

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**TESIS:**

**Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica  
en aguas del río Alameda y Huatatas - Ayacucho 2021**

Para optar el título profesional de:

**BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS**

**ASESOR:**

**Dr. José ALARCÓN GUERRERO**

**AYACUCHO - PERÚ**

**2025**

A mis padres y hermanas, por  
su amor y apoyo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y a la Facultad de Ciencias Biológicas, por proporcionarme un espacio de aprendizaje y crecimiento en cada etapa de mi formación.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a su plana docente de la Escuela Profesional de Biología, por ser el lugar que me brindó las oportunidades necesarias para desarrollarme plenamente como persona, fortalecer mis conocimientos académicos, explorar el ámbito científico y prepararme para enfrentar los desafíos del mundo profesional.

Al Dr. José Alarcón Guerrero asesor principal, cuyo valioso respaldo y orientación fueron fundamentales en el desarrollo de este proyecto.

A los biólogos Ana María Cancho Cuba, docente de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Escuela Profesional de Biología, por su valioso asesoramiento, paciencia y orientación, que hicieron posible la realización y culminación de este trabajo de investigación.

Al biólogo Walter Cépida Lahuana, por su invaluable guía y su constante apoyo, los cuales fueron fundamentales para llevar a cabo y finalizar este trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	5
2.1.3. Antecedentes locales	5
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. Colífago	6
2.2.2. Virión	6
2.2.3. Calva	6
2.2.4. Capsómero	6
2.2.5. Célula hospedadora	6
2.2.6. Ruta lisogenia	6
2.2.7. ATCC 13076	6
2.3. Bases teóricas	6
2.3.1. Virus indicadores de contaminación en aguas de ríos	6
2.3.2. Bacteriófagos	7
2.3.3. Importancia ecológica y sanitaria de los bacteriófagos	13
2.3.4. Detección y recuento de virus: el ensayo de calvas	14
2.3.5. Factores ambientales y su influencia en los bacteriófagos	15
2.3.6. Bacterias indicadoras de contaminación en aguas de ríos	17
2.3.7. <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076	19
2.3.8. Factores que afectan la calidad de agua en ríos	19
2.4. Marco legal y normativo	20
III. MATERIALES Y METODOS	21
3.1. Zona de estudio, ubicación política y geográfica área de estudio	21

3.2.	Población	22
3.3.	Muestra	22
3.4.	Sistema de muestreo	22
3.5.	Metodología y recolección de datos	23
3.5.1.	Procedimiento pre analítico	23
3.5.2.	Procedimiento analítico	23
3.5.3.	Procedimiento post analítico	24
IV.	RESULTADOS	25
V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	42
VII.	RECOMENDACIONES	43
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
	ANEXOS	49

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1</b> <i>Ubicación política y geográfica de los ríos Alameda y Huatatas.</i>	21
<b>Tabla 2</b> <i>Datos de radiación solar (<math>W/m^2</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde.</i>	57
<b>Tabla 3</b> <i>Datos registrados de pH y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la mañana.</i>	57
<b>Tabla 4</b> <i>Datos registrados de pH y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la tarde.</i>	58
<b>Tabla 5</b> <i>Datos de temperatura (<math>^{\circ}C</math>) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la mañana.</i>	58
<b>Tabla 6</b> <i>Datos de temperatura (<math>^{\circ}C</math>) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la tarde.</i>	59
<b>Tabla 7</b> <i>Datos de radiación solar (<math>W/m^2</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde del río Alameda.</i>	60
<b>Tabla 8</b> <i>Datos registrados de pH y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana y tarde.</i>	60
<b>Tabla 9</b> <i>Datos registrados de Temperatura (<math>^{\circ}C</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana.</i>	61
<b>Tabla 10</b> <i>Datos registrados de Temperatura (<math>^{\circ}C</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la tarde.</i>	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> <i>Replicación viral de los bacteriófagos.</i>	10
<b>Figura 2</b> <i>Receptores de bacteriófagos que infectan a Escherichia coli.</i>	11
<b>Figura 3</b> <i>Mapa de ubicación de los puntos de muestreo de los ríos Alameda y Huatatas.</i>	12
<b>Figura 4</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante. Toma de Muestras en la Mañana (<math>r</math>=correlación de Pearson).</i>	26
<b>Figura 5</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas. Toma de Muestras en la tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	27
<b>Figura 6</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la mañana (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	28
<b>Figura 7</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante Toma de Muestras en la Tarde (<math>r</math>=correlación de Pearson).</i>	29
<b>Figura 8</b> <i>Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la Mañana y tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	30
<b>Figura 9</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda. Toma de Muestras en la mañana. (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	31
<b>Figura 10</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	32
<b>Figura 11</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	33
<b>Figura 12</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante Toma de Muestras en la tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	34
<b>Figura 13</b> <i>Efecto del pH sobre la Concentración de Fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana.</i>	35
<b>Figura 14</b> <i>Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde.</i>	36

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1.</b> Punto 1 de muestreo del río Huatatas.	50
<b>Anexo 2.</b> Punto 2 de muestreo del río Huatatas.	51
<b>Anexo 3.</b> Punto 3 de muestreo del río Huatatas.	51
<b>Anexo 4.</b> Punto 1 de muestreo del río Alameda.	52
<b>Anexo 5.</b> Punto 2 de muestreo del río Alameda.	53
<b>Anexo 6.</b> Punto 3 de muestreo del río Alameda.	53
<b>Anexo 7.</b> Toma de muestra en el punto 2 del río Alameda.	54
<b>Anexo 8.</b> Registro de temperatura en el punto 1 de río Huatatas.	54
<b>Anexo 9.</b> Registro de pH y Cloro kit en cada punto de muestreo.	55
<b>Anexo 10.</b> Materiales para el filtrado de muestras de agua de los ríos.	55
<b>Anexo 11.</b> Observación de UFP en muestras de agua de río.	56
<b>Anexo 12.</b> Datos registrados en campo del río Huatatas.	57
<b>Anexo 13.</b> Datos registrados en campo del río Alameda.	60
<b>Anexo 14.</b> Matriz de consistencia.	62

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación titulado: Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas, Ayacucho 2021, tuvo como objetivo principal determinar la cantidad de colifagos en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas, empleando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076. Además, se evaluó el efecto de factores ambientales como la radiación solar, temperatura, pH y cloro sobre los colifagos presentes en estos cuerpos de agua. Las muestras de agua se recolectaron cada 10 días durante un total de 12 fechas, abarcando los meses de septiembre y noviembre de 2023. La investigación fue de tipo descriptiva. Los resultados fueron analizados mediante gráficos en Excel y correlaciones de Pearson utilizando el programa estadístico Minitab. Se realizaron muestreos en tres puntos de cada río, donde se midieron parámetros ambientales in situ y se recolectaron muestras de agua para su análisis en laboratorio. A través del método de filtro al vacío, se obtuvieron suspensiones de bacteriófagos, las cuales se sembraron en placas de agar utilizando la cepa receptora *E. coli* ATCC 13076. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, observándose calvas de 1 a 2 mm en las placas positivas. Posteriormente, se cuantificaron las Unidades Formadoras de Placa (UFP). Se encontró que factores como la radiación solar y la temperatura influyen significativamente en la cantidad de colifagos. Este estudio valida el uso de los colifagos como indicadores de calidad microbiológica del agua y aporta conocimiento sobre su comportamiento frente a distintos factores ambientales, lo cual resulta relevante para la gestión y el monitoreo de la calidad de agua en los ríos.

**Palabras clave:** colifagos, calvas, factores ambientales, indicadores, ríos.

## I. INTRODUCCIÓN

La contaminación de los cuerpos de agua es un problema crítico a nivel mundial debido a su impacto en la salud pública, la biodiversidad y las actividades humanas (Paz y Miño 2003). En particular, la presencia de microorganismos fecales en el agua representa un riesgo significativo, especialmente en regiones donde los ríos son utilizados para consumo humano, riego y actividades recreativas. La necesidad de contar con indicadores microbiológicos eficientes para monitorear la calidad del agua ha llevado a investigaciones sobre los colifagos, virus que infectan bacterias coliformes como *Escherichia coli*, debido a su capacidad de reflejar la contaminación fecal de manera precisa (Punil, 2017). Los colifagos son indicadores eficaces de contaminación fecal en aguas contaminadas, su incapacidad para reproducirse fuera del huésped, indicador de una contaminación fecal reciente (Enríquez, 2011) y su detección rápida mediante métodos sencillos. Estas características los convierten en una herramienta clave para evaluar la calidad del agua (Díaz, 2017).

En Ayacucho, Perú, los ríos Alameda y Huatatas son fuentes hídricas, pero enfrentan presiones ambientales y fuentes de contaminación fecal. Esto plantea la necesidad de evaluar su calidad microbiológica, especialmente en el contexto de su uso por las comunidades cercanas. Sin embargo, existe poca información específica sobre la relación entre factores ambientales y la cantidad de colifagos en estos ríos, lo que dificulta implementar estrategias efectivas de monitoreo y control. El enfoque de la investigación es descriptivo, ya que se busca determinar la cantidad de colifagos en las aguas de los ríos Alameda y Huatatas, así como evaluar cómo factores ambientales como la radiación solar, temperatura, pH y cloro afectan su presencia y concentración para lo cual se realizaron mediciones in situ. Se llevaron a cabo muestreos periódicos en tres puntos de cada río, seleccionados en función de su accesibilidad y relevancia para el estudio. El

estudio de los colifagos como indicadores de contaminación fecal en los ríos de Ayacucho tiene implicaciones directas para mejorar el monitoreo de la calidad del agua en la región. La información reportada en este trabajo busca servir de guía para promover la educación en las comunidades cercanas sobre la importancia de la conservación del agua y el impacto de la contaminación fecal en la salud pública, alentando prácticas sostenibles y el cuidado de los recursos hídricos. Establecer un programa de monitoreo regular de los colifagos y los parámetros ambientales en los cuerpos de agua, para garantizar que se mantengan dentro de los límites de seguridad para la salud pública.

La presente investigación tuvo como objetivo general determinar el número de colifagos utilizando la cepa receptora de *Escherichia coli* ATCC 13076 en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas. Asimismo, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar el efecto de la radiación solar en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.
2. Determinar el efecto de la temperatura en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.
3. Determinar el efecto del pH en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.
4. Determinar el efecto del cloro en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. Antecedentes internacionales

Judson y Rosa (2024) tuvieron como objetivo aislar bacteriófagos de ríos y aguas residuales urbanas en Curitiba, Paraná, en el sur de Brasil. El análisis de laboratorio reveló características distintivas en la macromorfología de las placas de fagos de *Escherichia coli*, representando varios morfotipos. La obtención de estos datos es un proceso relativamente rápido y barato, lo que destaca la importancia del cribado primario para la recuperación exitosa de fagos que serán utilizados posteriormente en la lucha contra *E. coli* a través de la tecnología de fagos.

Granda (2021) llevó a cabo una investigación cuyo objetivo fue aislar bacteriófagos con la capacidad de inhibir el crecimiento de cepas de *Listeria spp.* resistentes a antibióticos. Para ello, se recolectaron muestras de agua del río Machángara, en Ecuador, un entorno propicio para la presencia de bacteriófagos debido a sus altos niveles de contaminación. El aislamiento de los virus se realizó mediante la técnica de doble capa. Posteriormente, se evaluó su capacidad lítica frente a las bacterias objetivo y se procedió a concentrarlos con el fin de obtener una mayor cantidad de unidades formadoras de placa (UFP). Finalmente, los bacteriófagos fueron almacenados para su conservación.

Hall y Ramírez (2021) tuvieron el objetivo principal de su investigación aislar y caracterizar bacteriófagos competentes contra cepas ATCC de *E. coli*, y *Salmonella spp.* a partir de muestras de aguas residuales. Para ello, se aislaron cinco bacteriófagos procedentes de la Planta de Tratamiento de Agua Residuales (PTAR) de la Ciudad de Panamá, denominando a los aislados de *E. coli*. Estos fueron caracterizados con respecto a su rango de hospederos, sensibilidad al cloroformo, estabilidad ante diferentes rangos de pH, temperatura y exposición a

la luz UV; obteniendo como resultado que los 5 fagos son sensibles al cloroformo, se ven favorecidos de manera general en pH alcalinos y temperaturas ente 25° y 50°C; al ser expuestos a la luz UV, en la mayoría se observó una reducción significativa.

Bracho y Morón (2008) tuvieron como objetivo la evaluación de bacteriófagos en muestras de agua para consumo humano de la ciudad de Maracaibo, Venezuela. La concentración de bacteriófagos somáticos de *E. coli* y F-específicos. Como resultado se observó que el 35,6% de colífagos en concentraciones comprendidas entre 0,2 y 2,4 UFP/100 mL. El 82,9% de las muestras presentaron valores por encima de lo establecido en la normativa venezolana para la calidad del agua de consumo. En el 17,1% de las muestras que sí cumplían la normativa se detectó la presencia de bacteriófagos (42,8%), lo que implica un riesgo para la salud pública y pone en evidencia la necesidad de la validación de los procesos de tratamiento y potabilización del agua para consumo, así como la necesidad del monitoreo periódico de la calidad virológica del agua que es consumida por la población.

Blanco (2021), tuvo como objetivo de su estudio caracterizar bacteriófagos aislados de aguas residuales del Río Abajo, en Panamá, con capacidad antimicrobiana contra el complejo *Enterobacter cloacae*. Para el aislamiento de los fagos, se utilizó una muestra de agua del río y se aplicaron los métodos de enriquecimiento y doble capa de agar. Posteriormente, se llevaron a cabo ensayos de caracterización que incluyeron la evaluación de su estabilidad frente a diferentes valores de pH, temperaturas, exposición a luz ultravioleta (UV), sensibilidad al cloroformo y especificidad frente a huéspedes bacterianos. Se logró aislar un fago con placas de lisis claras, redondeadas, de entre 6 y 9 mm de diámetro, con una concentración de  $4.7 \times 10^7$  UFP/mL. En cuanto al pH, el fago mostró mayor estabilidad en el rango de 7 a 10. Respecto a la temperatura, se observó una mayor estabilidad a 37°C y 50°C. Finalmente, en la prueba de exposición a luz UV, se detectó que durante los primeros 15 minutos la capacidad de replicación del fago disminuyó hasta llegar a cero.

Santander y Robeson (2002) ,tuvieron como objetivo aislar fagos de *Salmonella enteritidis* en muestras procedentes de la industria avícola, lográndose aislar tres bacteriófagos líticos esta investigación se realizó en Chile. Los fagos fueron caracterizados, mediante técnicas bacteriológicas y moleculares, y se evaluó la actividad lítica "in vitro". Así mismo, son estables a 37 °C, pero su estabilidad comienza a decaer a temperaturas superiores a 45°C. También, toleran un amplio rango de pH entre 4 y 12.

### **2.1.2. Antecedentes nacionales**

García y Nicho (2018) su objetivo de este estudio fue aislar bacteriófagos dirigidos contra *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente a partir de muestras de agua recolectadas en tres ríos de la provincia de Lima, Perú. Los fagos fueron exitosamente aislados a partir de las muestras provenientes de los ríos Rímac y Chillón. Además, se evaluó la estabilidad térmica de los lisados a diferentes temperaturas (50 °C, 60 °C, 70 °C y 80 °C), destacando el lisado denominado LR2, que mostró mayor estabilidad a 50 °C y fue capaz de resistir temperaturas de 60 °C y 70 °C durante periodos cortos de tiempo.

Pacheco (2016) llevó a cabo una investigación con el propósito de encontrar bacteriófagos líticos específicos contra cepas nosocomiales de *Acinetobacter baumannii*, como una alternativa terapéutica al uso de antibióticos, conocida como fagoterapia. El estudio tuvo como objetivo aislar 48 bacteriófagos en las ciudades de Lima e Iquitos. Las placas de lisis observadas presentaron diámetros superiores a 1 mm, algunas con halos de hasta 5.2 mm de diámetro.

Paz y Miño (2003) evaluaron la eficacia del tratamiento del agua del río Rímac mediante decantación, filtración y cloración. Se cuantificaron colifagos, utilizando métodos de Capa Simple, Filtro de Membrana. Las muestras sin tratamiento contenían un promedio de 2267,25 UFP/100 mL de colifagos, mientras que las muestras tratadas presentaron reducciones progresivas hasta 1,07 UFP/100 mL tras la cloración.

### **2.1.3. Antecedentes locales**

Méjico (2011) realizó su trabajo de investigación sobre el recuento de coliformes fecales, coliformes totales y colifagos en agua de consumo humano en la comunidad de Uchuypampa, Ayacucho. En las fuentes de agua no tratada, se detectó una concentración de 910 UFP/100 mL de colifagos, 171 NMP/100 mL de coliformes totales y 114 NMP/100 mL de coliformes fecales. Tras el tratamiento del agua, la presencia de colifagos se redujo a 42 UFP/100 mL, mientras que los coliformes totales y fecales disminuyeron a menos de 2 NMP/100 mL. Estos resultados indican que el agua consumida por la comunidad aún presenta contaminación microbiológica.

El estudio realizado por Ango y Guevara (1999) evaluó la presencia de colifagos en diferentes fuentes de agua en la región de Ayacucho. Los resultados mostraron que, en muestras de agua de Riachuelo Alameda, Poza de oxidación Totorilla, Pozo Luricocha y Pileta pública de Huanta, los valores de colifagos oscilaron entre

11 y 43 UFP/mL. Sin embargo, en las muestras de agua potable de la ciudad de Ayacucho no se detectó la presencia de colífagos, lo que indicaría una mejor calidad microbiológica en comparación con las otras fuentes analizadas.

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Colífago**

Los colífagos son virus que infectan específicamente a bacterias del género *Escherichia coli* y usan estos para su replicación (Hall & Ramírez, 2021).

### **2.2.2. Virión**

Un virión es una partícula viral capaz de causar infección, compuesta por un genoma viral encapsulado dentro de una cubierta proteica (Primrose, 1976).

### **2.2.3. Calva**

Región de destrucción celular generada por la inhibición del crecimiento de células hospedadoras sensibles, provocada por la acción de un fago (Espejo , 1980).

### **2.2.4. Capsómero**

El capsómero es la sub unidad estructural que forma a la cápside de un virus siendo compuesto por proteínas que se establecen para formar estructuras más grandes y regular la cápside (Paz y Miño, 2003).

### **2.2.5. Célula hospedadora**

Célula en la que un virus se replica. Su maquinaria celular permite llevar a cabo los procesos de replicación, transcripción y traducción necesarios para producir la proteína codificada (Madigan y Martinko, 2009).

### **2.2.6. Ruta lisogenia**

El genoma del virus se replica al mismo tiempo que el genoma del hospedador (Madigan y Martinko, 2009).

### **2.2.7. ATCC 13076**

ATCC 13076 es el número de catálogo de una cepa de referencia de *Escherichia coli*, mantenida y distribuida por la American Type Culture Collection (ATCC). Este organismo es utilizado ampliamente en investigaciones científicas, ensayos de laboratorio y aplicaciones industriales debido a sus características bien definidas. Se utiliza como control positivo en pruebas de calidad y ensayos de susceptibilidad antimicrobiana.

## **2.3. Bases teóricas**

### **2.3.1. Virus indicadores de contaminación en aguas de ríos**

Los virus entéricos, que son eliminados a través de las heces de personas infectadas, pueden ser transmitidos al hombre a través del agua ( Pulido, 2005).

Los más comunes son los virus causantes de gastroenteritis y el virus de la hepatitis. Los indicadores tradicionales de contaminación bacteriana no evalúan de manera eficiente la presencia o ausencia de virus en el agua, ya que algunos virus son más resistentes a la desinfección que los organismos coliformes (Olivas 2011). Debido a estas dificultades, se han buscado indicadores alternativos como los fagos, que son de rápida y fácil detección y permiten prever el comportamiento de los enterovirus en el medio ambiente( García, 2011).

La presencia de virus en las aguas es un tema de preocupación debido a su abundancia y potencial impacto en la calidad del agua. Los virus, incluyendo los bacteriófagos, son los entes más abundantes en el planeta. En un litro de agua de mar de la costa, existen más virus que personas en el planeta, lo que resalta su inmensa abundancia(García y Ortiz, 2004). Además, se ha determinado que cada mililitro de agua de mar contiene millones de partículas virales, y su abundancia es aún mayor en sedimentos marinos superficiales cercanos a la costa, con una concentración de  $10^8$  a  $10^9$  virus por  $\text{cm}^3$  (Jorquera, 2015).

Los colífagos, un tipo de bacteriófago, son utilizados como indicadores de la eficacia del proceso de remoción microbiana en plantas de tratamiento de agua, debido a su resistencia a los procesos de tratamiento en comparación con las bacterias indicadoras convencionales.

### **2.3.2. Bacteriófagos**

Los bacteriófagos son virus que infectan de manera específica a las bacterias. Su existencia fue observada por primera vez en 1896, cuando Ernest Hanbury Hankin identificó un principio biológico en el agua de los ríos de la India que eliminaba cultivos de bacterias causantes del cólera. Más adelante, en 1915, Frederick Twort describió un agente filtrable capaz de lisar bacterias, aunque no podía reproducirse por sí solo. Posteriormente, en 1917, Félix d'Herelle realizó estudios independientes en los que acuñó el término *bacteriófago* (del griego *phagein*, que significa "comer") en referencia a la capacidad de estos virus de destruir bacterias. D'Herelle también investigó su uso en el biocontrol y la fagoterapia (Águilas, 2019; Montes de Oca, 2019).

Los bacteriófagos, también conocidos como fagos, se encuentran en todas partes, con una estimación de  $10^{31}$  (Brown Jaque, 2018). Los fagos están presentes en todos los entornos donde se encuentran altas concentraciones de bacterias, como en el agua, aguas residuales, suelo o sedimentos (Segundo., 2010) y en alimentos (García, 2010). Además, se encuentran en ecosistemas extremos como las

profundidades marinas, lagos con pH alcalino (pH 10), salinas (diez veces más saladas que el océano), aguas termales ácidas (a 80 °C), lagos polares y el subsuelo. Terrestre a más de 2.000 metros de profundidad, así como en cualquier lugar donde esté presente su bacteria huésped (Kutateladze y Adamia, 2010). En los seres humanos, se han aislado diversos fagos en el intestino, la orina y la cavidad oral (Borie y Navarro, 2007).

#### **a. Estructura de los bacteriófagos**

Su tamaño varía entre 20 y 200 nm. Su material genético puede estar compuesto por ADN aproximadamente el 96% de los bacteriófagos y el 4 % restante tiene genoma de ARN de doble o cadena simple y está protegido por una cubierta llamada cápside (García Salazar, 2018). La forma en que las proteínas se distribuyen alrededor del material genético define la complejidad estructural y la forma al fago, como icosaédricos y filamentosos. (Segundo y Hernández, 2010).

La bacteriófagos tiene una estructura compleja que se compone de varias partes, cada una con funciones específicas:

- **Cápside (Cabeza)**

La cabeza de un bacteriófago, también conocida como cápside, está formada por proteínas como son la 23, 24 y 20 que rodean y protegen el material genético (ADN o ARN) y permite la transferencia segura de este material a la bacteria huésped durante la infección. La información necesaria para el plegado y ensamblado correcto de las proteínas víricas en capsómero y posteriormente formando la cápside esta incorporado en la secuencia de aminoácidos de las proteínas víricas, el ensamblado del virión es un proceso espontaneo llamado "autoensamblado", existen casos donde se necesita proteínas ensambladoras de la célula hospedera para un correcto plegamiento y ensamblado por ejemplo la proteína de la cápside del bacteriófago lambda necesita a la chaperonina GroE de *Escherichia coli* para plegarse (Madigan y Martinko, 2009). La cápside tiene una estructura muy organizada y puede tener forma filamentosa o forma de bastón e icosaédrica o esférica. Esta última presenta 20 caras triangulares y 12 vértices formándose por 180,240 o 360 capsómeros , como en el caso de muchos fagos de tipo T4 (Primrose, 1976).

- **Cola**

Actúa como un mecanismo de inyección para transferir el material genético del fago a la célula bacteriana en los fagos  $\lambda$  la cola no es contráctil y en fagos como el T4 se muestra una cola contráctil y el cual se subdivide en tres partes los cuales

son : Vaina de la Cola este rodea el tubo interno de la cola y puede contraerse para ayudar a inyectar el ADN en la bacteria (Primrose, 1976), tubo de la Cola es una estructura hueca a través de la cual se introduce el material genético en la bacteria y las proteínas de Base al final de la cola, muchos fagos tienen una placa basal con puntas y espículas que ayudan a anclar el fago a la célula bacteriana y perforar la pared celular. La proteína 19 presente en la cola forma el tubo central de la cola donde se transfiere el material genético y la proteína 18 forma parte de la cola contráctil (Aguilar Montes de oca, 2019).

- **Fibras de la cola**

Las fibras de la cola en los fagos con estructura de cola están compuestas por proteínas que se extienden desde la placa basal. Estas fibras contienen receptores específicos, lo que confiere a los fagos la capacidad de infectar únicamente ciertos tipos de bacterias (Kutter & Sulakvelidze, 2004). Las proteínas 37 y 38 forman las fibras largas de la cola, las cuales se extienden desde la placa basal y son cruciales para reconocer y unirse a receptores específicos en la célula huésped, como los lipopolisacáridos en *E. coli*. Por otro lado, las proteínas 34, 35 y 36 constituyen las fibras cortas de la cola, que participan en la adhesión inicial del fago a la célula bacteriana (Espejo T, 1980). Si bien las fibras largas son esenciales para el reconocimiento del huésped, las fibras cortas contribuyen a estabilizar esta unión (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

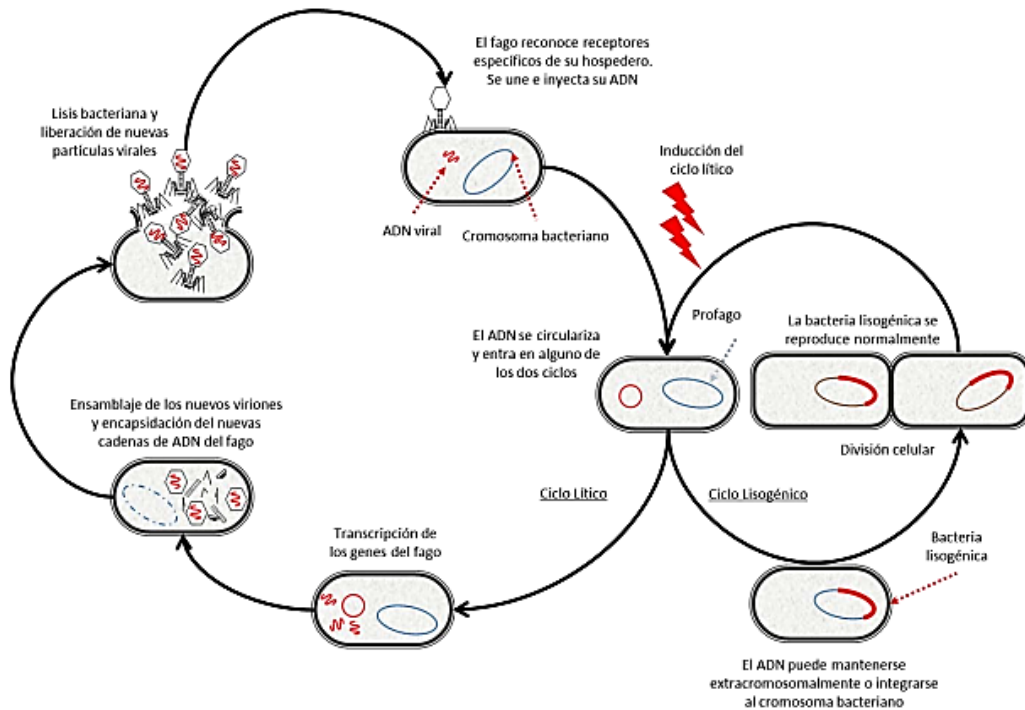
- **Placa basal**

Ubicada en la base de la cola del fago, es donde se anclan sus fibras. En fagos como el T4, esta estructura permite fijar el fago a la bacteria y contiene proteínas que ayudan a perforar la pared celular al inicio de la infección. Entre estas proteínas se encuentra la proteína 5 destaca por su actividad enzimática tipo lisozima, que facilita la perforación. También están la proteína 27 y 12, esenciales para el anclaje firme y la perforación inicial, mientras que la proteína 25 contribuye a estabilizar la placa basal y puede intervenir en la lisis de la pared celular (Osorio, 2015).

