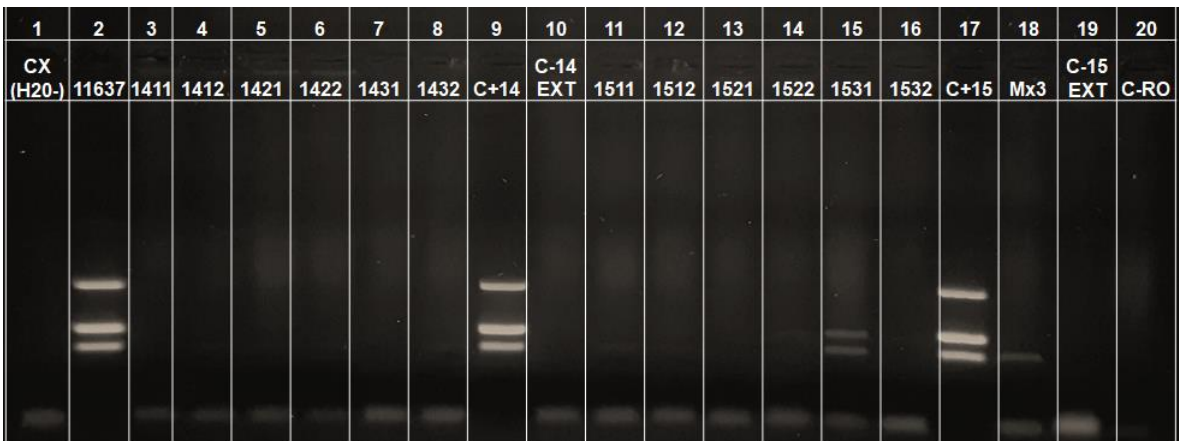
### Semana 8-10



### Semanas 11,12 y13



### Semanas 14 y 15



**ANEXO J.**  
**CORRELACIÓN DE SPEARMAN ENTRE PARÁMETROS FÍSICOS,**  
**MICROBIOLÓGICOS vs *H. PYLORI***

<b>Rho de Spearman. Correlaciones Agua Cruda</b>						
		H pylori agua cruda	Turbiedad agua cruda	Color agua cruda	Coliformes Totales	Coliformes Fecales
H pylori agua cruda	Coefficiente de correlación	1,000	0,072	-0,494	-0,029	0,079
	Sig. (bilateral)		0,806	0,073	0,922	0,787
	N	14	14	14	14	14
Turbiedad agua cruda	Coefficiente de correlación	0,072	1,000	,736**	0,424	0,477
	Sig. (bilateral)	0,806		0,003	0,131	0,085
	N	14	14	14	14	14
Color agua cruda	Coefficiente de correlación	-0,494	,736**	1,000	0,503	0,358
	Sig. (bilateral)	0,073	0,003		0,067	0,208
	N	14	14	14	14	14
Coliformes Totales	Coefficiente de correlación	-0,029	0,424	0,503	1,000	0,424
	Sig. (bilateral)	0,922	0,131	0,067		0,131
	N	14	14	14	14	14
Coliformes Fecales	Coefficiente de correlación	0,079	0,477	0,358	0,424	1,000
	Sig. (bilateral)	0,787	0,085	0,208	0,131	
	N	14	14	14	14	14

\*\*. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

### Rho de Spearman. Correlaciones Salida del Filtro Dinámico

		H pylori FGDI	Turbiedad FGDI	Color FGDI	Coliformes Totales	Coliformes Fecales
H pylori FGDI	Coeficiente de correlación	1,000	-0,210	-0,287	0,144	-0,066
	Sig. (bilateral)		0,471	0,319	0,624	0,822
	N	14	14	14	14	14
Turbiedad FGDI	Coeficiente de correlación	-0,210	1,000	,675**	-0,116	0,358
	Sig. (bilateral)	0,471		0,008	0,692	0,208
	N	14	14	14	14	14
Color FGDI	Coeficiente de correlación	-0,287	,675**	1,000	0,081	,543*
	Sig. (bilateral)	0,319	0,008		0,782	0,045
	N	14	14	14	14	14
Coliformes Totales	Coeficiente de correlación	0,144	-0,116	0,081	1,000	0,516
	Sig. (bilateral)	0,624	0,692	0,782		0,059
	N	14	14	14	14	14
Coliformes Fecales	Coeficiente de correlación	-0,066	0,358	,543*	0,516	1,000
	Sig. (bilateral)	0,822	0,208	0,045	0,059	
	N	14	14	14	14	14

\*\* . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

### Correlaciones salida Filtro Ascendente en Capas

		Hp FGAC	Turbiedad FGAC	Color FGAC	Ctotales FGAC	Cfecales FGAC
Hp FGAC	Coeficiente de correlación	1,000	0,205	-0,263	-0,096	-0,010
	Sig. (bilateral)		0,481	0,364	0,744	0,972
	N	14	14	14	14	14
Turbiedad FGAC	Coeficiente de correlación	0,205	1,000	,556*	-0,099	0,499
	Sig. (bilateral)	0,481		0,039	0,737	0,069
	N	14	14	14	14	14
Color FGAC	Coeficiente de correlación	-0,263	,556*	1,000	-0,213	0,297
	Sig. (bilateral)	0,364	0,039		0,464	0,303
	N	14	14	14	14	14
Ctotales FGAC	Coeficiente de correlación	-0,096	-0,099	-0,213	1,000	0,134
	Sig. (bilateral)	0,744	0,737	0,464		0,648
	N	14	14	14	14	14
Cfecales FGAC	Coeficiente de correlación	-0,010	0,499	0,297	0,134	1,000
	Sig. (bilateral)	0,972	0,069	0,303	0,648	
	N	14	14	14	14	15

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).