## b. Replicación viral

Figura 1

Replicación viral de los bacteriófagos



**Nota:** Esquema de la replicación viral tanto ciclo lítico y lisogénico (Sánchez, 2016).

### • Adsorción

La adsorción en bacteriófagos es el paso inicial fundamental en la infección de una bacteria. Este proceso involucra la unión específica del bacteriófago a la superficie de la célula bacteriana (Blanco, 2022). La interacción entre el fago y la bacteria comienza con el reconocimiento de la célula huésped, en el cual el bacteriófago, a través de proteínas especializadas presentes en su cápside (por lo general en la estructura de la cola), se une a receptores específicos en la superficie de la bacteria. Estos receptores pueden ser proteínas, lípidos o componentes de los polisacáridos en la pared celular o la membrana externa (Dominick, 2017).

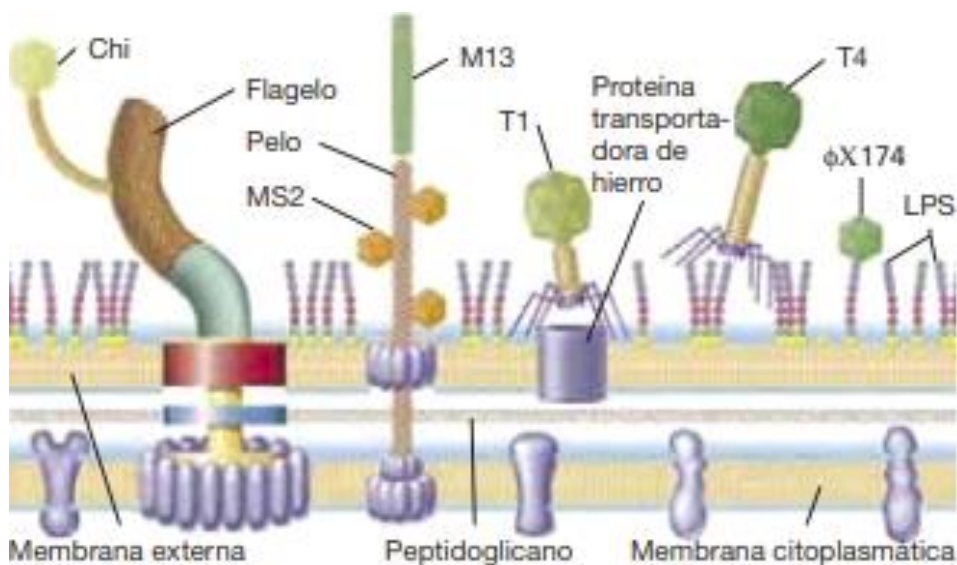
Los receptores son estructuras en la superficie de la bacteria a las que el fago se une, como lo siguiente (Primrose, 1976):

- ✓ Polisacáridos: Algunas bacterias tienen polisacáridos en su superficie, como los lipopolisacáridos (LPS) en las bacterias gramnegativas, que sirven como puntos de anclaje para los fagos.
- ✓ Teicoicos o ácido lipoteicoico: En bacterias grampositivas, estos componentes presentes en la pared celular pueden actuar como receptores.

El reconocimiento de estos receptores es muy específico, un fago solo puede reconocer bacterias con los receptores adecuados. Esta es la razón por la que ciertos fagos solo infectan ciertos tipos de bacterias (Flores, 2017). La adherencia a la bacteria ocurre cuando las fibras de la cola del bacteriófago (en fagos con cola, como el T4) se conectan con los receptores de la célula bacteriana, lo que da lugar a una unión irreversible que fija al fago a la bacteria en los bacteriófagos T4, el anclaje inicial de este fago a los receptores de la superficie de la bacteria se hace mediante los extremos distales de las fibras largas de la cola, estas se adhieren dejando espacio distancia del centro de la partícula fágica, luego este último es atraído por la superficie celular. Existen otros tipos de adsorción los cuales son mediante los pelos sexuales donde las bacterias que albergan el factor sexual F o factores de resistencia a las drogas producen pelos, los fagos con ADN filamentososo o monocatenario se absorben a los extremos de los pelos y los fagos esféricos con ARN se absorben lateralmente y a lo largo del pelo (Primrose, 1976). Las partículas del fago pueden unirse de forma reversible cuando el bacteriófago se enlaza temporalmente al receptor de la bacteria. En esta etapa, la unión puede romperse si las condiciones no son propicias, como un pH inadecuado o la insuficiencia de receptores. La fase irreversible ocurre cuando las condiciones son óptimas y el fago se adhiere firmemente a su receptor, formando una unión definitiva que marca el inicio del proceso infeccioso, el cual ya no puede ser detenido (Primrose, 1976).

**Figura 2**

*Receptores de bacteriófagos que infectan a Escherichia coli*



**Nota:** En la figura se observa los diferentes receptores y tipos de bacteriófagos que infectan a la bacteria *Escherichia coli* (Madigan y Martinko, 2009).

- **Penetración**

Una vez que el virus está adherido, se produce la inyección del material genético viral en la célula huésped. El proceso varía dependiendo del tipo de virus. En bacteriófagos con cola contráctil (como el fago T4) Tras la unión irreversible, la cola del fago se contrae, inyectando su ADN directamente a través de la membrana celular bacteriana y la pared celular. Esto ocurre debido a un mecanismo similar a una "jeringa molecular", donde la energía almacenada en la estructura del fago permite la inyección del genoma viral en el citoplasma de la bacteria (Madigan & Martinko, 2009). Durante este proceso, la cápside permanece en el exterior de la célula, mientras que solo el ADN o ARN del fago entra en la bacteria. En otros fagos o virus sin cola: que carecen de cola contráctil, o en virus animales, el material genético puede ser introducido mediante otros mecanismos. En algunos casos, el virus puede inducir la formación de poros en la membrana de la célula huésped para facilitar la entrada del material genético (Espejo T, 1980b). En otros casos, el virus puede ser engullido por la célula mediante endocitosis, o la membrana del virus puede fusionarse directamente con la membrana celular, liberando el contenido viral en el interior de la célula (Hall & Ramírez, 2021).

- **Desnudamiento**

En este caso, dado que el ADN del fago se inyecta directamente, el proceso de desnudamiento es más simple. El ADN del fago se libera en el citoplasma bacteriano y se prepara para la replicación (Seañez, 2001).

- **Replicación del ADN viral**

El ADN del fago T4 es de doble cadena y se replica utilizando la maquinaria de replicación de *E. coli*. El ADN viral se copia en múltiples copias mediante la ADN polimerasa de la bacteria (Madigan & Martinko, 2009). El fago también puede producir enzimas que inhiben la síntesis del ADN bacteriano, dirigiendo así todos los recursos de la célula hacia la producción de nuevos fagos (Rosero y Guerrero, 2023).

- **Síntesis de proteínas virales**

Transcripción y traducción: El ADN viral se transcribe en ARN mensajero (ARNm) utilizando la ARN polimerasa de la bacteria. Este ARNm se traduce en proteínas virales en los ribosomas bacterianos (Hall y Ramírez, 2021). Las proteínas producidas incluyen componentes estructurales del fago, como las proteínas de la cápside, las proteínas de la cola y enzimas necesarias para la replicación y

liberación del fago. Estas proteínas se ensamblan con el ADN replicado para formar nuevos viriones ( Busbano y Guerrero, 2023).

- **Ensamblaje**

Las nuevas partículas virales se ensamblan a partir del ADN replicado y las proteínas sintetizadas. Este proceso implica la formación de nuevos viriones en el interior de la célula bacteriana, donde las cápsides se ensamblan alrededor de las copias del ADN viral (Madigan y Martinko, 2009). Este proceso incluye la incorporación del ADN viral dentro de nuevas cápsides (Primrose, 1976).

- **Liberación**

Finalmente, el bacteriófago induce la lisis de la célula bacteriana. Esto se lleva a cabo mediante la producción de enzimas que destruyen la pared celular de *E. coli*, lo que provoca que la célula se rompa y libere cientos de nuevas partículas virales (viriones) al medio (Dominick, 2017). Estos viriones pueden infectar otras células bacterianas, repitiendo el ciclo ( Punil, 2017).

### **2.3.3. Importancia ecológica y sanitaria de los bacteriófagos**

Los bacteriófagos tienen una importancia ecológica y sanitaria significativa en los ecosistemas acuáticos y en la salud pública. se detallan algunos aspectos:

#### **a. Importancia ecológica**

1. Regulación de poblaciones bacterianas: Los bacteriófagos son agentes de control natural de las poblaciones bacterianas. Al infectar y lisar bacterias, ayudan a mantener el equilibrio en las comunidades microbianas, lo que es crucial para la salud del ecosistema acuático , reduciendo así hasta un 40% de bacterias en ríos y océanos (Wommack , 1996).
2. Ciclos de nutrientes: La lisis de bacterias por bacteriófagos libera nutrientes en el medio acuático, lo que puede ser utilizado por otros organismos. Esto contribuye a la productividad del ecosistema y al reciclaje de materia orgánica (Mojica y Brussaard, 2014).
3. Diversidad microbiana: Los bacteriófagos pueden influir en la diversidad de las comunidades bacterianas al favorecer a ciertas especies sobre otras, lo que puede tener efectos en la estructura y función del ecosistema (Sinton, 1999).

#### **b. Importancia sanitaria**

1. Indicadores de contaminación: Los bacteriófagos, especialmente los colífagos, son utilizados como indicadores de contaminación fecal en el agua. Su presencia puede correlacionarse con la de patógenos, lo que los convierte en herramientas útiles para evaluar la calidad del agua y los riesgos para la salud pública (Mojica & Brussaard, 2014).

2. Riesgo de enfermedades: Se ha demostrado que los bacteriófagos son mejores predictores de tasas de enfermedad entre los usuarios de aguas contaminadas que las bacterias. Esto sugiere que su monitoreo puede ser más efectivo para evaluar riesgos para la salud pública (Mojica y Brussaard, 2014; L. Punil, 2017).
3. Terapia fágica: En el ámbito de la salud, los bacteriófagos están siendo investigados como una alternativa a los antibióticos para tratar infecciones bacterianas, especialmente en casos de resistencia a los antibióticos. Esto representa una prometedora área de investigación en la medicina (Vanegas, 2015).

#### **2.3.4. Detección y recuento de virus: el ensayo de calvas**

Para la detección de virus es necesario contar con un cultivo puro de bacterias hospedadoras crecidas en medios de cultivo líquido o teniendo como césped sobre la superficie de las placas de agar donde se inoculará la suspensión vírica. La suspensión vírica se cuantifica detectando la cantidad de viriones infecciosos por volumen de fluido, siendo denominada título o concentración (Madigan y Martinko, 2009). Esto se realiza mediante un ensayo de calvas, cuando se da la infección del virus a la bacteria estas se lisan y forman una calva, realizando el recuento de las calvas se calcula la concentración o título de la muestra siendo expresado como Unidades Formadoras de Placas (UFP) por mililitro (Seañez, 2001). La eficiencia de la siembra es importante en la cuantificación de los virus porque el número de UFP es menor a la cantidad de partículas víricas observadas en un microscopio electrónico esto se debe a la eficiencia de los virus al infectar a la bacteria. El tamaño de las calvas varía según el tipo de bacteriófago por ejemplo en el T4 las calvas miden de 1 a 2 mm. (Espejo, 1980).

La acción principal de los fagos es la lisis de la bacteria es decir la disolución de la bacteria que da lugar a la liberación de las partículas fágicas. El cultivo bacteriano sensible se lisa por completo a medida que el fago se libera infecta más y más células (Primrose, 1976). La lisis incompleta se da por las siguientes razones (Paz y Miño, 2003):

- a. Limitación de nutrientes hace que la bacteria ya no este metabólicamente activa.
- b. La bacteria presenta resistencia al fago ya sea por mutaciones genéticas o ausencia de receptores fágicos.
- c. Establecimiento de la lisogenia que impide la lisis bacteriana ya que estos son inmunes a la lisis, si se reinfectan con el mismo fago.

Cuando se inoculan bacterias y bacteriófagos en una placa de agar nutritivo, se pueden observar áreas localizadas de lisis, conocidas como calvas. El crecimiento de estas calvas se detiene cuando las bacterias dejan de metabolizar, ya sea por la falta de nutrientes o por la acumulación de productos inhibitorios. A medida que se incrementa la concentración de agar, la difusión del fago se vuelve más lenta, lo que reduce el tamaño de las calvas (Primrose, 1976) . La forma de estas áreas de lisis es específica de cada fago y puede indicar si la lisis fue completa o incompleta, observándose calvas claras o turbias. Además, pueden formarse halos debido a las enzimas que degradan las cápsulas (Hall & Ramírez, 2021).

### **2.3.5. Factores ambientales y su influencia en los bacteriófagos**

Si bien los factores ambientales afectan a los bacteriófagos también los efectos producidos por agentes físicos y químicos afectan a la capacidad infecciosa, esto se da por alteraciones del ácido nucleico que impide la capacidad de producir nueva progenie o daños en las proteínas que impide la adsorción (Espejo, 1980). Los detergentes, ya sean ácidos o alcalinos rompen los enlaces entre moléculas, como la urea y la guanidina, estas pueden desactivar los fagos al desarmar su estructura. Por eso se usan también para estudiar cómo están organizados los virus. En general, los bacteriófagos son resistentes a los detergentes y no se ven afectados por las concentraciones que normalmente romperían la membrana de las bacterias (Martín, 2017). Los detergentes iónicos, como el laurilsulfato de sodio, o sustancias que rompen enlaces entre moléculas, no logran desintegrar completamente las proteínas del virus. Para separar todas las proteínas del virus en unidades individuales, se necesitan tratamientos más intensos, como usar detergentes y altas temperaturas al mismo tiempo, lo cual es uno de los métodos más efectivos (Primrose, 1976).

Los bacteriófagos en el agua son afectados por varios factores ambientales. La densidad de bacterias hospedadoras y de los propios fagos, la asociación de fagos y bacterias con sólidos, la presencia de materia orgánica, la luz ultravioleta y visible, la temperatura, el pH, la concentración y tipo de iones, y las actividades metabólicas de microorganismos distintos a las bacterias hospedadoras son factores que influyen en el comportamiento y supervivencia de los fagos en ambientes acuáticos (Grabow, 2001). Además, se ha encontrado que la temperatura es un factor que correlaciona con la supervivencia de virus en aguas subterráneas. En ambientes marinos, factores como el entorno iónico, la presión

hidrostática y las condiciones anaeróbicas también influyen en la supervivencia de los fagos (García , 2018).

Los factores ambientales que afectan a los bacteriófagos son los siguientes:

#### **a. Radiación solar**

La exposición a la radiación ultravioleta puede dañar el material genético de los bacteriófagos, lo que resulta en su inactivación. La radiación solar, especialmente la radiación UV-B, afecta fisiológicamente a los bacteriófagos de varias maneras:

1. Degradación del ADN: La radiación UV-B puede causar daños en el ADN de los bacteriófagos, incluyendo la formación de enlaces cruzados entre proteínas y ADN, lo que puede resultar en la pérdida de la capacidad de replicarse y de infectar a sus hospedadores (Wommack y Calwell, 1997).
2. Pérdida de infectividad: La exposición a la luz solar provoca una disminución en la infectividad de los bacteriófagos. Se ha observado que hasta el 58% de la inactivación de ciertos colífagos se atribuye a la radiación UV-B, lo que indica que esta longitud de onda es particularmente dañina para los viriones (Sinton , 1999 ;Wommack y Colwell, 2000).
3. Efectos en la estructura del virus: La radiación solar puede afectar la integridad estructural de las cápsides virales, lo que puede comprometer su capacidad para unirse a las células hospedadoras y, por lo tanto, su capacidad para infectar ( Wommack , 1996; Mojica y Brussaard, 2014)
4. Interacciones con el medio ambiente: La radiación solar también puede influir en la dinámica de los ecosistemas acuáticos al alterar las interacciones entre los bacteriófagos y sus hospedadores, lo que puede tener efectos en la mortalidad bacteriana y en la producción viral en el medio (Mojica y Brussaard, 2014).

#### **b. pH**

El pH es un factor ambiental que influye en la adsorción y la supervivencia de los bacteriófagos en ambientes acuáticos (Flores Dominick, 2017). Se menciona que el pH puede variar considerablemente en sistemas de agua dulce, como los ríos, lo cual afecta las interacciones electrostáticas entre los fagos y sus bacterias hospedadoras. En aguas ligeramente alcalinas, por ejemplo, los fagos pueden mantener su capacidad de adsorción, aunque los cambios más extremos en el pH podrían disminuir su eficacia ( Wommack y Calwell, 1997)

#### **c. Temperatura**

La temperatura afecta fisiológicamente a los bacteriófagos de varias maneras:

- Regulación del crecimiento microbiano: La temperatura es un factor clave que regula el crecimiento de los microorganismos, lo que a su vez influye en la producción viral. Un aumento en la temperatura puede acelerar la tasa de crecimiento de las bacterias hospedadoras, lo que puede llevar a un aumento en la producción de bacteriófagos (Mojica & Brussaard, 2014).
- Efectos en la lisis viral: Las temperaturas subóptimas pueden retrasar el inicio de la lisis viral. Por ejemplo, se ha observado que la lisis de ciertos hospedadores se retrasa de dos a tres veces bajo condiciones de temperatura subóptimas, lo que afecta la dinámica de la infección viral (Mojica & Brussaard, 2014)
- Interacciones virus hospedador: La estabilidad de los bacteriófagos puede variar con la temperatura. Aunque los virus marinos suelen ser más estables a temperaturas más altas que sus hospedadores, esto no garantiza que las interacciones virus hospedador sean igualmente efectivas en todo el rango de temperaturas (Sinton et al., 1999)
- Producción viral: Algunos estudios han mostrado que la producción de ciertos fagos puede ser más eficiente a temperaturas más bajas, lo que sugiere que la temperatura puede influir en la estrategia de vida de los bacteriófagos y en su capacidad para proliferar en diferentes condiciones ambientales (Mojica & Brussaard, 2014).

#### **d. Presencia de materia orgánica**

La materia orgánica en el agua puede proteger a los bacteriófagos de la inactivación, pero también puede interferir con su capacidad para infectar a las bacterias. La presencia de materia orgánica puede inhibir la adsorción de bacteriófagos a las bacterias (Mojica y Brussaard, 2014), ya que las moléculas orgánicas pueden competir por los sitios de unión en la superficie de las células bacterianas. Esto puede reducir la eficacia de los bacteriófagos en infectar a sus hospedadores (Sinton, 1999).

#### **e. Salinidad**

La concentración de sales en el medio acuático puede afectar la estabilidad de los bacteriófagos, ya que influye en la interacción entre el virus y su hospedador (Díaz, 2017).

#### **2.3.6. Bacterias indicadoras de contaminación en aguas de ríos**

Los cuerpos de agua son susceptibles a la contaminación por diversas causas y fuentes (Paz y Miño, 2003; Guzmán Quintero y Palacios Vélez, 2007; Cusiche

Pérez y Miranda Zambrano, 2019) entre las cuales se encuentra la contaminación fecal, que ocurre cuando ingresa material del tracto intestinal de animales homeotermos. Este material puede ser fácilmente arrastrado corriente abajo, lo que representa un riesgo para la salud y puede hacer que el agua sea insalubre para ciertos usos, dependiendo de la actividad que se realice( Pulido, 2005;Ríos-Tobón et al., 2017;Luján, 2019).Entre estos microorganismos, las bacterias son el grupo que tiene mayor prevalencia y son responsables del mayor porcentaje de casos de diarreas infecciosas (Busbano y Guerrero , 2023).Además, su presencia en cuerpos de agua es un indicador de contaminación fecal reciente, ya que no sobreviven mucho tiempo en el ambiente exterior .Estas propiedades las hacen fundamentales en las medidas sanitarias para controlar agentes infecciosos durante el tratamiento de agua destinada al consumo humano.

Una de las metodologías más utilizadas a nivel mundial para evaluar el grado de contaminación fecal en ecosistemas acuáticos es la detección de bacterias coliformes y *Escherichia coli* como bioindicadores. Dentro del grupo de bacterias coliformes se incluyen los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter* y *Escherichia*, los cuales son bacterias intestinales. Todas pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son Gram negativas, anaerobias facultativas y no forman esporas. Por otro lado, los colífagos somáticos son un grupo heterogéneo de bacteriófagos capaces de infectar *Escherichia coli* al unirse a receptores en su membrana externa, atravesando la pared celular. Estos son los bioindicadores más abundantes en la mayoría de las muestras ambientales Rubalcaba, 2007)

#### **a. Coliformes totales**

Los coliformes totales están presentes en el medio ambiente y en los intestinos de los animales homeotermos, por lo que no son necesariamente utilizados como un indicador de contaminación fecal (Larrea-Murrell et al., 2012). Sin embargo, dentro del grupo de los Coliformes Totales (CT) están los Coliformes termotolerantes o fecales (CF), llamados así por tener actividad metabólica en temperaturas de entre 44,5°C - 45,5°C (en un medio de lactosa) y porque la mayor parte de las especies del grupo son comensales del tracto intestinal de los animales mencionados por lo que son mejores indicadores de la presencia de bacterias y otros microorganismos patógenos (Montoya Vargas, 2019; Perdomo & Casanova, 2001).La especie más representativa del grupo de coliformes fecales y utilizada como indicador microbiológico de contaminación es *Escherichia coli* (Larrea-Murrell et al., 2012).

## **b. *Escherichia coli***

Es una enterobacteria, bacilo gran negativa que habita en los intestinos de los animales homeotermos y es el más abundante de la microbiota intestinal (Larrea-Murrell et al., 2012 ; Gyles & Fairbrother, 2010). Es un comensal permanente de los mamíferos y aves, puede considerarse como beneficioso para el hospedador y en algunos casos responsable de enfermedades a causa de algunas cepas patógenas cuyas formas de infección son diferentes ( Allocati et al., 2013).

### **2.3.7. *Escherichia coli* ATCC 13076**

*Escherichia coli* ATCC 13076 es una cepa estándar ampliamente estudiada, cuyas características biológicas, genéticas y fisiológicas están bien documentadas. Su susceptibilidad a diversos bacteriófagos la convierte en una herramienta ideal para analizar la interacción entre fagos y bacterias (García y Porras, 2018). La elección de *Escherichia coli* ATCC 13076 como receptor en el estudio de bacteriófagos está justificada por las siguientes razones (Grabow, 2004):

- Esta cepa es susceptible a colífagos somáticos y de ARN, que son indicadores clave de contaminación fecal. Su sensibilidad permite una cuantificación precisa y eficiente de bacteriófagos en muestras ambientales.
- Es una cepa recomendada por normativas como la ISO 10705 para la detección y análisis de colífagos en agua, lo que asegura la validez y comparabilidad de los resultados a nivel global.
- Crece de manera rápida y consistente en medios comunes, formando colonias uniformes, lo que simplifica los procedimientos experimentales y reduce el margen de error. Como parte del microbiota intestinal, *E. coli* es representativa de la contaminación fecal, lo que la convierte en un modelo adecuado para evaluar la calidad del agua en contextos ambientales y sanitarios.
- Los fagos que atacan a *E. coli*, como los colífagos somáticos y los específicos de F, son importantes bioindicadores de contaminación fecal en el agua, y *E. coli* ATCC 13076 se usa como hospedador estándar en su detección debido a su fiabilidad y su capacidad para interactuar con diferentes fagos.
- Fácil de cultivar y manipular en el laboratorio, lo que facilita la realización de ensayos con bacteriófagos de manera rápida y eficiente.

### **2.3.8. Factores que afectan la calidad de agua en ríos**

La calidad del agua en los ríos se ve afectada por una variedad de fuentes de contaminación. Las fuentes puntuales incluyen los efluentes de las estaciones depuradoras de aguas residuales municipales e industriales. Por otro lado, las

fuentes difusas tienen una distribución espacial amplia y su magnitud está fuertemente relacionada con factores meteorológicos. Estas fuentes difusas incluyen la escorrentía superficial producida por precipitaciones, las aguas subterráneas, la erosión que introduce sedimentos en el curso del río, y la escorrentía procedente de zonas urbanas que arrastra contaminación del pavimento, de la corrosión de materiales de construcción o del desbordamiento por sobrecarga de los sistemas de alcantarillado unitarios(Martín Díaz, 2017).

#### **2.4. Marco legal y normativo**

- Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias DECRETO SUPREMO N° 004-2017-MINAM.
- Decreto Supremo N° 031-2010-SA: Aprueba el Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano.
- Ley de Recursos Hídricos Ley N° 29338: Define al agua como un recurso natural renovable, indispensable para la vida y estratégico para el desarrollo sostenible.
- Ley General del Ambiente: Establece principios y normas básicas para garantizar el derecho a un ambiente saludable.
- Ley de Organizaciones de Usuarios N° 30175Regula la gestión y la institucionalidad de las organizaciones de usuarios.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Zona de estudio, ubicación política y geográfica área de estudio

Ubicación política y geográfica de los puntos de muestreo en la microcuenca Alameda y Huatatas.

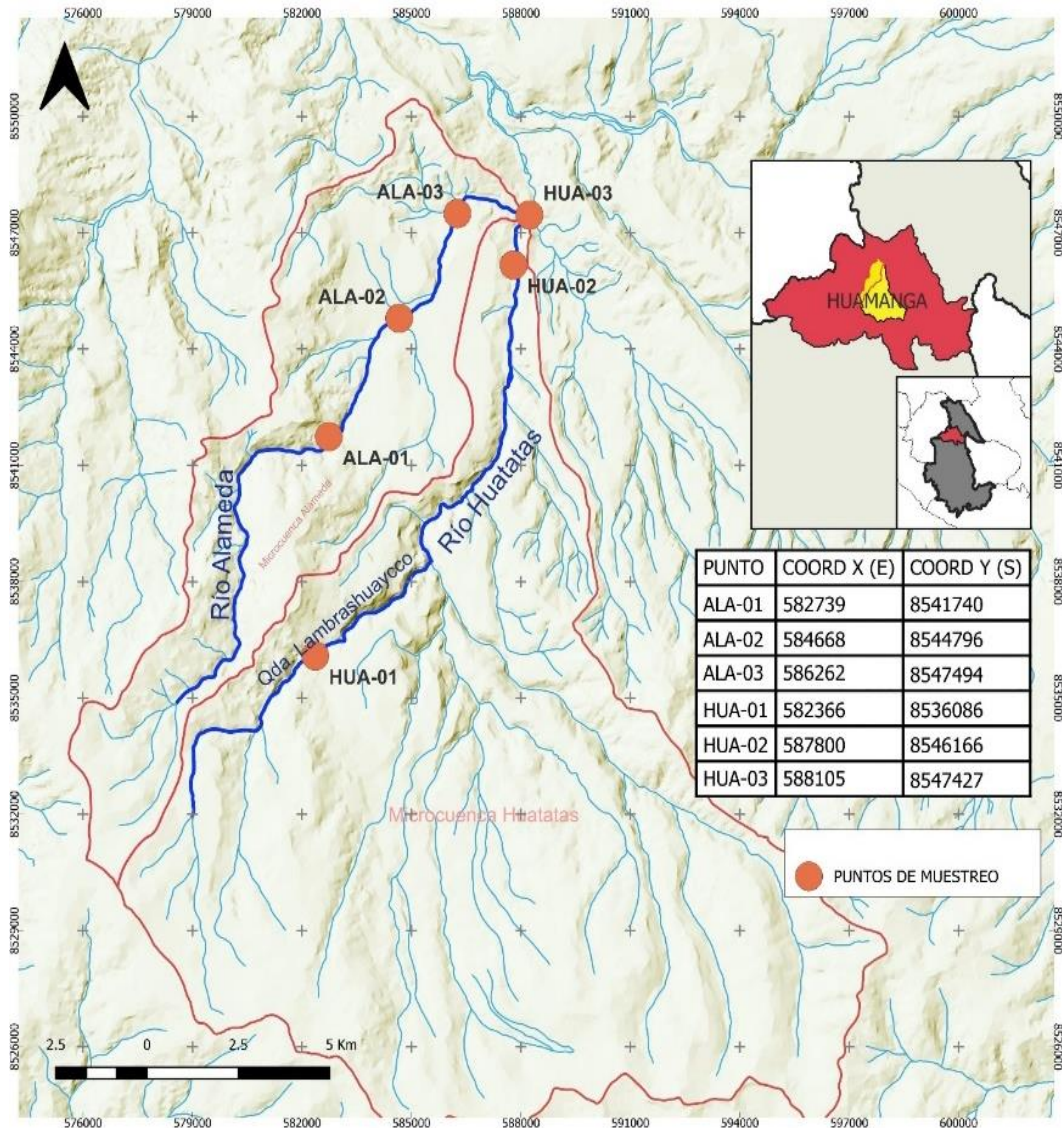
**Tabla 1**

*Ubicación política y geográfica de los ríos Alameda y Huatatas*

<b>Departamento de Ayacucho</b>	<b>Punto</b>	<b>Este X (E)</b>	<b>Norte Y (S)</b>
<b>Alameda</b>	ALA-01	582739	8541740
	ALA -02	584668	8544796
	ALA -03	586262	8547494
<b>Huatatas</b>	HUA-01	582366	8536086
	HUA-02	587800	8546166
	HUA-03	588105	8547427

**Figura 3**

*Mapa de ubicación de los puntos de muestreo de los ríos Alameda y Huatatas*



### **3.2. Población**

Agua del río Alameda y Huatatas.

### **3.3. Muestra**

Muestras de agua recolectadas de los ríos Alameda y Huatatas.

### **3.4. Sistema de muestreo**

Se seleccionaron 3 diferentes puntos de muestreo en los ríos Alameda y Huatatas. Para cumplir con los objetivos planteados, se realizó la recolección de muestras de agua en los ríos Alameda y Huatatas. La toma de muestras se efectuó cada 10 días, en los horarios de 7:00 a.m. y 12:00 p.m., con un total de 12 fechas de muestreo en los meses de setiembre y noviembre siendo un total de 144 muestras recolectadas y procesadas.

### **3.5. Metodología y recolección de datos**

#### **3.5.1. Procedimiento pre analítico**

##### **a) Obtención de inóculo de *Escherichia coli* ATCC 13706**

La cepa utilizada fue ATCC 13706 fue proporcionada por el laboratorio de Virología de la UNSCH. Esta cepa se sembró en caldo nutritivo e incubó a 37°C durante 24 horas hasta obtener una concentración de  $1 \times 10^9$  bacterias/mL (se utilizó como referencia la escala de McFarland de 0.5).

##### **b) Recolección de muestras de agua de río**

Se seleccionaron tres puntos de muestreo en los ríos Alameda y Huatatas, considerando criterios de accesibilidad y representatividad de las condiciones del cuerpo de agua. La determinación de colifagos presentes en el agua se realizó siguiendo las recomendaciones de los Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales (Gastañaga Ruiz, 2007). Estas recomendaciones establecen que, al realizar la toma de muestras en ríos, se deben evitar áreas con turbulencia excesiva y tener en cuenta factores como la profundidad, la velocidad de la corriente y la distancia entre las orillas.

Las muestras se recolectaron a una profundidad de 20 a 30 cm utilizando frascos estériles de vidrio o plástico. Los frascos se etiquetaron adecuadamente con información detallada que incluyó el número de muestra, descripción del punto de muestreo, fecha y hora de recolección. Para asegurar la calidad de las muestras, estas fueron transportadas en cajas térmicas con acumuladores de frío para mantener una temperatura de aproximadamente 4°C. Este proceso evitó alteraciones microbiológicas antes del análisis en laboratorio.

#### **3.5.2. Procedimiento analítico**

##### **a) Cuantificación de colifagos**

Las muestras de agua de los ríos fueron filtradas mediante un filtro de membrana de 0.22  $\mu\text{m}$  utilizando una bomba de vacío. El filtrado se almacenó en viales estériles con un volumen de 1 mL por vial. En un tubo de ensayo, se añadieron 1.0 mL de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 13706 y 0.1 mL del filtrado de agua luego se agregó agar nutritivo a una temperatura de 45°C a 50°C. La mezcla se agitó, se vertió en placas y se dejó enfriar hasta que el agar se solidificó. Luego las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

##### **b) Caracterización fisicoquímica del agua**

Se midieron los parámetros ambientales en cada punto de muestreo para evaluar su influencia en la cantidad de colifagos:

- Radiación solar: Los valores de radiación solar ( $\text{Wh/m}^2$ ) se registraron a partir de la página web TuTiempo.net. Los datos fueron recopilados para la ubicación correspondiente a cada punto de muestreo en las fechas en que se realizó el estudio.
- Cloro: El cloro residual fue determinado mediante un kit colorimétrico. Se recolectó una muestra de agua de río en un tubo de prueba transparente con capacidad de 4mL, preferentemente a una profundidad de 40 cm bajo la superficie. Posteriormente, se añadieron 4 gotas de solución OTO (ortotolidina), se colocó la tapa del tubo y se agitó suavemente para mezclar. La lectura se realizó comparando el color obtenido con la escala de valores proporcionada por el kit.
- Temperatura del agua: la temperatura del agua se midió in situ utilizando un termómetro de mercurio.
- pH: El pH fue determinado mediante un kit colorimétrico. La muestra de agua fue recolectada a una profundidad aproximada de 40 cm. En un tubo de prueba transparente capacidad de 4ml, se introdujo la muestra y se agregaron 4 gotas de fenol rojo. Luego, se colocó la tapa y se agitó para homogenizar la mezcla. Finalmente, el color resultante se comparó con la escala de colores del kit para determinar el valor del pH.

### **3.5.3. Procedimiento post analítico**

Después de la incubación, se procedió a contar las calvas (placas donde hubo inhibición del crecimiento bacteriano debido a la presencia de colífagos).

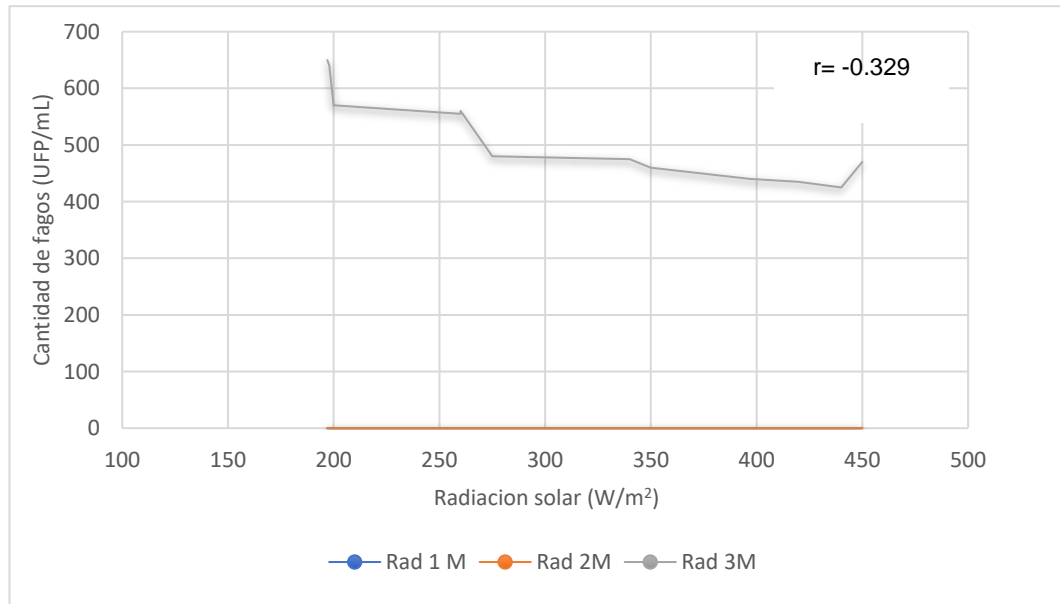
La relación de efecto de pH, cloro, temperatura y radiación solar se hizo mediante la prueba estadística de correlación de Pearson para determinar la relación entre la cantidad de colífagos y los factores ambientales medidos.

#### **IV. RESULTADOS**

#### 4.1. Resultados del río Huatatas

**Figura 4**

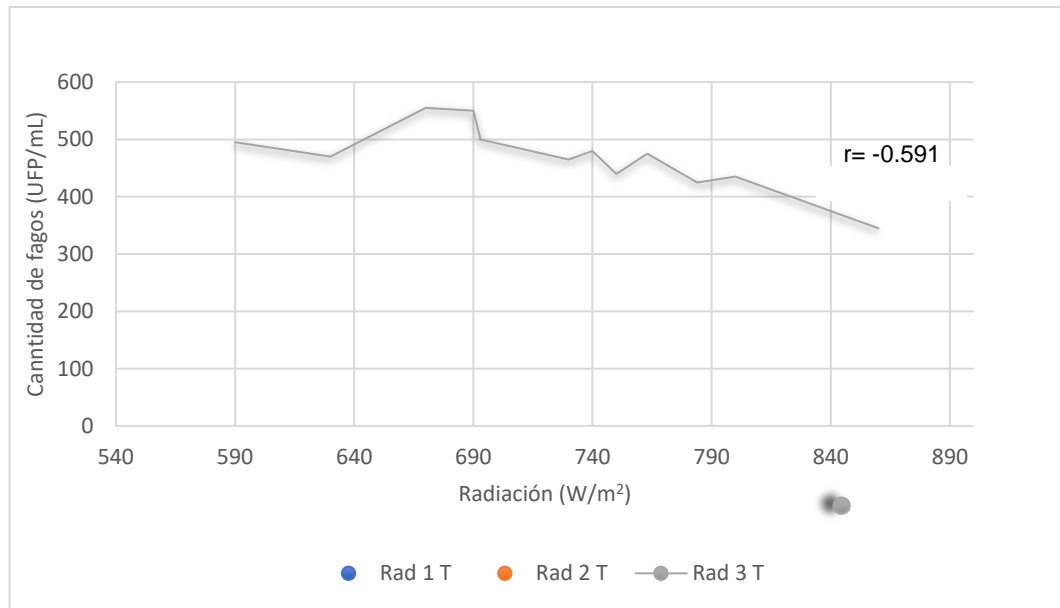
*Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante. Toma de Muestras en la Mañana ( $r$ =correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 4. En Rad 1M y Rad 2M (indican la radiación de primer y segundo punto respectivamente tomada la muestra en horas de la mañana), sugieren que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Por otro lado, en Rad 3M que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colífagos (aproximadamente 600 UFP/mL), con una ligera disminución conforme aumenta la radiación solar. La tendencia parece estabilizarse entre los 400 y 450  $W/m^2$ , alcanzando valores cercanos a 500 UFP/mL. La correlación inversa en el punto 3 donde  $r$  es  $-0.329$  sugiere que el aumento de la radiación solar tiene un efecto leve en la reducción de la concentración de colífagos en el agua. Sin embargo, la magnitud de esta relación es débil, lo que indica que otros factores ambientales o características del agua podrían estar modulando la respuesta de los colífagos a la radiación.

**Figura 5**

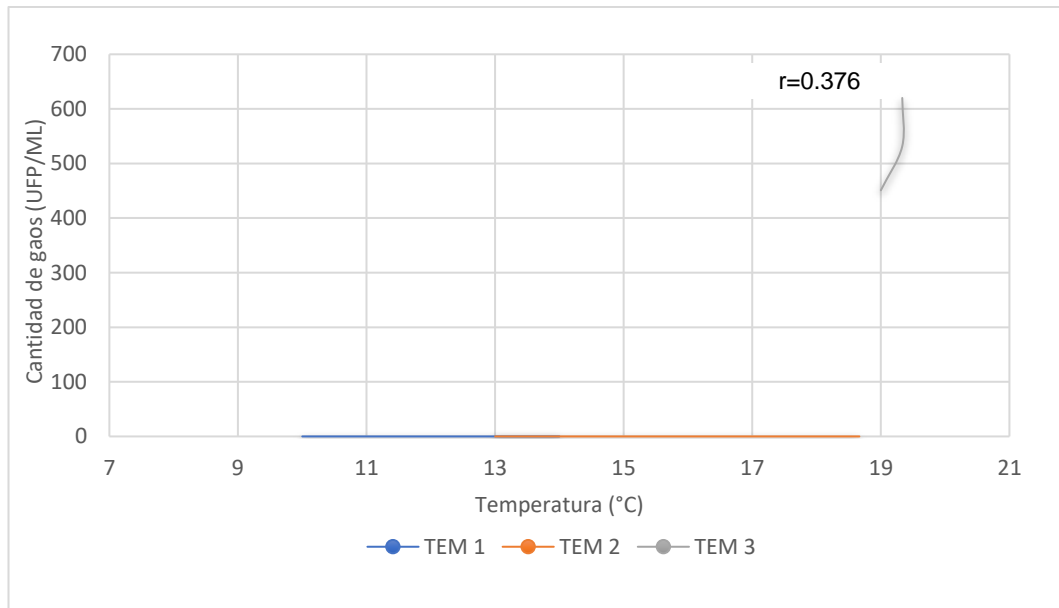
*Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas. Toma de Muestras en la tarde ( $r$ =Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 5. En Rad 1T y Rad 2T, los cuales son los dos primeros puntos de muestreo en el río Huatatas sugieren que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Por otro lado, en Rad 3T que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colífagos (aproximadamente 500 UFP/mL), con una ligera disminución conforme aumenta la radiación solar. La tendencia parece estabilizarse entre los 740 y 790  $W/m^2$ , alcanzando valores cercanos a 400 UFP/mL. La correlación inversa en el punto 3 siendo  $r$  igual a -0.591 es moderada sugiere que el aumento de la radiación solar está asociado con una disminución significativa en la concentración de colífagos.

**Figura 6**

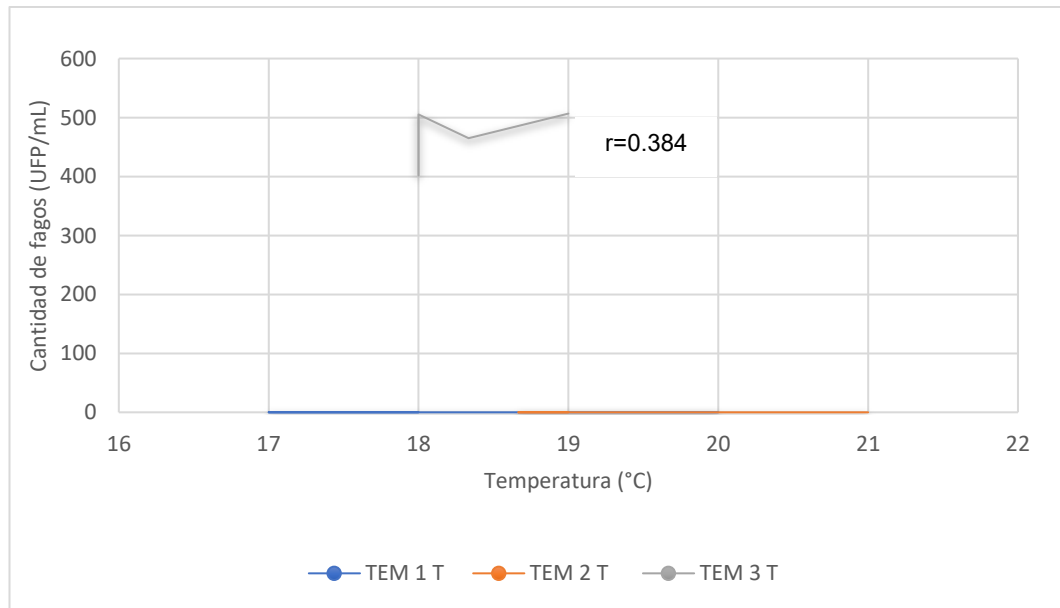
*Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la mañana (r=Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 6. En TEM 1M y TEM 2M, los cuales son los dos primeros puntos de muestreo en el río Huatatas donde la hora de toma es en la mañana, sugieren que las concentraciones de colifagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la temperatura. Por otro lado, en TEM 3M que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colifagos (aproximadamente 400 UFP/mL), con un incremento conforme aumenta la temperatura. La tendencia parece estabilizarse entre los 20°C alcanzando valores cercanos a 600 UFP/mL. La correlación positiva donde  $r$  es igual a 0.376 es débil lo cual sugiere que el aumento de la temperatura está asociado con un ligero incremento en la concentración de colifagos.

### Figura 7

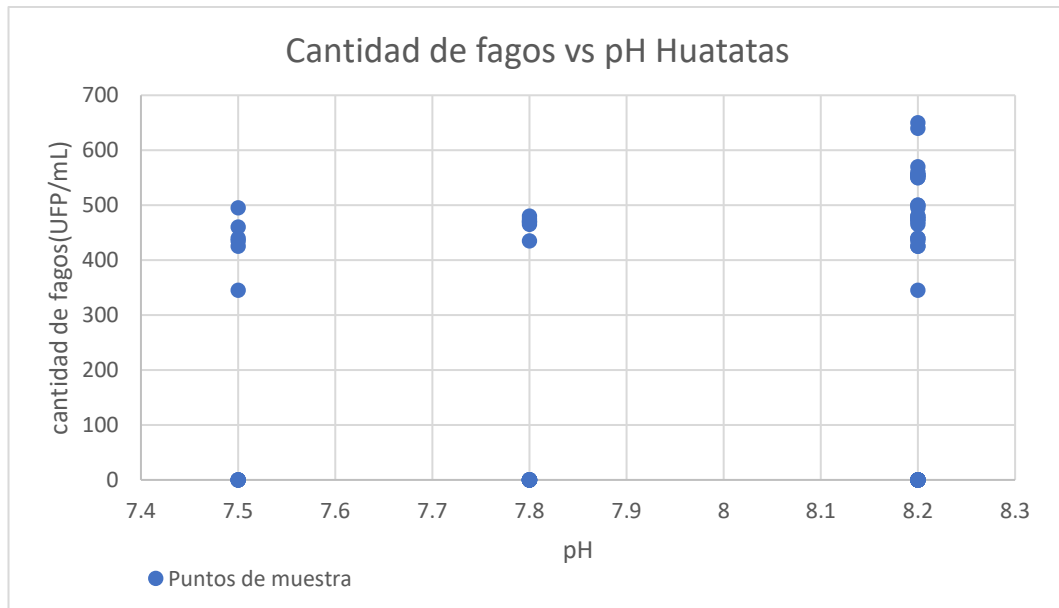
Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante Toma de Muestras en la Tarde ( $r$ =correlación de Pearson).



Interpretación de la figura 7. En TEM 1T y TEM 2T, los cuales son los dos primeros puntos de muestreo en el río Huatatas sugieren que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la temperatura. Por otro lado, en TEM 3T que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colífagos (aproximadamente 500 UFP/mL), con un incremento conforme aumenta la temperatura, la correlación es de 0.384 es débil lo cual sugiere que el aumento de la temperatura está asociado con un ligero incremento en la concentración de colífagos.

**Figura 8**

*Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la Mañana y tarde (r=Correlación de Pearson).*

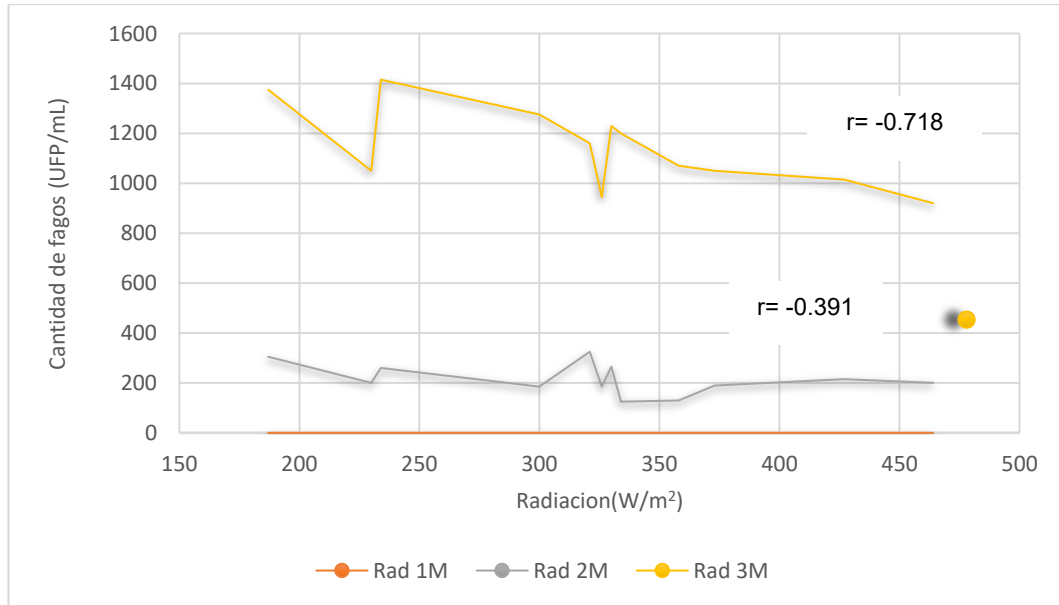


Interpretación de la figura 8. En los tres puntos de muestreo se observa que los valores de pH se encuentran en un rango de 7.5, 7.8 y 8.2, en la figura indica que a medida que el pH aumenta ligeramente se da un leve incremento en la concentración de colífagos esto es más evidente en el rango de pH de 8.2.

## 4.2. Resultados del río Alameda

**Figura 9**

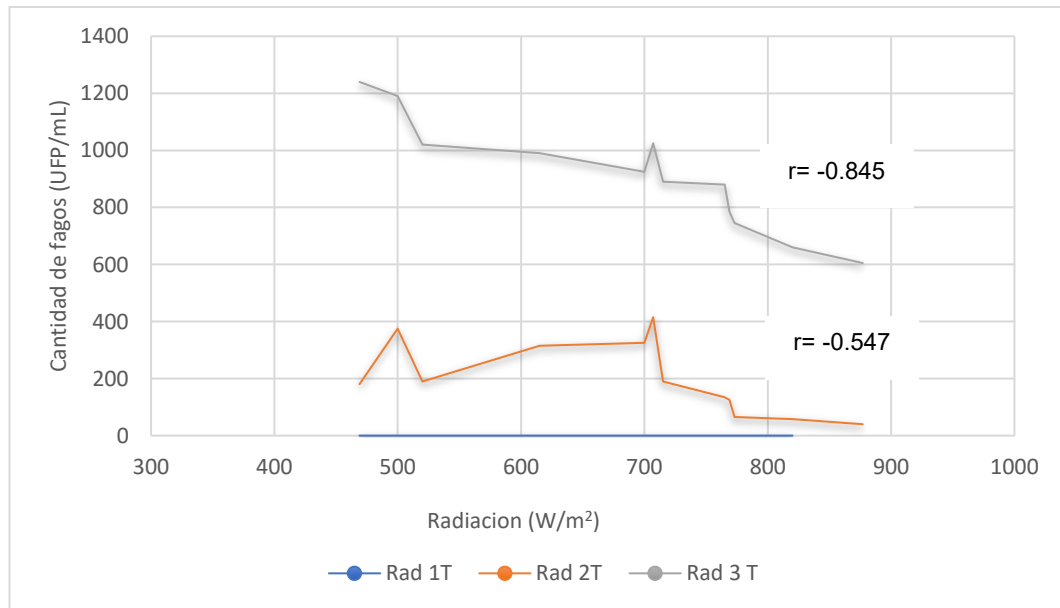
*Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda. Toma de Muestras en la mañana. ( $r$ =Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 9. En Rad 1M, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colifagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Por otro lado, en Rad 2M que es el punto 2 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colifagos (aproximadamente 400 UFC/mL) con una ligera disminución conforme aumenta la radiación solar. La tendencia parece estabilizarse entre los 400 y 450  $W/m^2$ , alcanzando valores cercanos a 400 UFC/mL. La correlación negativa en el punto 2 es de  $r = -0.391$  sugiere que el aumento de la radiación solar tiene un efecto leve en la reducción de la concentración de colifagos en el agua. Sin embargo, la magnitud de esta relación es débil, lo que indica que probablemente este atenuado por factores locales como sombra parcial y mayor turbidez podrían estar modulando la respuesta de los colifagos a la radiación. La radiación solar tiene un efecto moderado sobre la reducción de colifagos. En el punto 3 donde  $r = -0.718$  la radiación solar tiene un efecto fuerte, disminuyendo significativamente la concentración de colifagos debido a una mayor exposición directa y condiciones ambientales favorables para la penetración de la radiación solar.

**Figura 10**

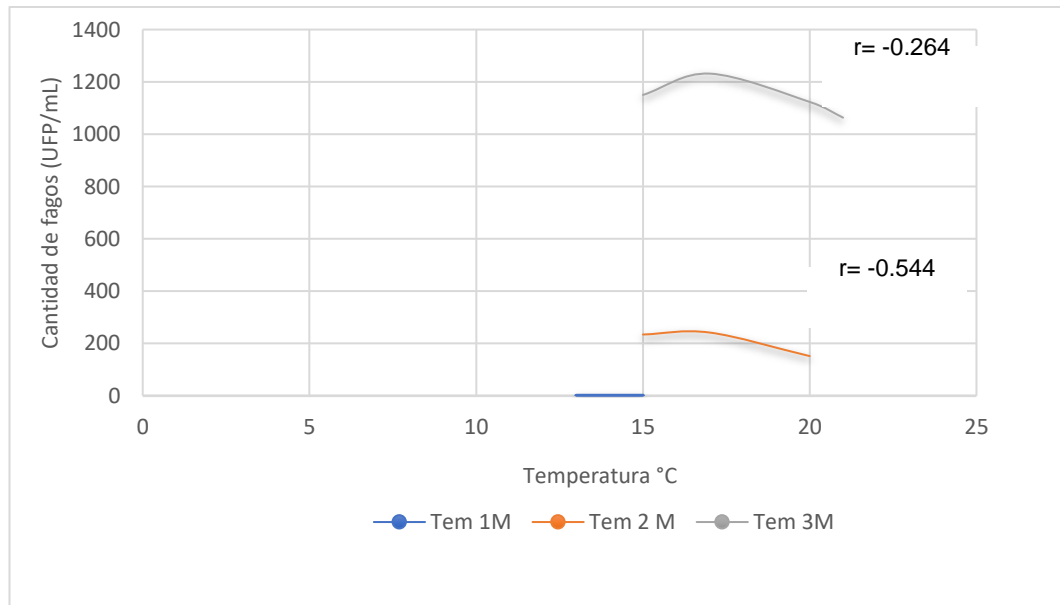
*Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde (r=Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 10. En Rad 1T, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. En el Rad 2T tiene la correlación inversa es moderado donde ( $r = -0.547$ ) sugiere un patrón esperado de disminución de colífagos con mayor exposición solar, reflejando un impacto directo de la radiación. En el punto 3, la correlación inversa ( $r = -0.845$ ) la radiación solar tiene un efecto fuerte, disminuyendo significativamente la concentración de colífagos.

**Figura 11**

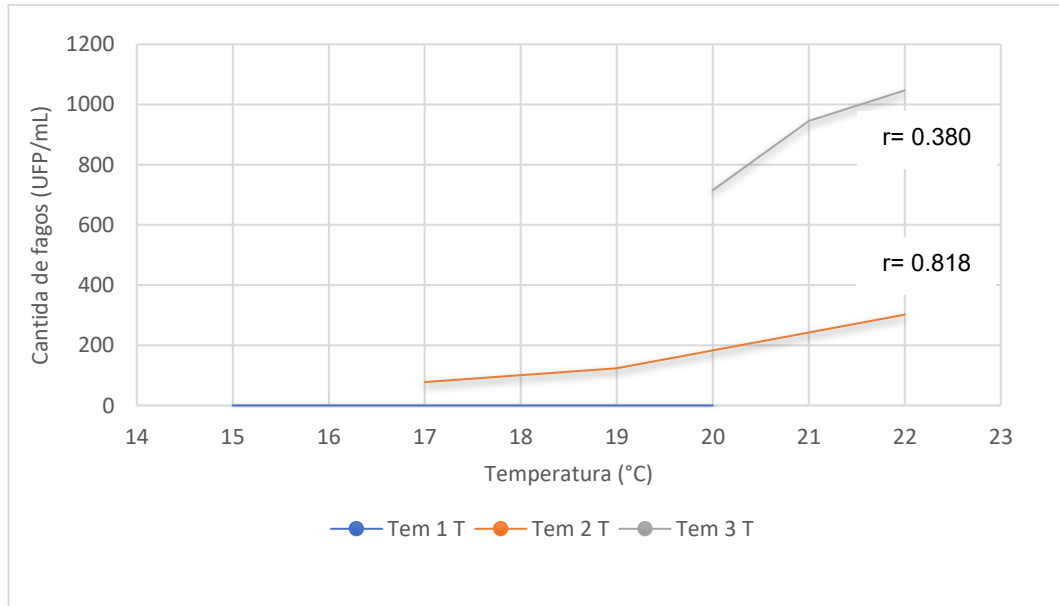
*Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana (r=Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 11. En Tem 1M, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Punto Tem 2M la correlación negativa moderada ( $r = -0.544$ ) indica que la temperatura tiene un impacto relevante en la reducción de los colífagos, lo que podría atribuirse a una mayor exposición a condiciones ambientales como el calor y la radiación solar. Punto Tem 3M en este punto, la correlación negativa débil ( $r = -0.264$ ) sugiere que la temperatura no es el principal factor que influye en la concentración de colífagos, probablemente debido a condiciones locales que contrarrestan el efecto térmico.

**Figura 12**

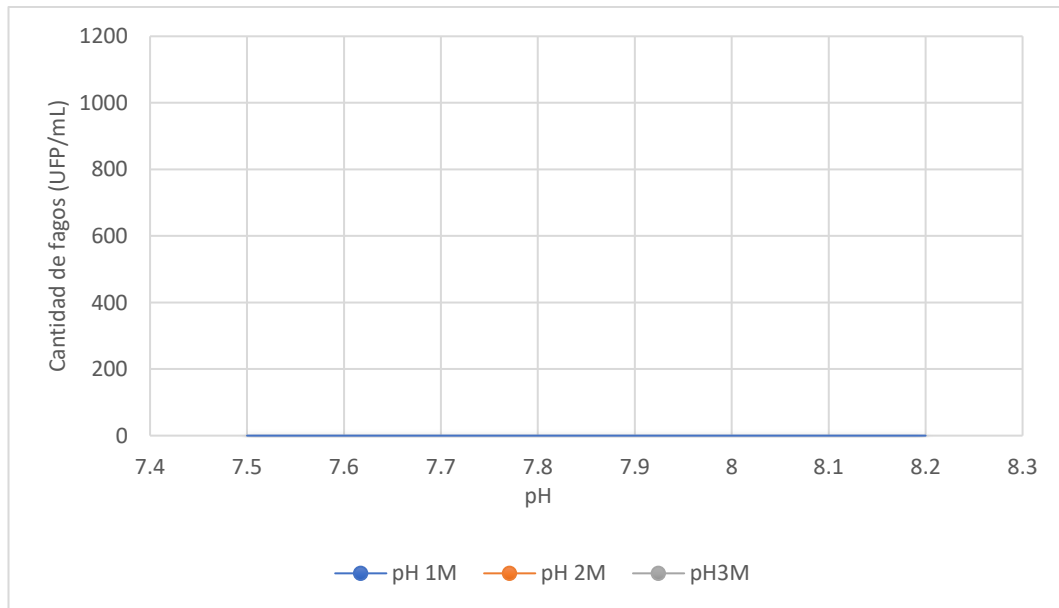
*Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante Toma de Muestras en la tarde (r=Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 12. En Tem 1T, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. En el Punto Tem 2 T donde la fuerte correlación positiva ( $r = 0.818$ ) refleja que la temperatura tiene un impacto significativo en la concentración de colífagos en este punto dando un incremento en la cantidad de colífagos en los rangos de 19 a 22°C, posiblemente debido a aportes externos, mayor actividad metabólica bacteriana o características locales del agua que favorecen su persistencia. En el punto Tem 3T la correlación positiva débil ( $r = 0.380$ ) indica que la temperatura influye en la concentración de colífagos, pero de manera más limitada en comparación con el punto Tem 2 T. Esto sugiere que otros factores locales tienen un papel más relevante en este sitio.

### Figura 13

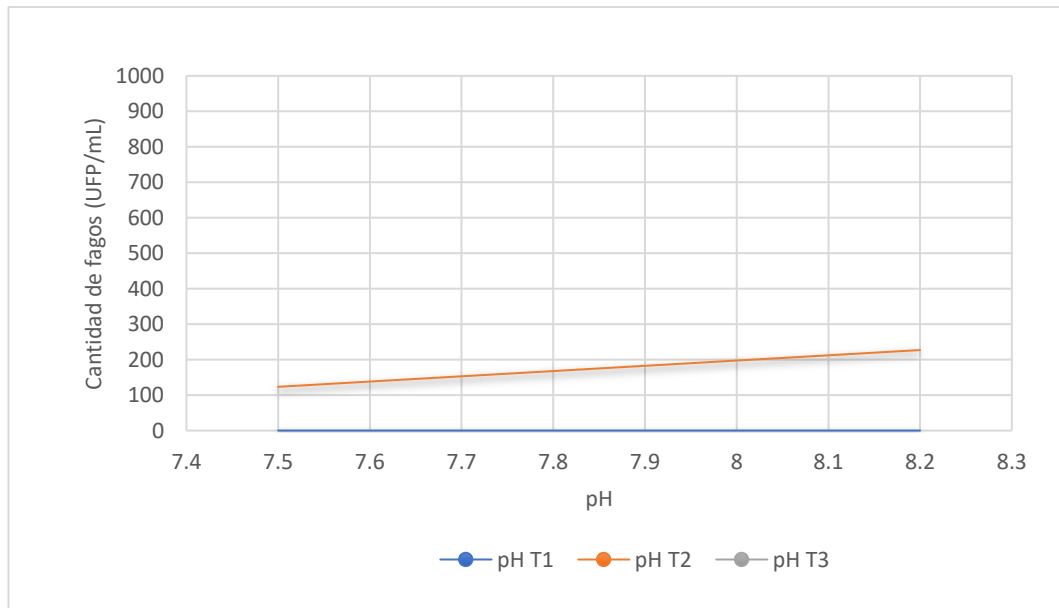
Efecto del pH sobre la Concentración de Fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana.



Interpretación de la figura 13. En pH 1M, pH 2M y pH 3M siendo los tres puntos de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos varia pero los valores de pH son constantes. En la gráfica observamos con todos los datos obtenidos de pH y cantidad de fagos en los puntos de muestreo sugiere que en pH de 8.2 se da mayor cantidad de colífagos.

**Figura 14**

*Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde.*



Interpretación de la figura 14. En pH 1T, pH 3T siendo los dos puntos de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colifagos varia pero los valores de pH son constantes. Al realizar la correlación de Pearson del punto pH 2T se encontró una correlación de 0.366 lo cual sugiere que es una correlación positiva débil sugiere que el pH la correlación positiva moderada indica que el pH influye en la concentración de colifagos.

## V. DISCUSIÓN

En nuestro estudio se implementó la metodología de “capa simple” con la adición de un filtrado previo de la muestra. Este enfoque incrementa la sensibilidad y minimiza las interferencias en muestras de agua con diversos niveles de contaminación. Asemejándose al trabajo de Gaviria y González en 2012 donde aislaron bacteriófagos a partir de aguas residuales específicos para *E. coli* DH5 $\alpha$ . Este método también fue aplicado por Codillo en 2001 utilizando la cepa de bacteria hospedera ATCC 13706, ya que su alta disponibilidad de receptores contribuye a una mayor sensibilidad, especialmente en muestras de cultivos frescos.

El comportamiento de los colífagos, al permanecer estables y detectables en condiciones donde otros indicadores microbiológicos podrían no estar presentes, proporciona un criterio confiable para la evaluación de la calidad microbiológica del agua. Estudios previos de Zevallos (1997) , Ratto(1989) y Stetler (1984) han reportado observaciones similares, señalando que los colífagos son resistentes a ciertos tratamientos de desinfección y permanecen en el agua a niveles detectables incluso cuando otros indicadores han sido eliminados, trabajos similares realizado por Paz y Miño (2003) y Quiroz (2001) refuerza dichos resultados. Esto les confiere una ventaja como indicadores de contaminación fecal y los convierte en herramientas útiles para el monitoreo de aguas.

En nuestros resultados observamos que se da un incremento en la cantidad de fagos a un rango de temperatura de 19 a 22 °C en la figura 7,8,12 y 13; el trabajo de Espejo en 1980 demuestra que los bacteriófagos son bastante resistentes a la temperatura ambiente. Los bacteriófagos empiezan a desactivarse cuando la temperatura supera los 50 a 60 °C.

Los resultados de este estudio confirman que la radiación solar es un factor determinante en la inactivación de colífagos, lo que respalda su uso como

indicadores de contaminación fecal en cuerpos de agua expuestos al sol. La disminución de colífagos se relaciona directamente con la exposición a la radiación y el aumento de la temperatura del agua, en línea con investigaciones previas que describen mecanismos de inactivación directa e indirecta. La radiación UV B provoca daños directos al material genético viral, mientras que el incremento de la temperatura potencia este efecto, especialmente a temperaturas superiores a los 30°C esto descrito por Nelson (2018). La susceptibilidad de los colífagos a la radiación coincide con estudios que señalan que los virus de ARN de cadena sencilla son más vulnerables al daño por UV que otros virus más resistentes, como los de ADN de doble cadena. Esto indica que los colífagos no solo son útiles para evaluar contaminación fecal, sino que también son modelos adecuados para estudiar la respuesta de los virus ambientales a la radiación solar como indica Häder (2014).

Los resultados de esta investigación respaldan lo señalado por Wommack (1996) sobre el impacto diferencial de la radiación solar en microorganismos acuáticos. En nuestras observaciones, presentadas en las Figuras 5, 6, 10 y 11, se demuestra que la concentración de colífagos disminuye significativamente a medida que aumenta la exposición a la radiación solar. Este patrón evidencia que los colífagos, particularmente los somáticos, son sensibles a la radiación UV-B, lo que refuerza su utilidad como indicadores de contaminación fecal en aguas naturales. La comparación con los coliformes fecales es especialmente relevante. Según Wommack (1996), los coliformes se inactivan más rápidamente que los bacteriófagos. Este comportamiento sugiere que los colífagos pueden ofrecer una visión más conservadora de la calidad del agua, ya que persisten por más tiempo bajo exposición solar, lo que los convierte en indicadores más robustos en escenarios de alta radiación. Además, la variabilidad en la sensibilidad de los distintos tipos de fagos a la radiación solar subraya la importancia de seleccionar adecuadamente los indicadores según las condiciones del entorno.

La luz solar es un factor ambiental clave en la inactivación de colífagos en el agua, y este efecto puede emplearse para evaluar su uso como indicadores de contaminación fecal en ríos. Sinton en 1999 describe cómo la radiación solar degrada las estructuras de la cápside de los bacteriófagos, lo que provoca una reducción en su capacidad infectiva. Estos datos son especialmente relevantes para el presente estudio, ya que demuestran cómo la radiación solar afecta la persistencia de los colífagos en ambientes fluviales. La degradación de la cápside

deja el material genético de los colífagos expuesto y les hace perder su capacidad de infección, reduciendo su viabilidad como indicadores de contaminación. No obstante, debido a que algunos colífagos resisten la radiación solar mejor que las bacterias, su detección en aguas de río podría ser un marcador fiable de contaminación fecal bajo diferentes niveles de exposición a la luz. Así, el impacto de la radiación solar podría fortalecer su uso como indicadores duraderos en condiciones ambientales variadas. Además, estos resultados ofrecen una oportunidad para definir niveles de exposición a la luz solar como un criterio de inactivación de colífagos, diferenciando entre el efecto de la radiación directa y otras variables, como las temperaturas estacionales o la turbidez del agua. Este enfoque podría clarificar las circunstancias en las cuales los colífagos se mantienen viables como indicadores, proporcionando información esencial para el monitoreo de la calidad del agua y la gestión de recursos hídricos en ríos que enfrentan cambios de radiación solar a lo largo del año.

El pH juega un papel clave en la viabilidad de los bacteriófagos utilizados como indicadores de contaminación fecal en ríos. Según este estudio, los rangos de pH observados son de 7.5 a 8.2 no afectaron significativamente a los colífagos, coincidiendo con Grabow (2001). Los resultados obtenidos en los ríos Huatatas y Alameda destacan que la mayor concentración de colífagos se observó a pH 8.2, lo que concuerda con estudios como los de Punil (2017) y Jamalludeen. (2007), que señalan una mayor estabilidad y efectividad de los bacteriófagos en ambientes alcalinos. En estas condiciones, las interacciones electrostáticas entre los fagos y las bacterias hospedadoras son más favorables, promoviendo una adsorción eficiente y manteniendo su capacidad infecciosa. Además, estos hallazgos refuerzan la importancia del pH alcalino para la funcionalidad óptima de los colífagos en cuerpos de agua naturales. Esto concuerda con lo reportado por Manohar (2018) y Häder (2014) señalan que, aunque ciertos bacteriófagos toleran un rango amplio de pH, su viabilidad disminuye notablemente en condiciones ácidas (pH 5) y neutras (pH 7). Por tanto, el rango de pH observado en este estudio representa condiciones ideales para la estabilidad y persistencia de los colífagos en los ríos estudiados. Una limitación de este estudio es que se enfocó únicamente en un rango de pH moderado (7.5 a 8.2), lo que impide evaluar con mayor detalle el comportamiento de los colífagos en condiciones de pH más extremas, niveles extremos pueden comprometer la integridad estructural de los bacteriófagos, reduciendo su eficacia como indicadores de calidad del agua indicado por Sailema

(2024). Se sugiere realizar investigaciones adicionales que incluyan un rango más amplio de pH. Estas investigaciones podrían proporcionar una comprensión más integral del comportamiento de los colífagos y mejorar su aplicación como indicadores de contaminación fecal en diferentes condiciones. Generalmente, los bacteriófagos son estables a valores de pH entre 5 y 8, aunque este rango puede extenderse de 4 a 10 cuando la temperatura es baja (Jorquera, 2015; Hall & Ramírez, 2021). Sin embargo, los ambientes ácidos pueden desnaturalizar las proteínas de los bacteriófagos, lo que resulta en una pérdida de viabilidad. La capacidad de los bacteriófagos para persistir a valores bajos de pH depende del tipo de bacteriófago.

Grabow (2001) reporta en su trabajo que, en las aguas superficiales, la combinación de altas temperaturas y exposición solar intensifica la desactivación de los fagos. Este efecto es más marcado en cuerpos de agua poco profundos y con alta transparencia, donde la penetración de la luz solar es mayor. La temperatura afecta a los bacteriófagos en aguas superficiales o ríos, ya que se ha reportado que la supervivencia del fago T7 en agua de río, lago y subterránea está relacionada con la temperatura del agua. Los resultados que mostraron nuestro trabajo del efecto de la temperatura y la radiación solar coinciden con los mencionado ya que al incrementarse la radiación solar se produce una disminución de la cantidad de fagos mostrados en las gráficas 5,6,10 y 11. Al aumentar la radiación la temperatura de los ríos se incrementa teniendo mayor cantidad de fagos en rangos de 18 a 22 °C mostrados en las figuras 7,8,12 y 13. Wommack (1996) reporta que los fagos tienden a soportar niveles elevados de congelamiento, también ciclos de congelación y descongelación hace que los fagos se inactiven por lo que la temperatura optima de guardarlos es a 4°C. Las variaciones en la temperatura pueden afectar la estabilidad de los bacteriófagos temperaturas extremas pueden llevar a la desnaturalización de sus proteínas y la pérdida de infectividad (E. Wommack & Calwell, 1997) reporta que el rango de temperatura de estabilidad entre 0 y 23 °C para un bacteriófago marino sedimentario se determinó debido a una aparente incapacidad del bacteriófago para adsorberse irreversiblemente a las células hospedadoras. Los títulos del bacteriófago solo mostraron una reducción limitada cuando se expusieron a 30 °C durante 24 horas en presencia de su bacteria hospedadora. Esto sugiere que la estabilidad del bacteriófago está influenciada por su capacidad de adsorción a las células hospedadoras a diferentes temperaturas.

Los datos obtenidos en campo indicaron la ausencia de cloro en todos los puntos de muestreo. Esto sugiere que el agua de los ríos estudiados no estaba sometida a procesos de desinfección con cloro en el momento del muestreo, lo que podría estar relacionado con la falta de tratamiento previo del agua o con fuentes de contaminación natural. El cloro es un desinfectante ampliamente utilizado en el tratamiento de agua potable debido a su capacidad para inactivar una amplia gama de microorganismos patógenos. Según la Organización Mundial de la Salud la desinfección con cloro libre es eficaz contra bacterias y virus, aunque su eficacia puede variar dependiendo de la concentración y el tiempo de contacto (Gordon & Brown, 2011). Estudios previos han demostrado que concentraciones adecuadas de cloro pueden reducir significativamente la presencia de colifagos en cuerpos de agua. Por ejemplo, en una investigación realizada por Paz y Miño (2003), se evaluó la eficacia del tratamiento de agua en la Planta de Tratamiento de La Atarjea en Lima, Perú. Los resultados mostraron que, tras las etapas de decantación, filtración y cloración, hubo una remoción del 99,95% de colifagos, lo que destaca la eficacia de la cloración en la eliminación de estos virus. La ausencia de cloro en los ríos muestreados podría tener implicaciones significativas para la calidad microbiológica del agua, ya que permite la persistencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal, como los colifagos.

## **VI. CONCLUSIONES**

1. La radiación solar disminuye significativamente la cantidad de colifagos en el río Huatatas, se redujeron de 600 a 450 UFP/mL por la mañana y de 500 a 345 UFP/mL por la tarde y en el río Alameda fueron de 350 a 200 UFP/mL (punto 2, mañana) y de 400 a 40 UFP/mL (punto 2, tarde).
2. El incremento de temperatura en un rango de 18 a 22 °C aumenta la cantidad de colifagos en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas de 400 UFP/ml a 600 UFP/mL.
3. Los rangos de pH en los ríos Alameda y Huatatas se mantuvieron constantes entre 7.5 y 8.2.
4. No se detectó presencia de cloro en las muestras analizadas de ambos ríos.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Realizar la caracterización fisicoquímica “in vitro” de los bacteriófagos aislados en los ríos Alameda y Huatatas.
- Utilizar diferentes cepas de bacterias para el aislamiento de bacteriófagos presentes en los ríos Alameda y Huatatas.
- Incluir la medición de materia orgánica y turbidez para analizar si afectan en la cantidad de colífagos.
- Se sugiere evaluar la presencia de colífagos somáticos y F específicos por separado.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar Montes de oca. (2019). Caracterización y aplicación de bacteriófagos líticos en Salmonela enterica utilizando un modelo in vitro [Tesis Doctoral, Universidad Autónoma del estado de México]. pdf. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/105561/Tesis%20-%20doctorado%20Saul.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Arcos Pulido, M. D. P., Ávila De Navia, Msc, S. L., Estupiñán Torres, Msc, S. M., & Gómez Prieto, A. C. (2005a). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 3(4), 69-79. <https://doi.org/10.22490/24629448.338>
- Ango Aguilar, H., & Guevara Montero, R. (1999). *Detección de colífagos en fuentes de agua en Ayacucho*. En Libro de resúmenes 1999 (pp. 17-22). Universidad Ricardo Palma.
- Blanco Picazo, P. B. (2022). Bacteriófagos y movilización de genes de resistencia a antibióticos desde una perspectiva One- Health [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. pdf. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/PBP\\_TESIS%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/PBP_TESIS%20(2).pdf)
- Bracho, M., & Morón, V. (2008). Detección del virus de la hepatitis A , adenovirus 40 y 41 y bacteriófagos en agua para consumo humano. *CIENCIA*, 16(3), 8. pdf.
- Brown Jaque, M. (2018). Bacteriófagos en el cuerpo humano [Tesis Doctoral, Universitat de Barcelona]. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/MABJ\\_TESIS%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/MABJ_TESIS%20(3).pdf)
- Busbano Rosero, E., & Guerrero Ceballos, D. L. (2023). Escherichia coli y colífagos somáticos: Bioindicadores de contaminación fecal en el lago Guamuez [Universidad de Nariño]. pdf. <https://sired.udenar.edu.co/10365/>
- Cusiche Pérez, L. F., & Miranda Zambrano, G. A. (2019). Contaminación por aguas residuales e indicadores de calidad en la reserva nacional 'Lago Junín', Perú. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(6), 1433-1447. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1870>
- Espejo T, R. (1980a). Bacteriófagos (Vol. 12, p. 104). Eva V. Chesneau.
- Espinosa-García, A. C., & Arias-Ortiz, C. F. (2004). Virus en sistemas acuáticos e implicaciones en salud pública Virus in aquatic systems and public health implications. 14(2).
- Flores Dominick, V. de J. (2017). Aislamiento y caracterización de un bacteriófago con actividad lítica para *Vibrio fluvialis* [Maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. pdf. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/7ce1e76a-d387-42de-a2be-2df706ea2b2c/content>
- Galindo García, C. M. G. (2011). UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA. 70.
- García Salazar, I. A. (2018). Aislamiento de bacteriófago de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogo-resistente en aguas de tres ríos de la provincia de Lima—Peru [Título profesional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. pdf. <https://core.ac.uk/download/pdf/323343804.pdf>

- Gaviria, G., & González, M. (2012). Técnica para asilamiento de bacteriófagos específicos para *E. coli* DH5a a partir de aguas residuales. 17(1), 9. pdf.
- Gordon, B., & Brown, J. (2000). Evaluación de métodos para el tratamiento domésticos del agua: Metas sanitarias y especificaciones de eficiencia microbiológica (675; p. 78). Organización Mundial de la Salud; pdf. [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/79186/9789243548227\\_spa.pdf?utm\\_source=chatgpt.com](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/79186/9789243548227_spa.pdf?utm_source=chatgpt.com)
- Grabow, W. (2001). Bacteriófagos: Update on application as models for viruses in water. 27(2), 18. pdf.
- Grabow, W. (2004). Bacteriófagos: Update on application as models for viruses in water. *Water SA*, 27(2), 251-268. <https://doi.org/10.4314/wsa.v27i2.4999>
- Granda Játiva. (2021). Aislamiento de bacteriófagos inhibidores del crecimiento de *Listeria* spp con resistencia antimicrobiana [Título profesional, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/26730/1/TTQ191.pdf>
- Guzmán Quintero, A., & Palacios Vélez, O. (2007). La contaminación del agua superficial en la cuenca del Río Texcoco, México. *Agrociencia*, 41, 385-393.
- Gyles, C. L., & Fairbrother, J. M. (2010). *Escherichia Coli*. En C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer, & C. O. Thoen (Eds.), *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals* (1.<sup>a</sup> ed., pp. 267-308). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470958209.ch15>
- Häder, D.-P., Williamson, C. E., Wängberg, S.-Å., Rautio, M., Rose, K. C., Gao, K., Helbling, E. W., Sinha, R. P., & Worrest, R. (2014a). Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with other environmental factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 14(1), 108-126. <https://doi.org/10.1039/c4pp90035a>
- Hall, G., & Ramírez, A. (2021b). Aislamiento y Caracterización de bacteriófagos específicos de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. A partir de aguas residuales [Título profesional, Universidad de Panamá]. pdf. [https://up-rid.up.ac.pa/6366/1/gina\\_hall.pdf](https://up-rid.up.ac.pa/6366/1/gina_hall.pdf)
- Jorquera, D., Galarce, N., & Borie, C. (2015). El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: Bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. *Revista chilena de infectología*, 32(6), 678-688. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000700010>
- Judson, M. J., & Ribeiro Rosa, E. (2024). Morfología de las placas de bacteriófagos líticos que infectan *Escherichia coli* aislados de muestras de aguas residuales y ríos de Curitiba, Brasil. *Revista Academica ciencias animales*, 22, 7. pdf. <http://dx.doi.org/10.7213/acad.2024.22006>
- Kutter, E., & Sulakvelidze, A. (2004). *Bacteriófagos: Biology and Applications*. CRC Press.
- Larrea-Murrell, J. A., Rojas-Badía, M. M., & Romeu-Álvarez, B. (2012). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: Revisión de la literatura. 44(3). pdf. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181229302004.pdf>

- Luján Urseler, N., Bachetti, R. A., Damilano, G., Morgante, V., Ingaramo, R. N., & Saino, V. (2019). CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y USOS DEL AGUA SUBTERRÁNEA EN ESTABLECIMIENTOS AGROPECUARIOS DEL CENTRO-SUR DE CÓRDOBA, ARGENTINA. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(4), 839-848. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.04.06>
- Madigan, M., & Martinko, J. (2009). *Brock Biología de los microorganismos* (14 edición). Pearson educacion S.A.; pdf. <https://eduteka.icesi.edu.co/proyectos/gp/doc/py-186017-454933-2588-20240116.pdf>
- Martín Díaz, J. (2017). Utilidad de los bacteriófagos y otros indicadores de contaminación fecal en muestras ambientales sólidas [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. pdf. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD\\_TESIS%20\(7\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD_TESIS%20(7).pdf)
- Martín Díaz, J. (2017). Utilidad de los bacteriófagos y otros indicadores de contaminación fecal en muestras ambientales sólidas [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. pdf. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD\\_TESIS%20\(6\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD_TESIS%20(6).pdf)
- Méjico Orosco, E. (2011). Recuento de coliformes fecales, coliformes totales y colífagos en agua de consumo humano en la comunidad de Uchuypampa 2009 [Tesis para optar título profesional, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga]. pdf. <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/19402fa9-2b94-478a-a15d-97c0444c0b5e/content>
- Meza Pacheco, A. P. (2016). Aislamiento y caracterización de bacteriófagos para cepas nosocomiales de *Acinetobacter baumannii* de Lima e Iquitos, Perú 2014-2015 [Tesis para optar título profesional, Universidad católica de Santa Mría]. pdf. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/803675ce-5e5a-4cb6-86db-0c3286cdcdfa/content>
- Mojica, K. D. A., & Brussaard, C. P. D. (2014). Factors affecting virus dynamics and microbial host virus interactions in marine environments. *FEMS Microbiology Ecology*, 89(3), 495-515. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12343>
- Montoya Vargas, M. J. (2019). Evaluación de la contaminación fecal y propuesta de control en la microcuenca del río Olia, región amazonas [Tesis para optar título profesional, Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur]. pdf. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/6595113>
- Nallelyt Segundo, & Hernandez, E. (2010). Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas (fagoterapia). *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 41(3), 11.
- Nelson, K. L., Boehm, A. B., Davies-Colley, R. J., Dodd, M. C., Kohn, T., Linden, Karl. G., Liu, Y., Maraccini, P. A., McNeill, K., Mitch, W. A., Nguyen, T. H., Parker, K. M., Rodriguez, R. A., Sassoubre, L. M., Silverman, A. I., Wigginton, K. R., & Zepp, R. G. (2018). Sunlight-mediated inactivation of health-relevant microorganisms in water: A review of mechanisms and

- modeling approaches. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 20(8), 1089-1122. <https://doi.org/10.1039/C8EM00047F>
- Olivas-Enriquez, E., Flores-Margez, J. P., Serrano-Alamillo, M., Soto-Mejía, E., Iglesias-Olivas, J., Salazar-Sosa, E., Fortis-Hernández, M., Olivas-Enriquez, E., Flores-Margez, J. P., Serrano-Alamillo, M., Soto-Mejía, E., Iglesias-Olivas, J., Salazar-Sosa, E., & Fortis-Hernández, M. (2011). Indicadores fecales y patógenos en agua descargada al Río Bravo. *Terra Latinoamericana*, 29(4), 449-457.
- Osorio, J. C. C. (2015). Bacteriófagos: Aspectos generales y aplicaciones clínicas. *Hechos Microbiológicos*, 6(1-2), Article 1-2. <https://doi.org/10.17533/udea.hm.335348>
- Paz-y-Miño, M., Barzola, C., Lazcano, C., Ponce, M., & León, J. (2003a). Colifagos como indicadores de contaminación fecal y de remoción bacteriana en la potabilización del agua. *Revista Peruana de Biología*, 10(2), 133-144. <https://doi.org/10.15381/rpb.v10i2.2495>
- Perdomo, C. H., & Casanova, O. N. (2001). Contaminación de aguas subterráneas con nitratos y coliformes en el litoral sudoeste del Uruguay. *Agrociencia*, V(1), 13. pdf.
- Primrose, S. B. (1976). *Introducción a la virología moderna* (Primera edición). Hermann Blume ediciones.
- Punil, L. (2017). Caracterización de un bacteriófago específico de *Escherichia coli* aislado de aguas residuales de «La Taboada» [Título profesional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. pdf. <https://core.ac.uk/download/pdf/323342482.pdf>
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236-247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>
- Rubalcaba, S. C., González, M. I. G., & Rojas, T. T. (2007). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares (Cuba).
- Santander M., J., & Robeson C., J. (2002). Aislamiento y caracterización de bacteriófagos activos contra *Salmonella enteritidis* y su ensayo en *Salmonella pullorum*. *Laboratorio de Bacteriología*, 8(17), 5. pdf. <https://doi.org/UCV 122.759.2000>.
- Seañez Reyes, Rr. (2001). Aislamiento de bacteriófagos y su aplicación en la contaminación de la Bahía Todos Santos, B.C. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California]. pdf. <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/server/api/core/bitstreams/a56b84f9-097c-4f59-9687-f78289f4ddb9/content>
- Sinton, L. W., Finlay, R. K., & Lynch, P. A. (1999). Sunlight Inactivation of Fecal Bacteriophages and Bacteria in Sewage-Polluted Seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8), 3605-3613. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.8.3605-3613.1999>
- Vanegas, L. (2015). Indicadores de Contaminación fecal en la subcuenca del Río Gil González. *Universidad y Ciencia*, 6(9), 31-37. <https://doi.org/10.5377/uyc.v6i9.1954>

- Victoria Blanco, E. E. (2021). Caracterización de bacteriófagos provenientes de aguas residuales de río Abajo, ciudad de Panamá con actividad antimicrobiana contra el complejo *Enterobacter cloacae* [Tesis de Maestría, Universidad de Panamá]. pdf. [https://up-rid.up.ac.pa/4497/1/ednner\\_victoria.pdf](https://up-rid.up.ac.pa/4497/1/ednner_victoria.pdf)
- Wommack, E., & Calwell, R. R. (1997). Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(1), 77-83. <https://doi.org/10.1128/aem.63.1.77-83.1997>

## **ANEXOS**

**Anexo 1. Punto 1 de muestreo del río Huatatas.**

## **RÍO HUATATAS**



**NOTA:** En el punto 1 del río Huatatas hubo accesibilidad al punto al realizar una caminata de 15 minutos, al ser alejado de la ciudad no hubo presencia de contaminación en los ríos.

### Anexo 2. Punto 2 de muestreo del río Huatatas.



**Nota:** En el punto 2 se observó que, tras una caminata de 15 minutos para acceder al lugar, había actividad humana alrededor del río, específicamente siembra de choclo. En las orillas del río no se detectó contaminación ni se encontraron desechos.

### Anexo 3. Punto 3 de muestreo del río Huatatas.



**Nota:** Se tuvo acceso al punto de muestreo y se observó la presencia de desechos en las orillas de los ríos. Además, se percibieron olores desagradables debido a la descomposición de materia orgánica. Las casas aledañas utilizaban el río como depósito de desechos.

#### Anexo 4. Punto 1 de muestreo del río Alameda.

### RÍO ALAMEDA



**Nota:** En el punto 1 del río Alameda, se observó, tras una caminata de aproximadamente 45 minutos, que no hubo contaminación en el río, ya que este punto se encontraba alejado de la ciudad, donde no se registró actividad humana. El agua se presentó más clara, sin presencia de turbidez, y no se detectaron olores desagradables.

### Anexo 5. Punto 2 de muestreo del río Alameda.



**Nota:** En el punto 2 de muestreo del río Alameda, ubicado cerca del evitamiento, se observó que las personas y casas aledañas utilizan este punto como depósito de desechos. Se percibieron olores desagradables y el agua presentaba turbidez.

### Anexo 6. Punto 3 de muestreo del río Alameda.



**Nota:** En el punto 3 del río Alameda, se tuvo acceso tras una caminata de 15 minutos. Se observó que el agua presentaba turbidez y había presencia de desechos en el río. En las orillas se notó acumulación de desechos como bolsas de plástico y botellas. Además, se percibió un olor desagradable.

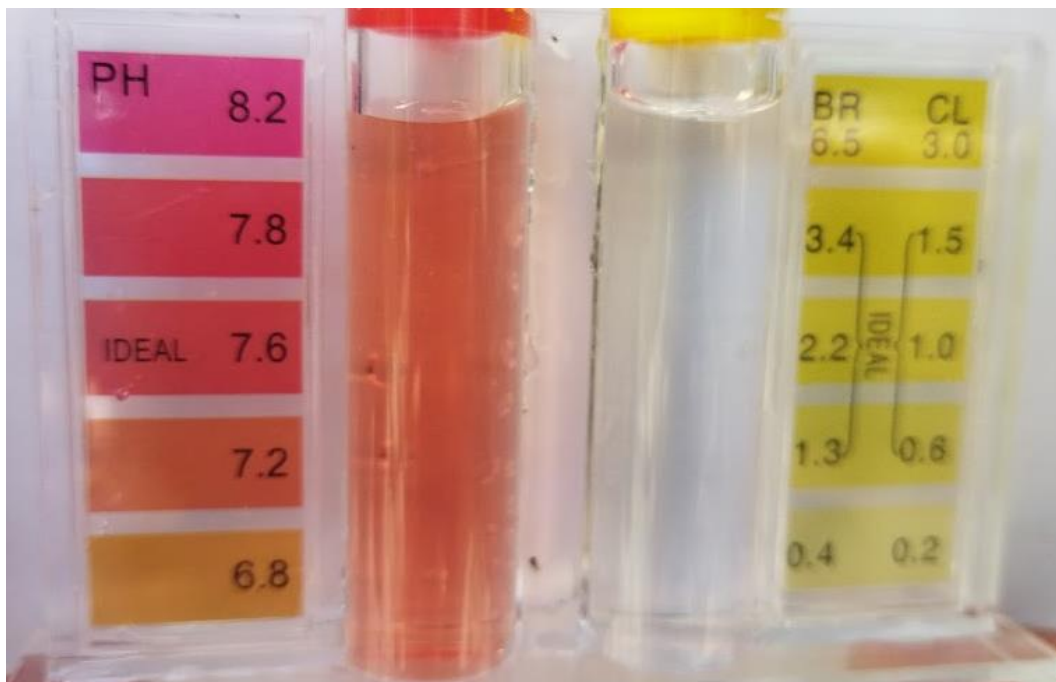
**Anexo 7.** Toma de muestra en el punto 2 del río Alameda.



**Anexo 8.** Registro de temperatura en el punto 1 de río Huatatas.



**Anexo 9.** Registro de pH y Cloro kit en cada punto de muestreo.



**Anexo 10.** Materiales para el filtrado de muestras de agua de los ríos.



**Anexo 11.** Observación de UFP en muestras de agua de río.



**Anexo 12.** Datos registrados en campo del río Huatatas.

**Tabla 2**

*Datos de radiación solar (W/m<sup>2</sup>) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde.*

FECHAS	RAD 1	CANTIDAD 1	CANTIDAD 2	CANTIDAD 3	fechas	RAD 1	CANTIDAD 1	CANTIDAD2	CANTIDAD 3
	(W/m <sup>2</sup> ) mañana					T (W/m <sup>2</sup> ) tarde			
1	197	0	0	650	1	590	0	0	495
8	198	0	0	640	7	630	0	0	470
5	200	0	0	570	9	670	0	0	555
12	260	0	0	555	3	690	0	0	550
6	260	0	0	560	8	693	0	0	500
2	275	0	0	480	11	730	0	0	465
9	340	0	0	475	12	740	0	0	480
4	350	0	0	460	2	750	0	0	440
3	397	0	0	440	5	763	0	0	475
11	420	0	0	435	4	784	0	0	425
10	440	0	0	425	6	800	0	0	435
7	450	0	0	470	10	860	0	0	345

**Tabla 3**

*Datos registrados de pH y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la mañana.*

Fechas	Mañana 1	Cantidad 1	Fechas	Mañana 2	Cantidad 2	Fechas	Mañana 3	Cantidad 3
1	7.8	0	1	8.2	0	1	8.2	650
2	7.8	0	2	8.2	0	2	8.2	640
3	7.8	0	3	8.2	0	3	8.2	570
4	7.8	0	4	8.2	0	4	8.2	555
5	7.8	0	5	8.2	0	5	8.2	560
6	7.5	0	6	7.8	0	6	7.8	480
7	7.8	0	7	7.5	0	7	7.8	475
8	8.2	0	8	7.5	0	8	7.5	460
9	8.2	0	9	8.2	0	9	7.5	440
10	8.2	0	10	7.8	0	10	7.5	435
11	7.8	0	11	7.8	0	11	8.2	425
12	7.8	0	12	7.5	0	12	7.8	470

Fechas	pH Promedio	Cantidad 1	Fechas	pH Promedio	Cantidad 2	Fechas	pH Promedio	Cantidad 3
1,2,3,4,5,6,10,11,12	5.17	0	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10	7.98	0	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12	7.93	513.3
7,8,9	8.07	0	11,12	7.65	0			

**Tabla 4**

*Datos registrados de pH y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la tarde.*

Fechas	Tarde 1	Cantidad 1	Fechas	Tarde 2	Cantidad 2	Fechas	Tarde 3	Cantidad 3
1	8.2	0	1	7.5	0	1	8.2	495
2	8.2	0	2	7.5	0	2	8.2	470
3	8.2	0	3	7.5	0	3	8.2	555
4	8.2	0	4	8.2	0	4	8.2	550
5	8.2	0	5	8.2	0	5	8.2	500
6	8.2	0	6	8.2	0	6	8.2	465
7	8.2	0	7	8.2	0	7	8.2	480
8	8.2	0	8	8.2	0	8	8.2	440
9	8.2	0	9	8.2	0	9	8.2	475
10	8.2	0	10	7.5	0	10	8.2	425
11	8.2	0	11	7.5	0	11	8.2	435
12	8.2	0	12	7.5	0	12	8.2	345

Fechas	pH Promedio	Cantidad 1	Fechas	pH Promedio	Cantidad 2	Fechas	pH Promedio	Cantidad 3
1,2,3,4,5, 6,7,8,9,1 0,11,12	8.2	0	1,2,3,10, 11,12 4,5,6,7,8, 9	7.5 8.2	0 0	1,2,3,4, 5,6,7,8, 9,10,11 ,12	8.2	469.583333

**Tabla 5**

*Datos de temperatura (°C) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la mañana.*

Fechas	Mañana 1	Cantidad 1	Fechas	Mañana 2	Cantidad 2	Fechas	Mañana 3	Cantidad 3
1	10	0	1	13	0	1	19	650
2	10	0	2	13	0	2	20	640
3	10	0	3	13	0	3	19	570
4	11	0	4	16	0	4	19	555
5	11	0	5	16	0	5	19	560
6	11	0	6	16	0	6	20	480
7	13	0	7	19	0	7	20	475
8	13	0	8	18	0	8	20	460
9	13	0	9	19	0	9	19	440
10	14	0	10	16	0	10	19	435
11	14	0	11	14	0	11	18	425
12	14	0	12	14	0	12	18	470

Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad
1,2,3	10	0	1,2,3	13	0	1,2,3	19.3333333	620.0
4,5,6	11	0	11,12	14	0	4,5,6	19.3333333	531.7
7,8,9	13	0	4,5,6,10	16	0	7,8,9,10,11,1 2	19	450.8
10,11,12	14	0	7,8,9	18.666666 7	0			

**Tabla 6**

*Datos de temperatura (°C) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la tarde.*

Fechas	Tarde 1	Cantidad 1	Fechas	Tarde 2	Cantidad 2	Fechas	Tarde 3	Cantidad 3
1	18	0	1	19	0	1	19	495
2	18	0	2	19	0	2	19	470
3	18	0	3	19	0	3	19	555
4	17	0	4	20	0	4	19	550
5	17	0	5	21	0	5	18	500
6	17	0	6	22	0	6	17	465
7	17	0	7	21	0	7	17	480
8	17	0	8	20	0	8	18	440
9	17	0	9	21	0	9	20	475
10	20	0	10	19	0	10	18	425
11	20	0	11	19	0	11	18	435
12	20	0	12	18	0	12	18	345
Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad
1,2,3	18	0	1,2,3	19	0.0	1,2,3	18	401.7
4,5,6,7,8,9	17	0	10,11,12	18.6666667	0.0	10,11,12	18	505.0
10,11,12	20	0	4,5,6	21	0.0	4,5,6	18.3333333	465.0
			7,8,9	20.6666667	0.0	7,8,9	19	506.7

### Anexo 13. Datos registrados en campo del río Alameda.

**Tabla 7**

*Datos de radiación solar (W/m<sup>2</sup>) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde del río Alameda.*

Fechas	RAD	Cantida	Cantida	Cantida	Fechas	RAD	Cantidad	Cantidad	Cantidad
	(W/m <sup>2</sup> ) Mañana	d Punto 1	d Punto 2	d Punto 3		(W/m <sup>2</sup> ) Tarde	Punto 1	Punto 2	Punto 3
6	187	0	305	1375	2	469	0	180	1240
7	230	0	200	1050	4	500	0	375	1190
8	234	0	260	1415	8	520	0	190	1020
2	300	0	185	1275	9	615	0	315	990
1	321	0	325	1160	6	700	0	325	925
5	326	0	185	945	5	707	0	415	1025
9	330	0	265	1230	7	715	0	190	890
10	334	0	125	1200	10	765	0	135	880
12	358	0	130	1070	3	769	0	125	785
4	373	0	190	1050	1	773	0	65	745
3	427	0	215	1015	11	820	0	58	660
11	464	0	200	920	12	877	0	40	605

**Tabla 8**

*Datos registrados de pH y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana y tarde.*

Horario de muestreo	Fechas	pH mañana 1	Cantidad Punto 1	pH mañana 2	Cantidad Punto 2	pH mañana 3	Cantidad Punto 3
Mañana	1	8.2	0	8.2	325	8.2	1160
	2	8.2	0	8.2	185	8.2	1275
	3	8.2	0	8.2	215	8.2	1015
	4	8.2	0	8.2	190	8.2	1050
	5	8.2	0	8.2	185	8.2	945
	6	8.2	0	8.2	305	8.2	1375
	7	7.5	0	8.2	200	8.2	1050
	8	7.5	0	8.2	260	8.2	1415
	9	7.5	0	8.2	265	8.2	1230
	10	8.2	0	8.2	125	8.2	1200
	11	8.2	0	8.2	200	8.2	920
	12	8.2	0	8.2	130	8.2	1070
Tarde	1	8.2	0	7.5	65	8.2	745
	2	8.2	0	7.5	180	8.2	1240
	3	8.2	0	7.5	125	8.2	785
	4	8.2	0	8.2	375	8.2	1190
	5	8.2	0	8.2	415	8.2	1025
	6	8.2	0	8.2	325	8.2	925
	7	8.2	0	8.2	190	8.2	890
	8	8.2	0	8.2	190	8.2	1020
	9	8.2	0	8.2	315	8.2	990
	10	7.5	0	8.2	135	8.2	880
	11	7.5	0	8.2	58	8.2	660
	12	7.5	0	8.2	40	8.2	605

**Tabla 9**

*Datos registrados de Temperatura (°C) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana.*

Fechas Mañana	Tempera tura (°C)	Cantidad Punto 1	Fechas Mañana	Tempera tura (°C)	Cantidad Punto 2	Fechas Mañana	Tempera tura (°C)	Cantidad Punto 3
1	13	0		15	325		15	1160
2	13	0		15	185		15	1275
3	13	0		15	215		15	1015
4	15	0		15	190		20	1050
5	15	0		15	185		20	945
6	15	0		15	305		20	1375
7	15	0		17	200		17	1050
8	15	0		17	260		17	1415
9	15	0		17	265		17	1230
10	14	0		20	125		21	1200
11	14	0		20	200		21	920
12	14	0		20	130		21	1070
Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio
1,2,3	13	0	1,6	15	234.666667	1,3	15	1150
10,11,12	14	0	7,8,9	17	241.666667	7,8,9	17	1231.66667
4,5,6,7,8,9	15	0	10,11,12	20	151.666667	4,6	20	1123.33333

**Tabla 10**

*Datos registrados de Temperatura (°C) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la tarde.*

Fechas Tarde	Temperat ura (°C)	Cantidad Punto 1	Fechas Tarde	Temperat ura (°C)	Cantidad Punto 2	Fechas Tarde	Temperat ura (°C)	Cantidad Punto 3
1	18	0	1	19	65	1	21	745
2	18	0	2	19	180	2	21	1240
3	18	0	3	19	125	3	21	785
4	20	0	4	22	375	4	22	1190
5	20	0	5	22	415	5	22	1025
6	20	0	6	22	325	6	22	925
7	20	0	7	22	190	7	21	890
8	20	0	8	22	190	8	21	1020
9	20	0	9	22	315	9	21	990
10	15	0	10	17	135	10	20	880
11	15	0	11	17	58	11	20	660
12	15	0	12	17	40	12	20	605
Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio
10,11,12	15	0	10,11,12	17	77.6666667	10,11,12	20	715
1,2,3	18	0	1,2,3	19	123.333333	1,2,3,7,8,9	21	945
4,5,6,7,8,9	20	0	4,5,6,7,8,9	22	301.666667	4,5,6	22	1046.66667

### Anexo 14. Matriz de consistencia.

**Título** : Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas-Ayacucho 2021

**Autor** : Yazmin Lisbeth Canchari Rojas

**Asesor:** Dr. José Alarcón Guerrero

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Cuál será la cantidad y que características fisicoquímicas tendrán los colifagos aislados de los ríos Alameda y Huatatas?	<p><b>General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar colifagos procedentes de los ríos Alameda y Huatatas.</li> </ul> <p><b>Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aislar y caracterizar colifagos procedentes de los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Cuantificar colifagos utilizando como cepa receptora a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076 en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Determinar el efecto de la radiación solar en colifagos utilizando como cepa receptora a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076 en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Determinar la sensibilidad del cloro en colifagos utilizando como cepa receptora a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076 en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> </ul>	<p><b>Antecedentes</b></p> <p><b>Marco conceptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Frecuencia</li> <li>• Huésped</li> <li>• Placa</li> <li>• Colifagos</li> <li>• Célula hospedera</li> </ul> <p><b>Bases teóricas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Control de calidad microbiológica del agua</li> <li>• Características de los ríos Huatatas y Alameda</li> <li>• Bacteriófagos</li> <li>• Estructura de los bacteriófagos</li> <li>• Ciclo del bacteriófago</li> <li>• Virus indicadores de calidad sanitaria en el agua</li> <li>• Bacterias presentes en el agua</li> <li>• Bacteria entérica indicadora</li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• Cuantificación de virus</li> <li>• Técnicas de enumeración e identificación de bacteriófagos</li> <li>• Determinación de placa de lisis</li> <li>• Técnica de membrana filtro adsorción</li> </ul>	<p><b>Variable</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cantidad de colifagos presentes en los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Características fisicoquímicas de los colifagos (efecto de la radiación solar y sensibilidad al cloro)</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Unidades formadores de placas (UFP)</li> <li>• Variación de la radiación solar en los días de muestreo.</li> <li>• Variación del cloro en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> </ul>	<p><b>Tipo de investigación</b> Básico</p> <p><b>Nivel de investigación</b> Descriptiva comparativa</p> <p><b>Método</b> Comparativo Estadístico</p> <p><b>Diseño</b> Descriptivo</p> <p><b>Análisis de datos</b></p> <p><b>Población</b> Aguas del río Alameda y Huatatas</p> <p><b>Muestras</b> Las muestras de agua recolectadas en los puntos de muestreo.</p> <p><b>Técnicas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La determinación de bacteriófagos se realizará mediante la prueba de la gota o Spot test descrita por twest y kropinski con modificaciones "doble capa".</li> <li>• La determinación de cloro se realizará siguiendo el protocolo de monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales – DIGESA.</li> </ul> <p><b>Instrumentos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Equipo de filtración al vacío</li> <li>• Incubadora</li> </ul> <p><b>Materiales y equipos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Asa de kolle</li> <li>• Centrifuga</li> <li>• Matraces Erlenmeyer</li> <li>• Micropipeta</li> <li>• Papel de filtro</li> <li>• Tips</li> <li>• Tubos de ensayo</li> </ul>

**UNSCH**FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS**  
**RESOLUCIÓN DECANAL N° 024-2025-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes siete de marzo del año dos mil veinticinco; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista, el Dr. Homero Ango Aguilar (miembro – jurado), Dra. Nilda Aurea Apayco Espinoza (miembro – jurado), Mg. Dante Moisés Barrenechea Bustamante (miembro – jurado), Dr. José Alarcón Guerrero (miembro – asesor), actuando como secretario docente el Mg. Luis Uriel Moscoso García; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021**, presentado por la **Bach. Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS**; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

<b>Miembros del jurado evaluador</b>	<b>Exposición</b>	<b>Respuesta/preguntas</b>	<b>Promedio</b>
Dr. Homero Ango Aguilar	13	13	13
Dra. Nilda Aurea Apayco Espinoza	16	16	16
Mg. Dante Moisés Barrenechea Bustamante	15	15	15
		<b>PROMEDIO</b>	<b>15</b>

La sustentante alcanzó el promedio de 15 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis de la tarde con treinta minutos; firmando al pie del presente en señal de conformidad.

Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista  
Presidente

Dr. Homero Ango Aguilar  
Miembro – Jurado

Dra. Nilda Aurea Apayco Espinoza  
Miembro – Jurado

Mg. Dante Moisés Barrenechea Bustamante  
Miembro – Jurado

Dr. José Alarcón Guerrero  
Miembro – Asesor

Mg. Luis Uriel Moscoso García  
Secretario docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

N° 018-2025-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021**, por YAZMIN LISBETH CANCHARI ROJAS; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 9%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCHE-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 23 de abril de 2025.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Escuela Profesional de Biología  
  
Dr. Fidel R. Mujica Lengua  
DIRECTOR

# Cuantificación de colífagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021

*por* Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS

---

**Fecha de entrega:** 22-abr-2025 09:00p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2654121142

**Nombre del archivo:** NCHARI\_ROJAS\_-Yazmin-\_Lisbeth\_-pregrado-2025\_TURNITIN\_PDF\_3.pdf (963.87K)

**Total de palabras:** 11883

**Total de caracteres:** 61372

# Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021

## INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

9%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="https://up-rid.up.ac.pa">up-rid.up.ac.pa</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="http://www.urbe.edu">www.urbe.edu</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://biblioteca.usac.edu.gt">biblioteca.usac.edu.gt</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://dieumsnh.qfb.umich.mx">dieumsnh.qfb.umich.mx</a> Fuente de Internet	1%
6	Marco Paz-y-Miño, Carmen Barzola, César Lazcano, Milagros Ponce, Jorge León. "Colifagos como indicadores de contaminación fecal y de remoción bacteriana en la potabilización del agua", Revista Peruana de Biología, 2013 Publicación	<1%
7	<a href="http://www.produccioncientificaluz.org">www.produccioncientificaluz.org</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="http://www.pumagua.unam.mx">www.pumagua.unam.mx</a> Fuente de Internet	<1%
9	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	<1%

---

10	<a href="http://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
11	<a href="http://repositorio.upn.edu.pe">repositorio.upn.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
12	<a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a> Fuente de Internet	<1 %
13	<a href="http://html.rincondelvago.com">html.rincondelvago.com</a> Fuente de Internet	<1 %

---

---

Excluir citas      Activo

Excluir bibliografía      Activo

Excluir coincidencias      < 30 words

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**TESIS:**

**Cuantificación de colifagos y caracterización  
fisicoquímica en aguas del río Alameda  
y Huatatas- Ayacucho 2021**

Para optar el título profesional de:

**BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA**

PRESENTADO POR:

**Bach. Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS**

ASESOR:

**Dr. José ALARCÓN GUERRERO**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2025**

A mis padres y hermanas, por  
su amor y apoyo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y a la Facultad de Ciencias Biológicas, por proporcionarme un espacio de aprendizaje y crecimiento en cada etapa de mi formación.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a su plana docente de la Escuela Profesional de Biología, por ser el lugar que me brindó las oportunidades necesarias para desarrollarme plenamente como persona, fortalecer mis conocimientos académicos, explorar el ámbito científico y prepararme para enfrentar los desafíos del mundo profesional.

Al Dr. José Alarcón Guerrero asesor principal, cuyo valioso respaldo y orientación fueron fundamentales en el desarrollo de este proyecto.

A los biólogos Ana María Cancho Cuba, docente de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Escuela Profesional de Biología, por su valioso asesoramiento, paciencia y orientación, que hicieron posible la realización y culminación de este trabajo de investigación.

Al biólogo Walter Cépida Lahuana, por su invaluable guía y su constante apoyo, los cuales fueron fundamentales para llevar a cabo y finalizar este trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	5
2.1.3. Antecedentes locales	5
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. Colífago	6
2.2.2. Virión	6
2.2.3. Calva	6
2.2.4. Capsómero	6
2.2.5. Célula hospedadora	6
2.2.6. Ruta lisogenia	6
2.2.7. ATCC 13076	6
2.3. Bases teóricas	6
2.3.1. Virus indicadores de contaminación en aguas de ríos	6
2.3.2. Bacteriófagos	7
2.3.3. Importancia ecológica y sanitaria de los bacteriófagos	13
2.3.4. Detección y recuento de virus: el ensayo de calvas	14
2.3.5. Factores ambientales y su influencia en los bacteriófagos	15
2.3.6. Bacterias indicadoras de contaminación en aguas de ríos	17
2.3.7. <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076	19
2.3.8. Factores que afectan la calidad de agua en ríos	19
2.4. Marco legal y normativo	20
III. MATERIALES Y METODOS	21
3.1. Zona de estudio, ubicación política y geográfica área de estudio	21

3.2.	Población	22
3.3.	Muestra	22
3.4.	Sistema de muestreo	22
3.5.	Metodología y recolección de datos	23
3.5.1.	Procedimiento pre analítico	23
3.5.2.	Procedimiento analítico	23
3.5.3.	Procedimiento post analítico	24
IV.	RESULTADOS	25
V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	42
VII.	RECOMENDACIONES	43
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
	ANEXOS	49

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1</b> <i>Ubicación política y geográfica de los ríos Alameda y Huatatas.</i>	21
<b>Tabla 2</b> <i>Datos de radiación solar (<math>W/m^2</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde.</i>	57
<b>Tabla 3</b> <i>Datos registrados de pH y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la mañana.</i>	57
<b>Tabla 4</b> <i>Datos registrados de pH y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la tarde.</i>	58
<b>Tabla 5</b> <i>Datos de temperatura (<math>^{\circ}C</math>) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la mañana.</i>	58
<b>Tabla 6</b> <i>Datos de temperatura (<math>^{\circ}C</math>) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la tarde.</i>	59
<b>Tabla 7</b> <i>Datos de radiación solar (<math>W/m^2</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde del río Alameda.</i>	60
<b>Tabla 8</b> <i>Datos registrados de pH y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana y tarde.</i>	60
<b>Tabla 9</b> <i>Datos registrados de Temperatura (<math>^{\circ}C</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana.</i>	61
<b>Tabla 10</b> <i>Datos registrados de Temperatura (<math>^{\circ}C</math>) y cantidad de colífagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la tarde.</i>	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> <i>Replicación viral de los bacteriófagos.</i>	10
<b>Figura 2</b> <i>Receptores de bacteriófagos que infectan a Escherichia coli.</i>	11
<b>Figura 3</b> <i>Mapa de ubicación de los puntos de muestreo de los ríos Alameda y Huatatas.</i>	12
<b>Figura 4</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante. Toma de Muestras en la Mañana (<math>r</math>=correlación de Pearson).</i>	26
<b>Figura 5</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas. Toma de Muestras en la tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	27
<b>Figura 6</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la mañana (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	28
<b>Figura 7</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante Toma de Muestras en la Tarde (<math>r</math>=correlación de Pearson).</i>	29
<b>Figura 8</b> <i>Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la Mañana y tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	30
<b>Figura 9</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda. Toma de Muestras en la mañana. (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	31
<b>Figura 10</b> <i>Efecto de la radiación solar (<math>W/m^2</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	32
<b>Figura 11</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	33
<b>Figura 12</b> <i>Efecto de la temperatura (<math>^{\circ}C</math>) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante Toma de Muestras en la tarde (<math>r</math>=Correlación de Pearson).</i>	34
<b>Figura 13</b> <i>Efecto del pH sobre la Concentración de Fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana.</i>	35
<b>Figura 14</b> <i>Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde.</i>	36

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1.</b> Punto 1 de muestreo del río Huatatas.	50
<b>Anexo 2.</b> Punto 2 de muestreo del río Huatatas.	51
<b>Anexo 3.</b> Punto 3 de muestreo del río Huatatas.	51
<b>Anexo 4.</b> Punto 1 de muestreo del río Alameda.	52
<b>Anexo 5.</b> Punto 2 de muestreo del río Alameda.	53
<b>Anexo 6.</b> Punto 3 de muestreo del río Alameda.	53
<b>Anexo 7.</b> Toma de muestra en el punto 2 del río Alameda.	54
<b>Anexo 8.</b> Registro de temperatura en el punto 1 de río Huatatas.	54
<b>Anexo 9.</b> Registro de pH y Cloro kit en cada punto de muestreo.	55
<b>Anexo 10.</b> Materiales para el filtrado de muestras de agua de los ríos.	55
<b>Anexo 11.</b> Observación de UFP en muestras de agua de río.	56
<b>Anexo 12.</b> Datos registrados en campo del río Huatatas.	57
<b>Anexo 13.</b> Datos registrados en campo del río Alameda.	60
<b>Anexo 14.</b> Matriz de consistencia.	62

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación titulado: Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas, Ayacucho 2021, tuvo como objetivo principal determinar la cantidad de colifagos en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas, empleando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076. Además, se evaluó el efecto de factores ambientales como la radiación solar, temperatura, pH y cloro sobre los colifagos presentes en estos cuerpos de agua. Las muestras de agua se recolectaron cada 10 días durante un total de 12 fechas, abarcando los meses de septiembre y noviembre de 2023. La investigación fue de tipo descriptiva. Los resultados fueron analizados mediante gráficos en Excel y correlaciones de Pearson utilizando el programa estadístico Minitab. Se realizaron muestreos en tres puntos de cada río, donde se midieron parámetros ambientales in situ y se recolectaron muestras de agua para su análisis en laboratorio. A través del método de filtro al vacío, se obtuvieron suspensiones de bacteriófagos, las cuales se sembraron en placas de agar utilizando la cepa receptora *E. coli* ATCC 13076. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, observándose calvas de 1 a 2 mm en las placas positivas. Posteriormente, se cuantificaron las Unidades Formadoras de Placa (UFP). Se encontró que factores como la radiación solar y la temperatura influyen significativamente en la cantidad de colifagos. Este estudio valida el uso de los colifagos como indicadores de calidad microbiológica del agua y aporta conocimiento sobre su comportamiento frente a distintos factores ambientales, lo cual resulta relevante para la gestión y el monitoreo de la calidad de agua en los ríos.

**Palabras clave:** colifagos, calvas, factores ambientales, indicadores, ríos.

## I. INTRODUCCIÓN

La contaminación de los cuerpos de agua es un problema crítico a nivel mundial debido a su impacto en la salud pública, la biodiversidad y las actividades humanas (Paz y Miño 2003). En particular, la presencia de microorganismos fecales en el agua representa un riesgo significativo, especialmente en regiones donde los ríos son utilizados para consumo humano, riego y actividades recreativas. La necesidad de contar con indicadores microbiológicos eficientes para monitorear la calidad del agua ha llevado a investigaciones sobre los colifagos, virus que infectan bacterias coliformes como *Escherichia coli*, debido a su capacidad de reflejar la contaminación fecal de manera precisa (Punil, 2017). Los colifagos son indicadores eficaces de contaminación fecal en aguas contaminadas, su incapacidad para reproducirse fuera del huésped, indicador de una contaminación fecal reciente (Enríquez, 2011) y su detección rápida mediante métodos sencillos. Estas características los convierten en una herramienta clave para evaluar la calidad del agua (Díaz, 2017).

En Ayacucho, Perú, los ríos Alameda y Huatatas son fuentes hídricas, pero enfrentan presiones ambientales y fuentes de contaminación fecal. Esto plantea la necesidad de evaluar su calidad microbiológica, especialmente en el contexto de su uso por las comunidades cercanas. Sin embargo, existe poca información específica sobre la relación entre factores ambientales y la cantidad de colifagos en estos ríos, lo que dificulta implementar estrategias efectivas de monitoreo y control. El enfoque de la investigación es descriptivo, ya que se busca determinar la cantidad de colifagos en las aguas de los ríos Alameda y Huatatas, así como evaluar cómo factores ambientales como la radiación solar, temperatura, pH y cloro afectan su presencia y concentración para lo cual se realizaron mediciones in situ. Se llevaron a cabo muestreos periódicos en tres puntos de cada río, seleccionados en función de su accesibilidad y relevancia para el estudio. El

estudio de los colifagos como indicadores de contaminación fecal en los ríos de Ayacucho tiene implicaciones directas para mejorar el monitoreo de la calidad del agua en la región. La información reportada en este trabajo busca servir de guía para promover la educación en las comunidades cercanas sobre la importancia de la conservación del agua y el impacto de la contaminación fecal en la salud pública, alentando prácticas sostenibles y el cuidado de los recursos hídricos. Establecer un programa de monitoreo regular de los colifagos y los parámetros ambientales en los cuerpos de agua, para garantizar que se mantengan dentro de los límites de seguridad para la salud pública.

La presente investigación tuvo como objetivo general determinar el número de colifagos utilizando la cepa receptora de *Escherichia coli* ATCC 13076 en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas. Asimismo, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar el efecto de la radiación solar en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.
2. Determinar el efecto de la temperatura en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.
3. Determinar el efecto del pH en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.
4. Determinar el efecto del cloro en los colifagos, utilizando como cepa receptora a *Escherichia coli* ATCC 13076, en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. Antecedentes internacionales

Judson y Rosa (2024) tuvieron como objetivo aislar bacteriófagos de ríos y aguas residuales urbanas en Curitiba, Paraná, en el sur de Brasil. El análisis de laboratorio reveló características distintivas en la macromorfología de las placas de fagos de *Escherichia coli*, representando varios morfotipos. La obtención de estos datos es un proceso relativamente rápido y barato, lo que destaca la importancia del cribado primario para la recuperación exitosa de fagos que serán utilizados posteriormente en la lucha contra *E. coli* a través de la tecnología de fagos.

Granda (2021) llevó a cabo una investigación cuyo objetivo fue aislar bacteriófagos con la capacidad de inhibir el crecimiento de cepas de *Listeria spp.* resistentes a antibióticos. Para ello, se recolectaron muestras de agua del río Machángara, en Ecuador, un entorno propicio para la presencia de bacteriófagos debido a sus altos niveles de contaminación. El aislamiento de los virus se realizó mediante la técnica de doble capa. Posteriormente, se evaluó su capacidad lítica frente a las bacterias objetivo y se procedió a concentrarlos con el fin de obtener una mayor cantidad de unidades formadoras de placa (UFP). Finalmente, los bacteriófagos fueron almacenados para su conservación.

Hall y Ramírez (2021) tuvieron el objetivo principal de su investigación aislar y caracterizar bacteriófagos competentes contra cepas ATCC de *E. coli*, y *Salmonella spp.* a partir de muestras de aguas residuales. Para ello, se aislaron cinco bacteriófagos procedentes de la Planta de Tratamiento de Agua Residuales (PTAR) de la Ciudad de Panamá, denominando a los aislados de *E. coli*. Estos fueron caracterizados con respecto a su rango de hospederos, sensibilidad al cloroformo, estabilidad ante diferentes rangos de pH, temperatura y exposición a

la luz UV; obteniendo como resultado que los 5 fagos son sensibles al cloroformo, se ven favorecidos de manera general en pH alcalinos y temperaturas ente 25° y 50°C; al ser expuestos a la luz UV, en la mayoría se observó una reducción significativa.

Bracho y Morón (2008) tuvieron como objetivo la evaluación de bacteriófagos en muestras de agua para consumo humano de la ciudad de Maracaibo, Venezuela. La concentración de bacteriófagos somáticos de *E. coli* y F-específicos. Como resultado se observó que el 35,6% de colífagos en concentraciones comprendidas entre 0,2 y 2,4 UFP/100 mL. El 82,9% de las muestras presentaron valores por encima de lo establecido en la normativa venezolana para la calidad del agua de consumo. En el 17,1% de las muestras que sí cumplían la normativa se detectó la presencia de bacteriófagos (42,8%), lo que implica un riesgo para la salud pública y pone en evidencia la necesidad de la validación de los procesos de tratamiento y potabilización del agua para consumo, así como la necesidad del monitoreo periódico de la calidad virológica del agua que es consumida por la población.

Blanco (2021), tuvo como objetivo de su estudio caracterizar bacteriófagos aislados de aguas residuales del Río Abajo, en Panamá, con capacidad antimicrobiana contra el complejo *Enterobacter cloacae*. Para el aislamiento de los fagos, se utilizó una muestra de agua del río y se aplicaron los métodos de enriquecimiento y doble capa de agar. Posteriormente, se llevaron a cabo ensayos de caracterización que incluyeron la evaluación de su estabilidad frente a diferentes valores de pH, temperaturas, exposición a luz ultravioleta (UV), sensibilidad al cloroformo y especificidad frente a huéspedes bacterianos. Se logró aislar un fago con placas de lisis claras, redondeadas, de entre 6 y 9 mm de diámetro, con una concentración de  $4.7 \times 10^7$  UFP/mL. En cuanto al pH, el fago mostró mayor estabilidad en el rango de 7 a 10. Respecto a la temperatura, se observó una mayor estabilidad a 37°C y 50°C. Finalmente, en la prueba de exposición a luz UV, se detectó que durante los primeros 15 minutos la capacidad de replicación del fago disminuyó hasta llegar a cero.

Santander y Robeson (2002) ,tuvieron como objetivo aislar fagos de *Salmonella enteritidis* en muestras procedentes de la industria avícola, lográndose aislar tres bacteriófagos líticos esta investigación se realizó en Chile. Los fagos fueron caracterizados, mediante técnicas bacteriológicas y moleculares, y se evaluó la actividad lítica "in vitro". Así mismo, son estables a 37 °C, pero su estabilidad comienza a decaer a temperaturas superiores a 45°C. También, toleran un amplio rango de pH entre 4 y 12.

### **2.1.2. Antecedentes nacionales**

García y Nicho (2018) su objetivo de este estudio fue aislar bacteriófagos dirigidos contra *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente a partir de muestras de agua recolectadas en tres ríos de la provincia de Lima, Perú. Los fagos fueron exitosamente aislados a partir de las muestras provenientes de los ríos Rímac y Chillón. Además, se evaluó la estabilidad térmica de los lisados a diferentes temperaturas (50 °C, 60 °C, 70 °C y 80 °C), destacando el lisado denominado LR2, que mostró mayor estabilidad a 50 °C y fue capaz de resistir temperaturas de 60 °C y 70 °C durante periodos cortos de tiempo.

Pacheco (2016) llevó a cabo una investigación con el propósito de encontrar bacteriófagos líticos específicos contra cepas nosocomiales de *Acinetobacter baumannii*, como una alternativa terapéutica al uso de antibióticos, conocida como fagoterapia. El estudio tuvo como objetivo aislar 48 bacteriófagos en las ciudades de Lima e Iquitos. Las placas de lisis observadas presentaron diámetros superiores a 1 mm, algunas con halos de hasta 5.2 mm de diámetro.

Paz y Miño (2003) evaluaron la eficacia del tratamiento del agua del río Rímac mediante decantación, filtración y cloración. Se cuantificaron colifagos, utilizando métodos de Capa Simple, Filtro de Membrana. Las muestras sin tratamiento contenían un promedio de 2267,25 UFP/100 mL de colifagos, mientras que las muestras tratadas presentaron reducciones progresivas hasta 1,07 UFP/100 mL tras la cloración.

### **2.1.3. Antecedentes locales**

Méjico (2011) realizó su trabajo de investigación sobre el recuento de coliformes fecales, coliformes totales y colifagos en agua de consumo humano en la comunidad de Uchuypampa, Ayacucho. En las fuentes de agua no tratada, se detectó una concentración de 910 UFP/100 mL de colifagos, 171 NMP/100 mL de coliformes totales y 114 NMP/100 mL de coliformes fecales. Tras el tratamiento del agua, la presencia de colifagos se redujo a 42 UFP/100 mL, mientras que los coliformes totales y fecales disminuyeron a menos de 2 NMP/100 mL. Estos resultados indican que el agua consumida por la comunidad aún presenta contaminación microbiológica.

El estudio realizado por Ango y Guevara (1999) evaluó la presencia de colifagos en diferentes fuentes de agua en la región de Ayacucho. Los resultados mostraron que, en muestras de agua de Riachuelo Alameda, Poza de oxidación Totorilla, Pozo Luricocha y Pileta pública de Huanta, los valores de colifagos oscilaron entre

11 y 43 UFP/mL. Sin embargo, en las muestras de agua potable de la ciudad de Ayacucho no se detectó la presencia de colífagos, lo que indicaría una mejor calidad microbiológica en comparación con las otras fuentes analizadas.

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Colífago**

Los colífagos son virus que infectan específicamente a bacterias del género *Escherichia coli* y usan estos para su replicación (Hall & Ramírez, 2021).

### **2.2.2. Virión**

Un virión es una partícula viral capaz de causar infección, compuesta por un genoma viral encapsulado dentro de una cubierta proteica (Primrose, 1976).

### **2.2.3. Calva**

Región de destrucción celular generada por la inhibición del crecimiento de células hospedadoras sensibles, provocada por la acción de un fago (Espejo , 1980).

### **2.2.4. Capsómero**

El capsómero es la sub unidad estructural que forma a la cápside de un virus siendo compuesto por proteínas que se establecen para formar estructuras más grandes y regular la cápside (Paz y Miño, 2003).

### **2.2.5. Célula hospedadora**

Célula en la que un virus se replica. Su maquinaria celular permite llevar a cabo los procesos de replicación, transcripción y traducción necesarios para producir la proteína codificada (Madigan y Martinko, 2009).

### **2.2.6. Ruta lisogenia**

El genoma del virus se replica al mismo tiempo que el genoma del hospedador (Madigan y Martinko, 2009).

### **2.2.7. ATCC 13076**

ATCC 13076 es el número de catálogo de una cepa de referencia de *Escherichia coli*, mantenida y distribuida por la American Type Culture Collection (ATCC). Este organismo es utilizado ampliamente en investigaciones científicas, ensayos de laboratorio y aplicaciones industriales debido a sus características bien definidas. Se utiliza como control positivo en pruebas de calidad y ensayos de susceptibilidad antimicrobiana.

## **2.3. Bases teóricas**

### **2.3.1. Virus indicadores de contaminación en aguas de ríos**

Los virus entéricos, que son eliminados a través de las heces de personas infectadas, pueden ser transmitidos al hombre a través del agua ( Pulido, 2005).

Los más comunes son los virus causantes de gastroenteritis y el virus de la hepatitis. Los indicadores tradicionales de contaminación bacteriana no evalúan de manera eficiente la presencia o ausencia de virus en el agua, ya que algunos virus son más resistentes a la desinfección que los organismos coliformes (Olivas 2011). Debido a estas dificultades, se han buscado indicadores alternativos como los fagos, que son de rápida y fácil detección y permiten prever el comportamiento de los enterovirus en el medio ambiente( García, 2011).

La presencia de virus en las aguas es un tema de preocupación debido a su abundancia y potencial impacto en la calidad del agua. Los virus, incluyendo los bacteriófagos, son los entes más abundantes en el planeta. En un litro de agua de mar de la costa, existen más virus que personas en el planeta, lo que resalta su inmensa abundancia(García y Ortiz, 2004). Además, se ha determinado que cada mililitro de agua de mar contiene millones de partículas virales, y su abundancia es aún mayor en sedimentos marinos superficiales cercanos a la costa, con una concentración de  $10^8$  a  $10^9$  virus por  $\text{cm}^3$  (Jorquera, 2015).

Los colífagos, un tipo de bacteriófago, son utilizados como indicadores de la eficacia del proceso de remoción microbiana en plantas de tratamiento de agua, debido a su resistencia a los procesos de tratamiento en comparación con las bacterias indicadoras convencionales.

### **2.3.2. Bacteriófagos**

Los bacteriófagos son virus que infectan de manera específica a las bacterias. Su existencia fue observada por primera vez en 1896, cuando Ernest Hanbury Hankin identificó un principio biológico en el agua de los ríos de la India que eliminaba cultivos de bacterias causantes del cólera. Más adelante, en 1915, Frederick Twort describió un agente filtrable capaz de lisar bacterias, aunque no podía reproducirse por sí solo. Posteriormente, en 1917, Félix d'Herelle realizó estudios independientes en los que acuñó el término *bacteriófago* (del griego *phagein*, que significa "comer") en referencia a la capacidad de estos virus de destruir bacterias. D'Herelle también investigó su uso en el biocontrol y la fagoterapia (Águilas, 2019; Montes de Oca, 2019).

Los bacteriófagos, también conocidos como fagos, se encuentran en todas partes, con una estimación de  $10^{31}$  (Brown Jaque, 2018). Los fagos están presentes en todos los entornos donde se encuentran altas concentraciones de bacterias, como en el agua, aguas residuales, suelo o sedimentos (Segundo., 2010) y en alimentos (García, 2010). Además, se encuentran en ecosistemas extremos como las

profundidades marinas, lagos con pH alcalino (pH 10), salinas (diez veces más saladas que el océano), aguas termales ácidas (a 80 °C), lagos polares y el subsuelo. Terrestre a más de 2.000 metros de profundidad, así como en cualquier lugar donde esté presente su bacteria huésped (Kutateladze y Adamia, 2010). En los seres humanos, se han aislado diversos fagos en el intestino, la orina y la cavidad oral (Borie y Navarro, 2007).

#### **a. Estructura de los bacteriófagos**

Su tamaño varía entre 20 y 200 nm. Su material genético puede estar compuesto por ADN aproximadamente el 96% de los bacteriófagos y el 4 % restante tiene genoma de ARN de doble o cadena simple y está protegido por una cubierta llamada cápside (García Salazar, 2018). La forma en que las proteínas se distribuyen alrededor del material genético define la complejidad estructural y la forma al fago, como icosaédricos y filamentosos. (Segundo y Hernández, 2010).

La bacteriófagos tiene una estructura compleja que se compone de varias partes, cada una con funciones específicas:

- **Cápside (Cabeza)**

La cabeza de un bacteriófago, también conocida como cápside, está formada por proteínas como son la 23, 24 y 20 que rodean y protegen el material genético (ADN o ARN) y permite la transferencia segura de este material a la bacteria huésped durante la infección. La información necesaria para el plegado y ensamblado correcto de las proteínas víricas en capsómero y posteriormente formando la cápside esta incorporado en la secuencia de aminoácidos de las proteínas víricas, el ensamblado del virión es un proceso espontaneo llamado "autoensamblado", existen casos donde se necesita proteínas ensambladoras de la célula hospedera para un correcto plegamiento y ensamblado por ejemplo la proteína de la cápside del bacteriófago lambda necesita a la chaperonina GroE de *Escherichia coli* para plegarse (Madigan y Martinko, 2009). La cápside tiene una estructura muy organizada y puede tener forma filamentosa o forma de bastón e icosaédrica o esférica. Esta última presenta 20 caras triangulares y 12 vértices formándose por 180,240 o 360 capsómeros , como en el caso de muchos fagos de tipo T4 (Primrose, 1976).

- **Cola**

Actúa como un mecanismo de inyección para transferir el material genético del fago a la célula bacteriana en los fagos  $\lambda$  la cola no es contráctil y en fagos como el T4 se muestra una cola contráctil y el cual se subdivide en tres partes los cuales

son : Vaina de la Cola este rodea el tubo interno de la cola y puede contraerse para ayudar a inyectar el ADN en la bacteria (Primrose, 1976), tubo de la Cola es una estructura hueca a través de la cual se introduce el material genético en la bacteria y las proteínas de Base al final de la cola, muchos fagos tienen una placa basal con puntas y espículas que ayudan a anclar el fago a la célula bacteriana y perforar la pared celular. La proteína 19 presente en la cola forma el tubo central de la cola donde se transfiere el material genético y la proteína 18 forma parte de la cola contráctil (Aguilar Montes de oca, 2019).

- **Fibras de la cola**

Las fibras de la cola en los fagos con estructura de cola están compuestas por proteínas que se extienden desde la placa basal. Estas fibras contienen receptores específicos, lo que confiere a los fagos la capacidad de infectar únicamente ciertos tipos de bacterias (Kutter & Sulakvelidze, 2004). Las proteínas 37 y 38 forman las fibras largas de la cola, las cuales se extienden desde la placa basal y son cruciales para reconocer y unirse a receptores específicos en la célula huésped, como los lipopolisacáridos en *E. coli*. Por otro lado, las proteínas 34, 35 y 36 constituyen las fibras cortas de la cola, que participan en la adhesión inicial del fago a la célula bacteriana (Espejo T, 1980). Si bien las fibras largas son esenciales para el reconocimiento del huésped, las fibras cortas contribuyen a estabilizar esta unión (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

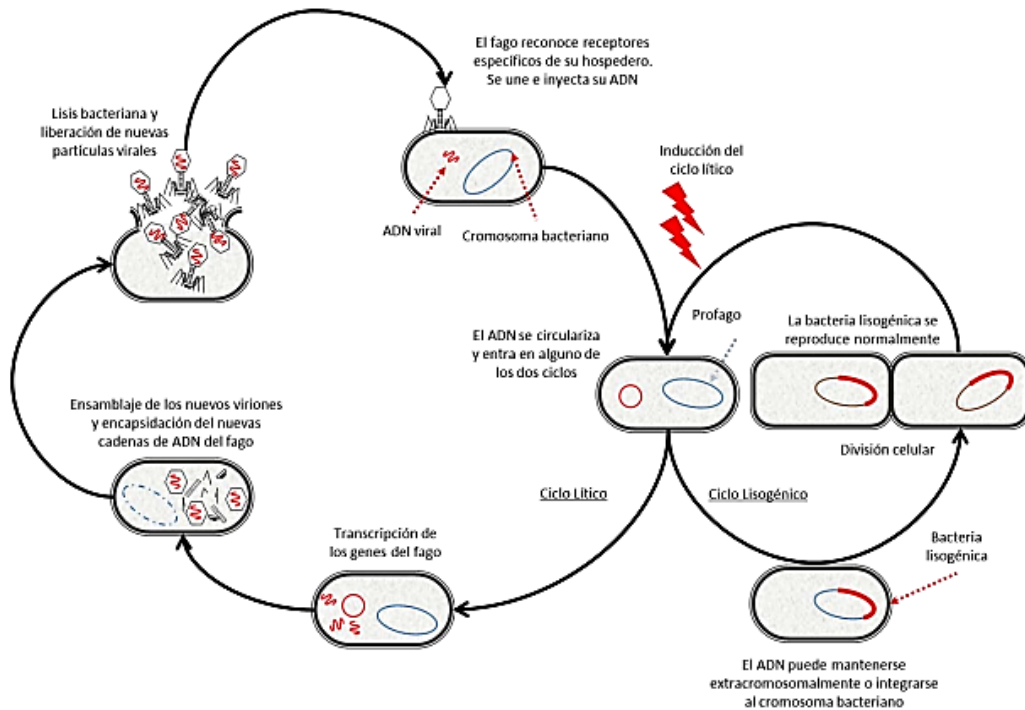
- **Placa basal**

Ubicada en la base de la cola del fago, es donde se anclan sus fibras. En fagos como el T4, esta estructura permite fijar el fago a la bacteria y contiene proteínas que ayudan a perforar la pared celular al inicio de la infección. Entre estas proteínas se encuentra la proteína 5 destaca por su actividad enzimática tipo lisozima, que facilita la perforación. También están la proteína 27 y 12, esenciales para el anclaje firme y la perforación inicial, mientras que la proteína 25 contribuye a estabilizar la placa basal y puede intervenir en la lisis de la pared celular (Osorio, 2015).

## b. Replicación viral

Figura 1

Replicación viral de los bacteriófagos



**Nota:** Esquema de la replicación viral tanto ciclo lítico y lisogénico (Sánchez, 2016).

### • Adsorción

La adsorción en bacteriófagos es el paso inicial fundamental en la infección de una bacteria. Este proceso involucra la unión específica del bacteriófago a la superficie de la célula bacteriana (Blanco, 2022). La interacción entre el fago y la bacteria comienza con el reconocimiento de la célula huésped, en el cual el bacteriófago, a través de proteínas especializadas presentes en su cápside (por lo general en la estructura de la cola), se une a receptores específicos en la superficie de la bacteria. Estos receptores pueden ser proteínas, lípidos o componentes de los polisacáridos en la pared celular o la membrana externa (Dominick, 2017).

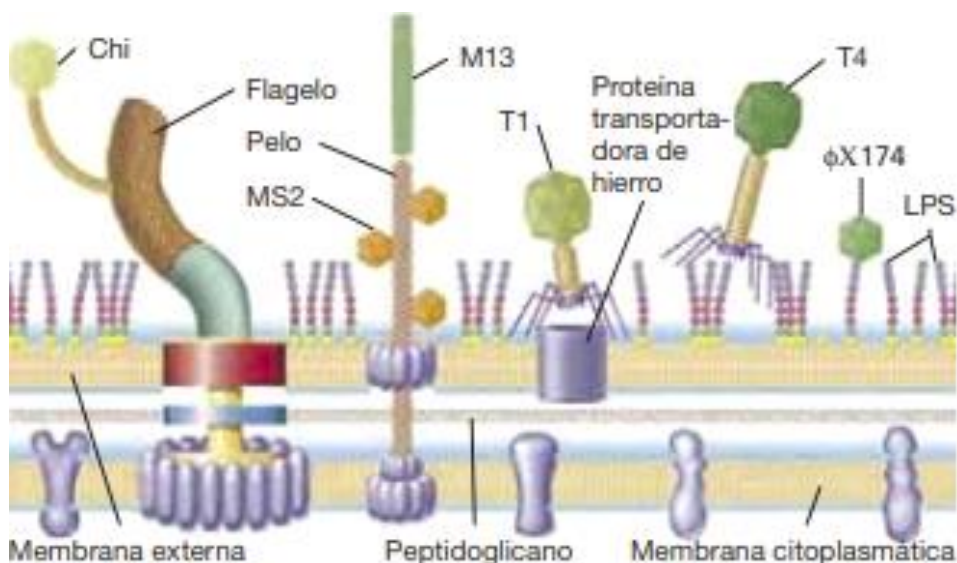
Los receptores son estructuras en la superficie de la bacteria a las que el fago se une, como lo siguiente (Primrose, 1976):

- ✓ Polisacáridos: Algunas bacterias tienen polisacáridos en su superficie, como los lipopolisacáridos (LPS) en las bacterias gramnegativas, que sirven como puntos de anclaje para los fagos.
- ✓ Teicoicos o ácido lipoteicoico: En bacterias grampositivas, estos componentes presentes en la pared celular pueden actuar como receptores.

El reconocimiento de estos receptores es muy específico, un fago solo puede reconocer bacterias con los receptores adecuados. Esta es la razón por la que ciertos fagos solo infectan ciertos tipos de bacterias (Flores, 2017). La adherencia a la bacteria ocurre cuando las fibras de la cola del bacteriófago (en fagos con cola, como el T4) se conectan con los receptores de la célula bacteriana, lo que da lugar a una unión irreversible que fija al fago a la bacteria en los bacteriófagos T4, el anclaje inicial de este fago a los receptores de la superficie de la bacteria se hace mediante los extremos distales de las fibras largas de la cola, estas se adhieren dejando espacio distancia del centro de la partícula fágica, luego este último es atraído por la superficie celular. Existen otros tipos de adsorción los cuales son mediante los pelos sexuales donde las bacterias que albergan el factor sexual F o factores de resistencia a las drogas producen pelos, los fagos con ADN filamentososo o monocatenario se absorben a los extremos de los pelos y los fagos esféricos con ARN se absorben lateralmente y a lo largo del pelo (Primrose, 1976). Las partículas del fago pueden unirse de forma reversible cuando el bacteriófago se enlaza temporalmente al receptor de la bacteria. En esta etapa, la unión puede romperse si las condiciones no son propicias, como un pH inadecuado o la insuficiencia de receptores. La fase irreversible ocurre cuando las condiciones son óptimas y el fago se adhiere firmemente a su receptor, formando una unión definitiva que marca el inicio del proceso infeccioso, el cual ya no puede ser detenido (Primrose, 1976).

**Figura 2**

*Receptores de bacteriófagos que infectan a Escherichia coli*



**Nota:** En la figura se observa los diferentes receptores y tipos de bacteriófagos que infectan a la bacteria *Escherichia coli* (Madigan y Martinko, 2009).

- **Penetración**

Una vez que el virus está adherido, se produce la inyección del material genético viral en la célula huésped. El proceso varía dependiendo del tipo de virus. En bacteriófagos con cola contráctil (como el fago T4) Tras la unión irreversible, la cola del fago se contrae, inyectando su ADN directamente a través de la membrana celular bacteriana y la pared celular. Esto ocurre debido a un mecanismo similar a una "jeringa molecular", donde la energía almacenada en la estructura del fago permite la inyección del genoma viral en el citoplasma de la bacteria (Madigan & Martinko, 2009). Durante este proceso, la cápside permanece en el exterior de la célula, mientras que solo el ADN o ARN del fago entra en la bacteria. En otros fagos o virus sin cola: que carecen de cola contráctil, o en virus animales, el material genético puede ser introducido mediante otros mecanismos. En algunos casos, el virus puede inducir la formación de poros en la membrana de la célula huésped para facilitar la entrada del material genético (Espejo T, 1980b). En otros casos, el virus puede ser engullido por la célula mediante endocitosis, o la membrana del virus puede fusionarse directamente con la membrana celular, liberando el contenido viral en el interior de la célula (Hall & Ramírez, 2021).

- **Desnudamiento**

En este caso, dado que el ADN del fago se inyecta directamente, el proceso de desnudamiento es más simple. El ADN del fago se libera en el citoplasma bacteriano y se prepara para la replicación (Seañez, 2001).

- **Replicación del ADN viral**

El ADN del fago T4 es de doble cadena y se replica utilizando la maquinaria de replicación de *E. coli*. El ADN viral se copia en múltiples copias mediante la ADN polimerasa de la bacteria (Madigan & Martinko, 2009). El fago también puede producir enzimas que inhiben la síntesis del ADN bacteriano, dirigiendo así todos los recursos de la célula hacia la producción de nuevos fagos (Rosero y Guerrero, 2023).

- **Síntesis de proteínas virales**

Transcripción y traducción: El ADN viral se transcribe en ARN mensajero (ARNm) utilizando la ARN polimerasa de la bacteria. Este ARNm se traduce en proteínas virales en los ribosomas bacterianos (Hall y Ramírez, 2021). Las proteínas producidas incluyen componentes estructurales del fago, como las proteínas de la cápside, las proteínas de la cola y enzimas necesarias para la replicación y

liberación del fago. Estas proteínas se ensamblan con el ADN replicado para formar nuevos viriones ( Busbano y Guerrero, 2023).

- **Ensamblaje**

Las nuevas partículas virales se ensamblan a partir del ADN replicado y las proteínas sintetizadas. Este proceso implica la formación de nuevos viriones en el interior de la célula bacteriana, donde las cápsides se ensamblan alrededor de las copias del ADN viral (Madigan y Martinko, 2009). Este proceso incluye la incorporación del ADN viral dentro de nuevas cápsides (Primrose, 1976).

- **Liberación**

Finalmente, el bacteriófago induce la lisis de la célula bacteriana. Esto se lleva a cabo mediante la producción de enzimas que destruyen la pared celular de *E. coli*, lo que provoca que la célula se rompa y libere cientos de nuevas partículas virales (viriones) al medio (Dominick, 2017). Estos viriones pueden infectar otras células bacterianas, repitiendo el ciclo ( Punil, 2017).

### **2.3.3. Importancia ecológica y sanitaria de los bacteriófagos**

Los bacteriófagos tienen una importancia ecológica y sanitaria significativa en los ecosistemas acuáticos y en la salud pública. se detallan algunos aspectos:

#### **a. Importancia ecológica**

1. Regulación de poblaciones bacterianas: Los bacteriófagos son agentes de control natural de las poblaciones bacterianas. Al infectar y lisar bacterias, ayudan a mantener el equilibrio en las comunidades microbianas, lo que es crucial para la salud del ecosistema acuático , reduciendo así hasta un 40% de bacterias en ríos y océanos (Wommack , 1996).
2. Ciclos de nutrientes: La lisis de bacterias por bacteriófagos libera nutrientes en el medio acuático, lo que puede ser utilizado por otros organismos. Esto contribuye a la productividad del ecosistema y al reciclaje de materia orgánica (Mojica y Brussaard, 2014).
3. Diversidad microbiana: Los bacteriófagos pueden influir en la diversidad de las comunidades bacterianas al favorecer a ciertas especies sobre otras, lo que puede tener efectos en la estructura y función del ecosistema (Sinton, 1999).

#### **b. Importancia sanitaria**

1. Indicadores de contaminación: Los bacteriófagos, especialmente los colífagos, son utilizados como indicadores de contaminación fecal en el agua. Su presencia puede correlacionarse con la de patógenos, lo que los convierte en herramientas útiles para evaluar la calidad del agua y los riesgos para la salud pública (Mojica & Brussaard, 2014).

2. Riesgo de enfermedades: Se ha demostrado que los bacteriófagos son mejores predictores de tasas de enfermedad entre los usuarios de aguas contaminadas que las bacterias. Esto sugiere que su monitoreo puede ser más efectivo para evaluar riesgos para la salud pública (Mojica y Brussaard, 2014; L. Punil, 2017).
3. Terapia fágica: En el ámbito de la salud, los bacteriófagos están siendo investigados como una alternativa a los antibióticos para tratar infecciones bacterianas, especialmente en casos de resistencia a los antibióticos. Esto representa una prometedora área de investigación en la medicina (Vanegas, 2015).

#### **2.3.4. Detección y recuento de virus: el ensayo de calvas**

Para la detección de virus es necesario contar con un cultivo puro de bacterias hospedadoras crecidas en medios de cultivo líquido o teniendo como césped sobre la superficie de las placas de agar donde se inoculará la suspensión vírica. La suspensión vírica se cuantifica detectando la cantidad de viriones infecciosos por volumen de fluido, siendo denominada título o concentración (Madigan y Martinko, 2009). Esto se realiza mediante un ensayo de calvas, cuando se da la infección del virus a la bacteria estas se lisan y forman una calva, realizando el recuento de las calvas se calcula la concentración o título de la muestra siendo expresado como Unidades Formadoras de Placas (UFP) por mililitro (Seañez, 2001). La eficiencia de la siembra es importante en la cuantificación de los virus porque el número de UFP es menor a la cantidad de partículas víricas observadas en un microscopio electrónico esto se debe a la eficiencia de los virus al infectar a la bacteria. El tamaño de las calvas varía según el tipo de bacteriófago por ejemplo en el T4 las calvas miden de 1 a 2 mm. (Espejo, 1980).

La acción principal de los fagos es la lisis de la bacteria es decir la disolución de la bacteria que da lugar a la liberación de las partículas fágicas. El cultivo bacteriano sensible se lisa por completo a medida que el fago se libera infecta más y más células (Primrose, 1976). La lisis incompleta se da por las siguientes razones (Paz y Miño, 2003):

- a. Limitación de nutrientes hace que la bacteria ya no este metabólicamente activa.
- b. La bacteria presenta resistencia al fago ya sea por mutaciones genéticas o ausencia de receptores fágicos.
- c. Establecimiento de la lisogenia que impide la lisis bacteriana ya que estos son inmunes a la lisis, si se reinfectan con el mismo fago.

Cuando se inoculan bacterias y bacteriófagos en una placa de agar nutritivo, se pueden observar áreas localizadas de lisis, conocidas como calvas. El crecimiento de estas calvas se detiene cuando las bacterias dejan de metabolizar, ya sea por la falta de nutrientes o por la acumulación de productos inhibitorios. A medida que se incrementa la concentración de agar, la difusión del fago se vuelve más lenta, lo que reduce el tamaño de las calvas (Primrose, 1976) . La forma de estas áreas de lisis es específica de cada fago y puede indicar si la lisis fue completa o incompleta, observándose calvas claras o turbias. Además, pueden formarse halos debido a las enzimas que degradan las cápsulas (Hall & Ramírez, 2021).

### **2.3.5. Factores ambientales y su influencia en los bacteriófagos**

Si bien los factores ambientales afectan a los bacteriófagos también los efectos producidos por agentes físicos y químicos afectan a la capacidad infecciosa, esto se da por alteraciones del ácido nucleico que impide la capacidad de producir nueva progenie o daños en las proteínas que impide la adsorción (Espejo, 1980). Los detergentes, ya sean ácidos o alcalinos rompen los enlaces entre moléculas, como la urea y la guanidina, estas pueden desactivar los fagos al desarmar su estructura. Por eso se usan también para estudiar cómo están organizados los virus. En general, los bacteriófagos son resistentes a los detergentes y no se ven afectados por las concentraciones que normalmente romperían la membrana de las bacterias (Martín, 2017). Los detergentes iónicos, como el laurilsulfato de sodio, o sustancias que rompen enlaces entre moléculas, no logran desintegrar completamente las proteínas del virus. Para separar todas las proteínas del virus en unidades individuales, se necesitan tratamientos más intensos, como usar detergentes y altas temperaturas al mismo tiempo, lo cual es uno de los métodos más efectivos (Primrose, 1976).

Los bacteriófagos en el agua son afectados por varios factores ambientales. La densidad de bacterias hospedadoras y de los propios fagos, la asociación de fagos y bacterias con sólidos, la presencia de materia orgánica, la luz ultravioleta y visible, la temperatura, el pH, la concentración y tipo de iones, y las actividades metabólicas de microorganismos distintos a las bacterias hospedadoras son factores que influyen en el comportamiento y supervivencia de los fagos en ambientes acuáticos (Grabow, 2001). Además, se ha encontrado que la temperatura es un factor que correlaciona con la supervivencia de virus en aguas subterráneas. En ambientes marinos, factores como el entorno iónico, la presión

hidrostática y las condiciones anaeróbicas también influyen en la supervivencia de los fagos (García , 2018).

Los factores ambientales que afectan a los bacteriófagos son los siguientes:

#### **a. Radiación solar**

La exposición a la radiación ultravioleta puede dañar el material genético de los bacteriófagos, lo que resulta en su inactivación. La radiación solar, especialmente la radiación UV-B, afecta fisiológicamente a los bacteriófagos de varias maneras:

1. Degradación del ADN: La radiación UV-B puede causar daños en el ADN de los bacteriófagos, incluyendo la formación de enlaces cruzados entre proteínas y ADN, lo que puede resultar en la pérdida de la capacidad de replicarse y de infectar a sus hospedadores (Wommack y Calwell, 1997).
2. Pérdida de infectividad: La exposición a la luz solar provoca una disminución en la infectividad de los bacteriófagos. Se ha observado que hasta el 58% de la inactivación de ciertos colífagos se atribuye a la radiación UV-B, lo que indica que esta longitud de onda es particularmente dañina para los viriones (Sinton , 1999 ;Wommack y Colwell, 2000).
3. Efectos en la estructura del virus: La radiación solar puede afectar la integridad estructural de las cápsides virales, lo que puede comprometer su capacidad para unirse a las células hospedadoras y, por lo tanto, su capacidad para infectar ( Wommack , 1996; Mojica y Brussaard, 2014)
4. Interacciones con el medio ambiente: La radiación solar también puede influir en la dinámica de los ecosistemas acuáticos al alterar las interacciones entre los bacteriófagos y sus hospedadores, lo que puede tener efectos en la mortalidad bacteriana y en la producción viral en el medio (Mojica y Brussaard, 2014).

#### **b. pH**

El pH es un factor ambiental que influye en la adsorción y la supervivencia de los bacteriófagos en ambientes acuáticos (Flores Dominick, 2017). Se menciona que el pH puede variar considerablemente en sistemas de agua dulce, como los ríos, lo cual afecta las interacciones electrostáticas entre los fagos y sus bacterias hospedadoras. En aguas ligeramente alcalinas, por ejemplo, los fagos pueden mantener su capacidad de adsorción, aunque los cambios más extremos en el pH podrían disminuir su eficacia ( Wommack y Calwell, 1997)

#### **c. Temperatura**

La temperatura afecta fisiológicamente a los bacteriófagos de varias maneras:

- Regulación del crecimiento microbiano: La temperatura es un factor clave que regula el crecimiento de los microorganismos, lo que a su vez influye en la producción viral. Un aumento en la temperatura puede acelerar la tasa de crecimiento de las bacterias hospedadoras, lo que puede llevar a un aumento en la producción de bacteriófagos (Mojica & Brussaard, 2014).
- Efectos en la lisis viral: Las temperaturas subóptimas pueden retrasar el inicio de la lisis viral. Por ejemplo, se ha observado que la lisis de ciertos hospedadores se retrasa de dos a tres veces bajo condiciones de temperatura subóptimas, lo que afecta la dinámica de la infección viral (Mojica & Brussaard, 2014)
- Interacciones virus hospedador: La estabilidad de los bacteriófagos puede variar con la temperatura. Aunque los virus marinos suelen ser más estables a temperaturas más altas que sus hospedadores, esto no garantiza que las interacciones virus hospedador sean igualmente efectivas en todo el rango de temperaturas (Sinton et al., 1999)
- Producción viral: Algunos estudios han mostrado que la producción de ciertos fagos puede ser más eficiente a temperaturas más bajas, lo que sugiere que la temperatura puede influir en la estrategia de vida de los bacteriófagos y en su capacidad para proliferar en diferentes condiciones ambientales (Mojica & Brussaard, 2014).

#### **d. Presencia de materia orgánica**

La materia orgánica en el agua puede proteger a los bacteriófagos de la inactivación, pero también puede interferir con su capacidad para infectar a las bacterias. La presencia de materia orgánica puede inhibir la adsorción de bacteriófagos a las bacterias (Mojica y Brussaard, 2014), ya que las moléculas orgánicas pueden competir por los sitios de unión en la superficie de las células bacterianas. Esto puede reducir la eficacia de los bacteriófagos en infectar a sus hospedadores (Sinton, 1999).

#### **e. Salinidad**

La concentración de sales en el medio acuático puede afectar la estabilidad de los bacteriófagos, ya que influye en la interacción entre el virus y su hospedador (Díaz, 2017).

#### **2.3.6. Bacterias indicadoras de contaminación en aguas de ríos**

Los cuerpos de agua son susceptibles a la contaminación por diversas causas y fuentes (Paz y Miño, 2003; Guzmán Quintero y Palacios Vélez, 2007; Cusiche

Pérez y Miranda Zambrano, 2019) entre las cuales se encuentra la contaminación fecal, que ocurre cuando ingresa material del tracto intestinal de animales homeotermos. Este material puede ser fácilmente arrastrado corriente abajo, lo que representa un riesgo para la salud y puede hacer que el agua sea insalubre para ciertos usos, dependiendo de la actividad que se realice( Pulido, 2005;Ríos-Tobón et al., 2017;Luján, 2019).Entre estos microorganismos, las bacterias son el grupo que tiene mayor prevalencia y son responsables del mayor porcentaje de casos de diarreas infecciosas (Busbano y Guerrero , 2023).Además, su presencia en cuerpos de agua es un indicador de contaminación fecal reciente, ya que no sobreviven mucho tiempo en el ambiente exterior .Estas propiedades las hacen fundamentales en las medidas sanitarias para controlar agentes infecciosos durante el tratamiento de agua destinada al consumo humano.

Una de las metodologías más utilizadas a nivel mundial para evaluar el grado de contaminación fecal en ecosistemas acuáticos es la detección de bacterias coliformes y *Escherichia coli* como bioindicadores. Dentro del grupo de bacterias coliformes se incluyen los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter* y *Escherichia*, los cuales son bacterias intestinales. Todas pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son Gram negativas, anaerobias facultativas y no forman esporas. Por otro lado, los colífagos somáticos son un grupo heterogéneo de bacteriófagos capaces de infectar *Escherichia coli* al unirse a receptores en su membrana externa, atravesando la pared celular. Estos son los bioindicadores más abundantes en la mayoría de las muestras ambientales Rubalcaba, 2007)

#### **a. Coliformes totales**

Los coliformes totales están presentes en el medio ambiente y en los intestinos de los animales homeotermos, por lo que no son necesariamente utilizados como un indicador de contaminación fecal (Larrea-Murrell et al., 2012). Sin embargo, dentro del grupo de los Coliformes Totales (CT) están los Coliformes termotolerantes o fecales (CF), llamados así por tener actividad metabólica en temperaturas de entre 44,5°C - 45,5°C (en un medio de lactosa) y porque la mayor parte de las especies del grupo son comensales del tracto intestinal de los animales mencionados por lo que son mejores indicadores de la presencia de bacterias y otros microorganismos patógenos (Montoya Vargas, 2019; Perdomo & Casanova, 2001).La especie más representativa del grupo de coliformes fecales y utilizada como indicador microbiológico de contaminación es *Escherichia coli* (Larrea-Murrell et al., 2012).

## **b. *Escherichia coli***

Es una enterobacteria, bacilo gran negativa que habita en los intestinos de los animales homeotermos y es el más abundante de la microbiota intestinal (Larrea-Murrell et al., 2012 ; Gyles & Fairbrother, 2010). Es un comensal permanente de los mamíferos y aves, puede considerarse como beneficioso para el hospedador y en algunos casos responsable de enfermedades a causa de algunas cepas patógenas cuyas formas de infección son diferentes ( Allocati et al., 2013).

### **2.3.7. *Escherichia coli* ATCC 13076**

*Escherichia coli* ATCC 13076 es una cepa estándar ampliamente estudiada, cuyas características biológicas, genéticas y fisiológicas están bien documentadas. Su susceptibilidad a diversos bacteriófagos la convierte en una herramienta ideal para analizar la interacción entre fagos y bacterias (García y Porras, 2018). La elección de *Escherichia coli* ATCC 13076 como receptor en el estudio de bacteriófagos está justificada por las siguientes razones (Grabow, 2004):

- Esta cepa es susceptible a colífagos somáticos y de ARN, que son indicadores clave de contaminación fecal. Su sensibilidad permite una cuantificación precisa y eficiente de bacteriófagos en muestras ambientales.
- Es una cepa recomendada por normativas como la ISO 10705 para la detección y análisis de colífagos en agua, lo que asegura la validez y comparabilidad de los resultados a nivel global.
- Crece de manera rápida y consistente en medios comunes, formando colonias uniformes, lo que simplifica los procedimientos experimentales y reduce el margen de error. Como parte del microbiota intestinal, *E. coli* es representativa de la contaminación fecal, lo que la convierte en un modelo adecuado para evaluar la calidad del agua en contextos ambientales y sanitarios.
- Los fagos que atacan a *E. coli*, como los colífagos somáticos y los específicos de F, son importantes bioindicadores de contaminación fecal en el agua, y *E. coli* ATCC 13076 se usa como hospedador estándar en su detección debido a su fiabilidad y su capacidad para interactuar con diferentes fagos.
- Fácil de cultivar y manipular en el laboratorio, lo que facilita la realización de ensayos con bacteriófagos de manera rápida y eficiente.

### **2.3.8. Factores que afectan la calidad de agua en ríos**

La calidad del agua en los ríos se ve afectada por una variedad de fuentes de contaminación. Las fuentes puntuales incluyen los efluentes de las estaciones depuradoras de aguas residuales municipales e industriales. Por otro lado, las

fuentes difusas tienen una distribución espacial amplia y su magnitud está fuertemente relacionada con factores meteorológicos. Estas fuentes difusas incluyen la escorrentía superficial producida por precipitaciones, las aguas subterráneas, la erosión que introduce sedimentos en el curso del río, y la escorrentía procedente de zonas urbanas que arrastra contaminación del pavimento, de la corrosión de materiales de construcción o del desbordamiento por sobrecarga de los sistemas de alcantarillado unitarios(Martín Díaz, 2017).

#### **2.4. Marco legal y normativo**

- Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias DECRETO SUPREMO N° 004-2017-MINAM.
- Decreto Supremo N° 031-2010-SA: Aprueba el Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano.
- Ley de Recursos Hídricos Ley N° 29338: Define al agua como un recurso natural renovable, indispensable para la vida y estratégico para el desarrollo sostenible.
- Ley General del Ambiente: Establece principios y normas básicas para garantizar el derecho a un ambiente saludable.
- Ley de Organizaciones de Usuarios N° 30175Regula la gestión y la institucionalidad de las organizaciones de usuarios.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Zona de estudio, ubicación política y geográfica área de estudio

Ubicación política y geográfica de los puntos de muestreo en la microcuenca Alameda y Huatatas.

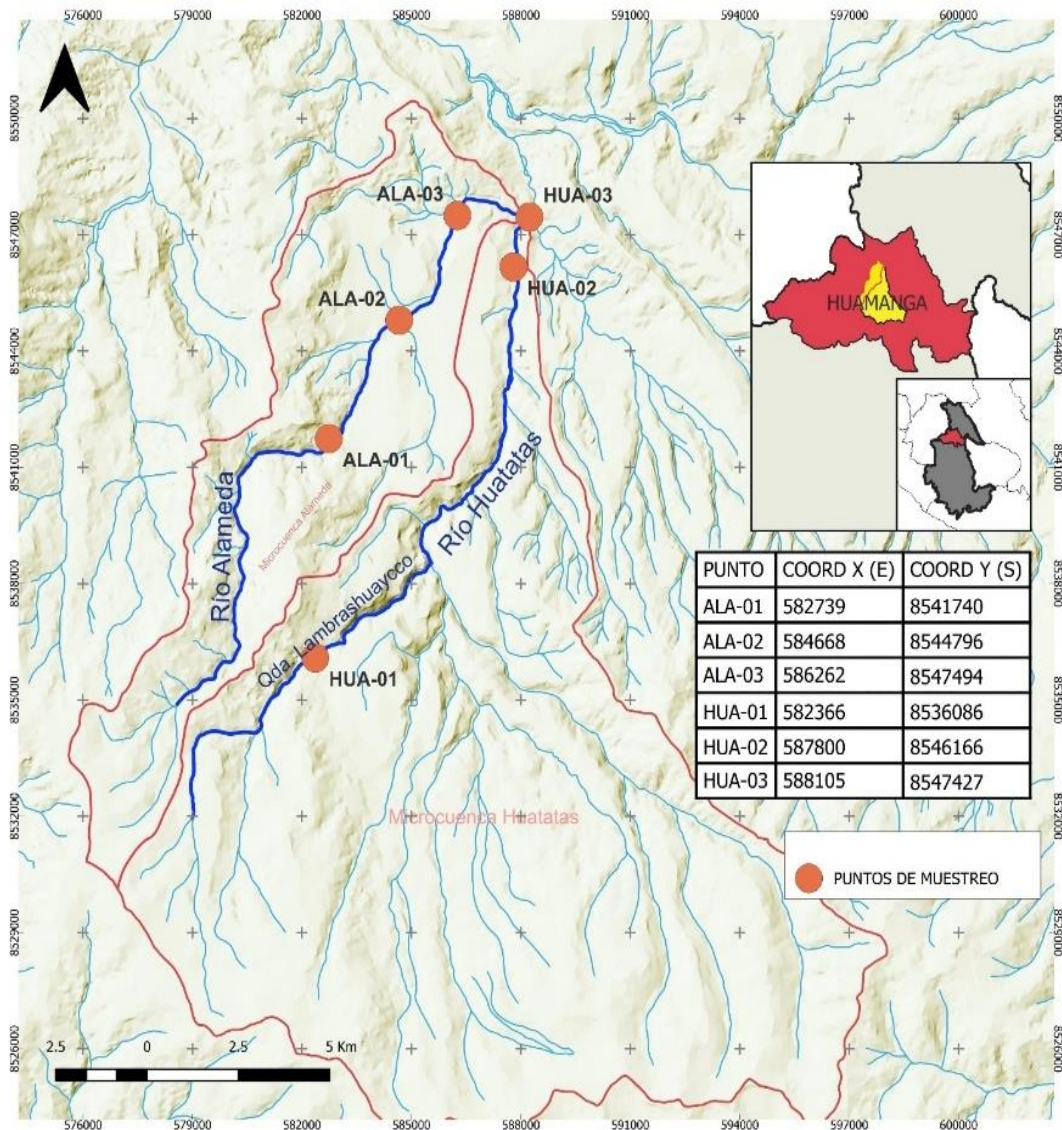
**Tabla 1**

*Ubicación política y geográfica de los ríos Alameda y Huatatas*

<b>Departamento de Ayacucho</b>	<b>Punto</b>	<b>Este X (E)</b>	<b>Norte Y (S)</b>
<b>Alameda</b>	ALA-01	582739	8541740
	ALA -02	584668	8544796
	ALA -03	586262	8547494
<b>Huatatas</b>	HUA-01	582366	8536086
	HUA-02	587800	8546166
	HUA-03	588105	8547427

**Figura 3**

*Mapa de ubicación de los puntos de muestreo de los ríos Alameda y Huatatas*



### **3.2. Población**

Agua del río Alameda y Huatatas.

### **3.3. Muestra**

Muestras de agua recolectadas de los ríos Alameda y Huatatas.

### **3.4. Sistema de muestreo**

Se seleccionaron 3 diferentes puntos de muestreo en los ríos Alameda y Huatatas. Para cumplir con los objetivos planteados, se realizó la recolección de muestras de agua en los ríos Alameda y Huatatas. La toma de muestras se efectuó cada 10 días, en los horarios de 7:00 a.m. y 12:00 p.m., con un total de 12 fechas de muestreo en los meses de setiembre y noviembre siendo un total de 144 muestras recolectadas y procesadas.

### **3.5. Metodología y recolección de datos**

#### **3.5.1. Procedimiento pre analítico**

##### **a) Obtención de inóculo de *Escherichia coli* ATCC 13706**

La cepa utilizada fue ATCC 13706 fue proporcionada por el laboratorio de Virología de la UNSCH. Esta cepa se sembró en caldo nutritivo e incubó a 37°C durante 24 horas hasta obtener una concentración de  $1 \times 10^9$  bacterias/mL (se utilizó como referencia la escala de McFarland de 0.5).

##### **b) Recolección de muestras de agua de río**

Se seleccionaron tres puntos de muestreo en los ríos Alameda y Huatatas, considerando criterios de accesibilidad y representatividad de las condiciones del cuerpo de agua. La determinación de colifagos presentes en el agua se realizó siguiendo las recomendaciones de los Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales (Gastañaga Ruiz, 2007). Estas recomendaciones establecen que, al realizar la toma de muestras en ríos, se deben evitar áreas con turbulencia excesiva y tener en cuenta factores como la profundidad, la velocidad de la corriente y la distancia entre las orillas.

Las muestras se recolectaron a una profundidad de 20 a 30 cm utilizando frascos estériles de vidrio o plástico. Los frascos se etiquetaron adecuadamente con información detallada que incluyó el número de muestra, descripción del punto de muestreo, fecha y hora de recolección. Para asegurar la calidad de las muestras, estas fueron transportadas en cajas térmicas con acumuladores de frío para mantener una temperatura de aproximadamente 4°C. Este proceso evitó alteraciones microbiológicas antes del análisis en laboratorio.

#### **3.5.2. Procedimiento analítico**

##### **a) Cuantificación de colifagos**

Las muestras de agua de los ríos fueron filtradas mediante un filtro de membrana de 0.22  $\mu\text{m}$  utilizando una bomba de vacío. El filtrado se almacenó en viales estériles con un volumen de 1 mL por vial. En un tubo de ensayo, se añadieron 1.0 mL de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 13706 y 0.1 mL del filtrado de agua luego se agregó agar nutritivo a una temperatura de 45°C a 50°C. La mezcla se agitó, se vertió en placas y se dejó enfriar hasta que el agar se solidificó. Luego las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

##### **b) Caracterización fisicoquímica del agua**

Se midieron los parámetros ambientales en cada punto de muestreo para evaluar su influencia en la cantidad de colifagos:

- Radiación solar: Los valores de radiación solar ( $\text{Wh/m}^2$ ) se registraron a partir de la página web TuTiempo.net. Los datos fueron recopilados para la ubicación correspondiente a cada punto de muestreo en las fechas en que se realizó el estudio.
- Cloro: El cloro residual fue determinado mediante un kit colorimétrico. Se recolectó una muestra de agua de río en un tubo de prueba transparente con capacidad de 4mL, preferentemente a una profundidad de 40 cm bajo la superficie. Posteriormente, se añadieron 4 gotas de solución OTO (ortotolidina), se colocó la tapa del tubo y se agitó suavemente para mezclar. La lectura se realizó comparando el color obtenido con la escala de valores proporcionada por el kit.
- Temperatura del agua: la temperatura del agua se midió in situ utilizando un termómetro de mercurio.
- pH: El pH fue determinado mediante un kit colorimétrico. La muestra de agua fue recolectada a una profundidad aproximada de 40 cm. En un tubo de prueba transparente capacidad de 4ml, se introdujo la muestra y se agregaron 4 gotas de fenol rojo. Luego, se colocó la tapa y se agitó para homogenizar la mezcla. Finalmente, el color resultante se comparó con la escala de colores del kit para determinar el valor del pH.

### **3.5.3. Procedimiento post analítico**

Después de la incubación, se procedió a contar las calvas (placas donde hubo inhibición del crecimiento bacteriano debido a la presencia de colífagos).

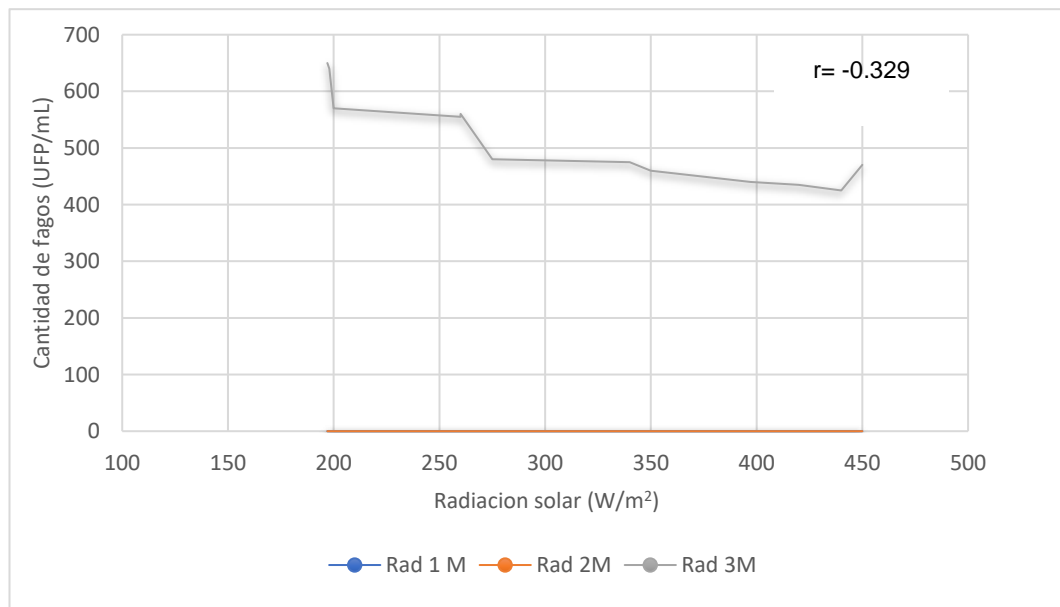
La relación de efecto de pH, cloro, temperatura y radiación solar se hizo mediante la prueba estadística de correlación de Pearson para determinar la relación entre la cantidad de colífagos y los factores ambientales medidos.

#### **IV. RESULTADOS**

#### 4.1. Resultados del río Huatatas

**Figura 4**

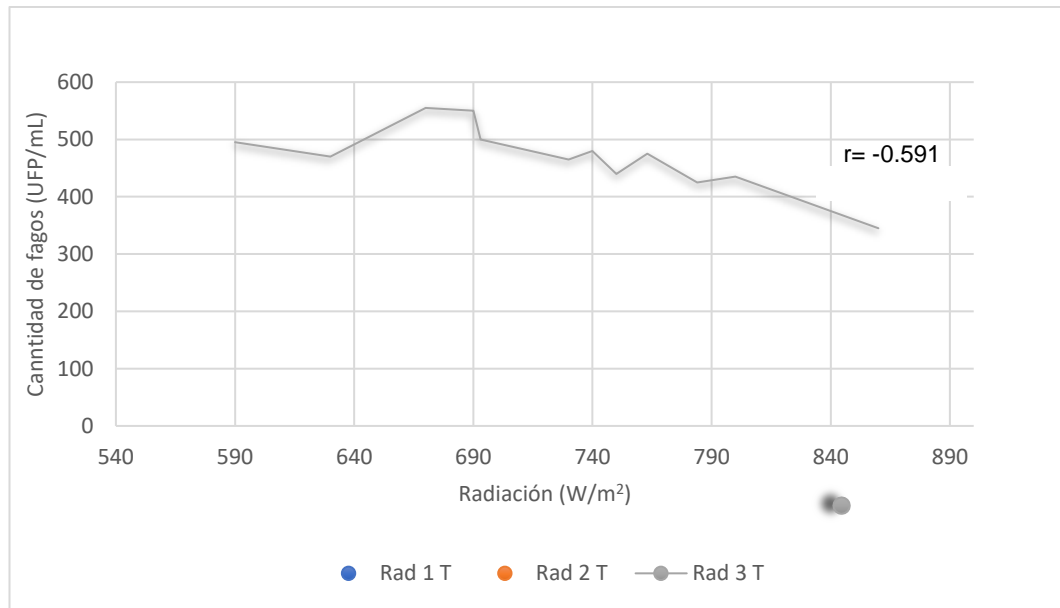
*Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante. Toma de Muestras en la Mañana ( $r$ =correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 4. En Rad 1M y Rad 2M (indican la radiación de primer y segundo punto respectivamente tomada la muestra en horas de la mañana), sugieren que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Por otro lado, en Rad 3M que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colífagos (aproximadamente 600 UFP/mL), con una ligera disminución conforme aumenta la radiación solar. La tendencia parece estabilizarse entre los 400 y 450  $W/m^2$ , alcanzando valores cercanos a 500 UFP/mL. La correlación inversa en el punto 3 donde  $r$  es  $-0.329$  sugiere que el aumento de la radiación solar tiene un efecto leve en la reducción de la concentración de colífagos en el agua. Sin embargo, la magnitud de esta relación es débil, lo que indica que otros factores ambientales o características del agua podrían estar modulando la respuesta de los colífagos a la radiación.

**Figura 5**

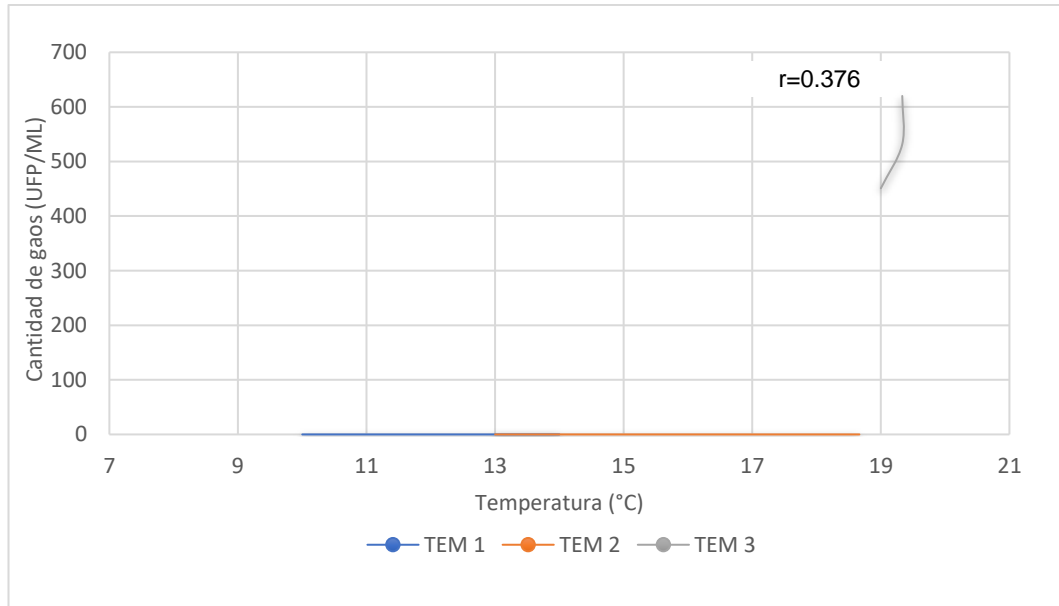
*Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas. Toma de Muestras en la tarde ( $r$ =Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 5. En Rad 1T y Rad 2T, los cuales son los dos primeros puntos de muestreo en el río Huatatas sugieren que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Por otro lado, en Rad 3T que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colífagos (aproximadamente 500 UFP/mL), con una ligera disminución conforme aumenta la radiación solar. La tendencia parece estabilizarse entre los 740 y 790  $W/m^2$ , alcanzando valores cercanos a 400 UFP/mL. La correlación inversa en el punto 3 siendo  $r$  igual a  $-0.591$  es moderada sugiere que el aumento de la radiación solar está asociado con una disminución significativa en la concentración de colífagos.

**Figura 6**

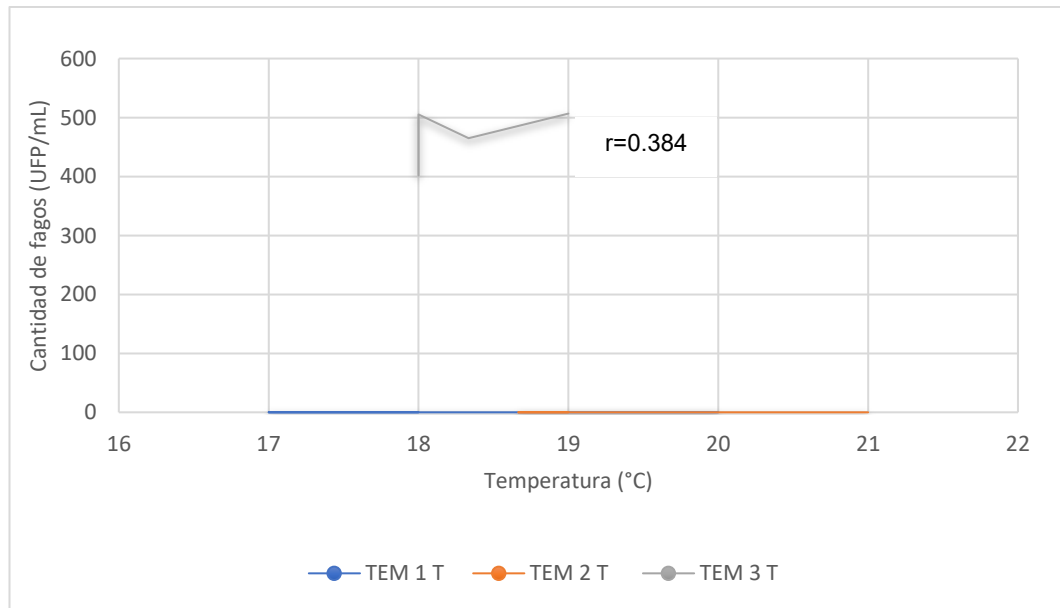
*Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la mañana (r=Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 6. En TEM 1M y TEM 2M, los cuales son los dos primeros puntos de muestreo en el río Huatatas donde la hora de toma es en la mañana, sugieren que las concentraciones de colifagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la temperatura. Por otro lado, en TEM 3M que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colifagos (aproximadamente 400 UFP/mL), con un incremento conforme aumenta la temperatura. La tendencia parece estabilizarse entre los 20°C alcanzando valores cercanos a 600 UFP/mL. La correlación positiva donde  $r$  es igual a 0.376 es débil lo cual sugiere que el aumento de la temperatura está asociado con un ligero incremento en la concentración de colifagos.

### Figura 7

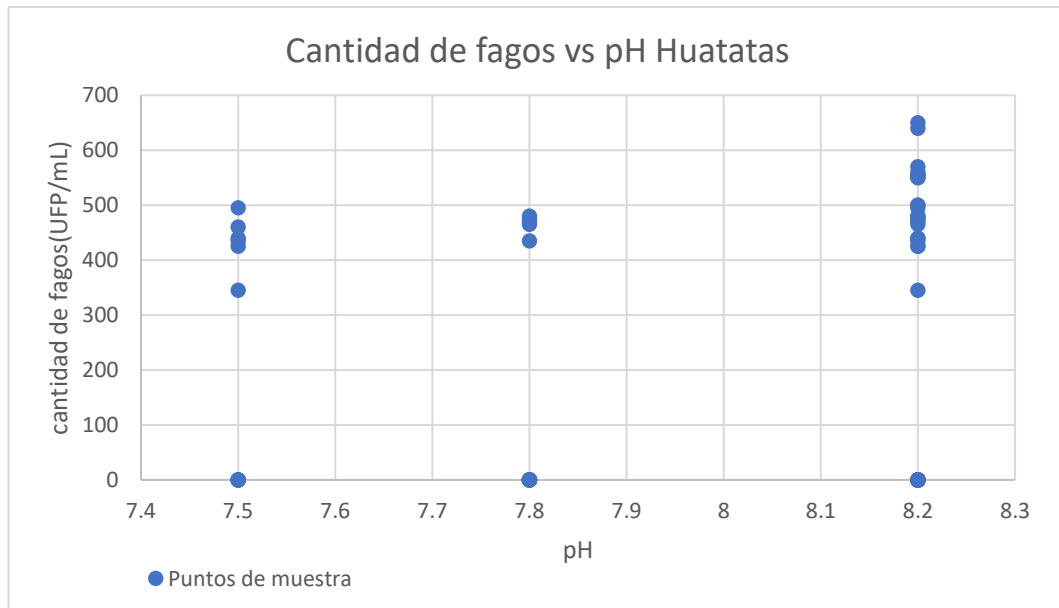
Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Huatatas durante Toma de Muestras en la Tarde ( $r$ =correlación de Pearson).



Interpretación de la figura 7. En TEM 1T y TEM 2T, los cuales son los dos primeros puntos de muestreo en el río Huatatas sugieren que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la temperatura. Por otro lado, en TEM 3T que es el punto 3 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colífagos (aproximadamente 500 UFP/mL), con un incremento conforme aumenta la temperatura, la correlación es de 0.384 es débil lo cual sugiere que el aumento de la temperatura está asociado con un ligero incremento en la concentración de colífagos.

**Figura 8**

*Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Huatatas. Toma de Muestras en la Mañana y tarde (r=Correlación de Pearson).*

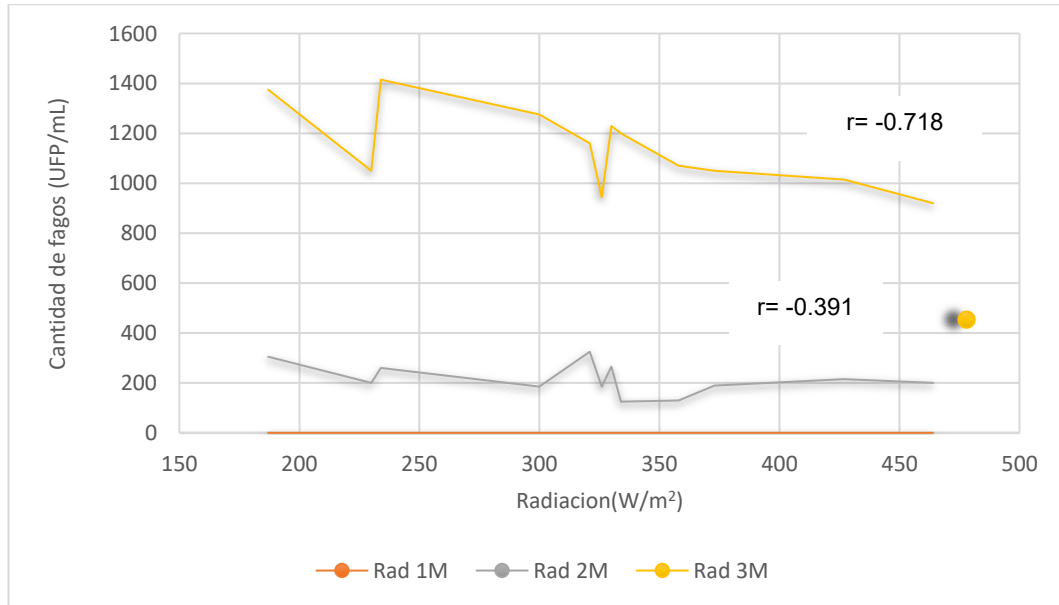


Interpretación de la figura 8. En los tres puntos de muestreo se observa que los valores de pH se encuentran en un rango de 7.5, 7.8 y 8.2, en la figura indica que a medida que el pH aumenta ligeramente se da un leve incremento en la concentración de colífagos esto es más evidente en el rango de pH de 8.2.

## 4.2. Resultados del río Alameda

**Figura 9**

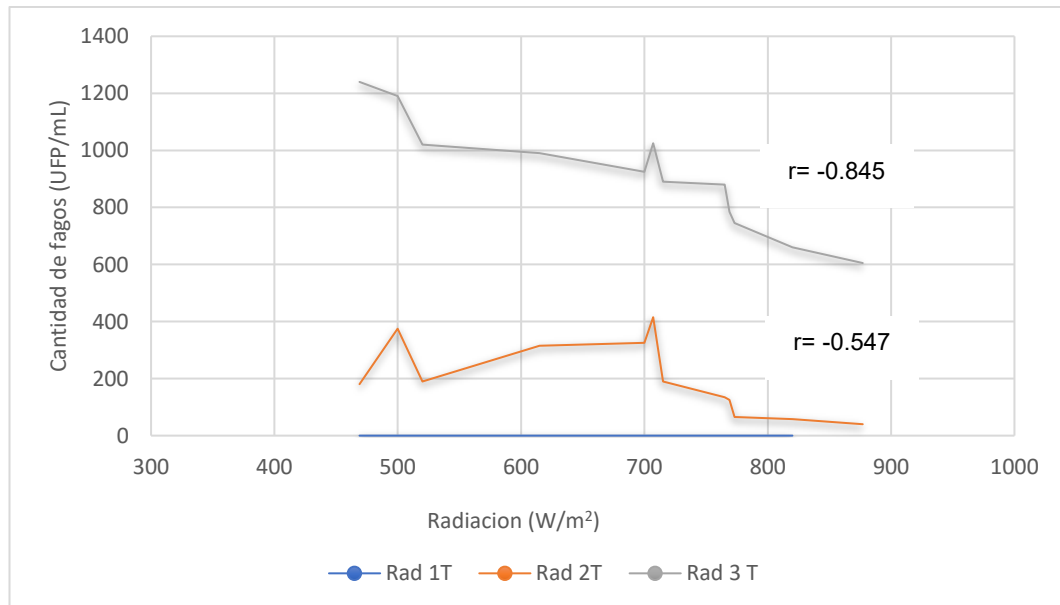
*Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda. Toma de Muestras en la mañana. ( $r$ =Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 9. En Rad 1M, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colifagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Por otro lado, en Rad 2M que es el punto 2 de toma de muestra se observa una mayor concentración inicial de colifagos (aproximadamente 400 UFC/mL) con una ligera disminución conforme aumenta la radiación solar. La tendencia parece estabilizarse entre los 400 y 450  $W/m^2$ , alcanzando valores cercanos a 400 UFC/mL. La correlación negativa en el punto 2 es de  $r = -0.391$  sugiere que el aumento de la radiación solar tiene un efecto leve en la reducción de la concentración de colifagos en el agua. Sin embargo, la magnitud de esta relación es débil, lo que indica que probablemente este atenuado por factores locales como sombra parcial y mayor turbidez podrían estar modulando la respuesta de los colifagos a la radiación. La radiación solar tiene un efecto moderado sobre la reducción de colifagos. En el punto 3 donde  $r = -0.718$  la radiación solar tiene un efecto fuerte, disminuyendo significativamente la concentración de colifagos debido a una mayor exposición directa y condiciones ambientales favorables para la penetración de la radiación solar.

**Figura 10**

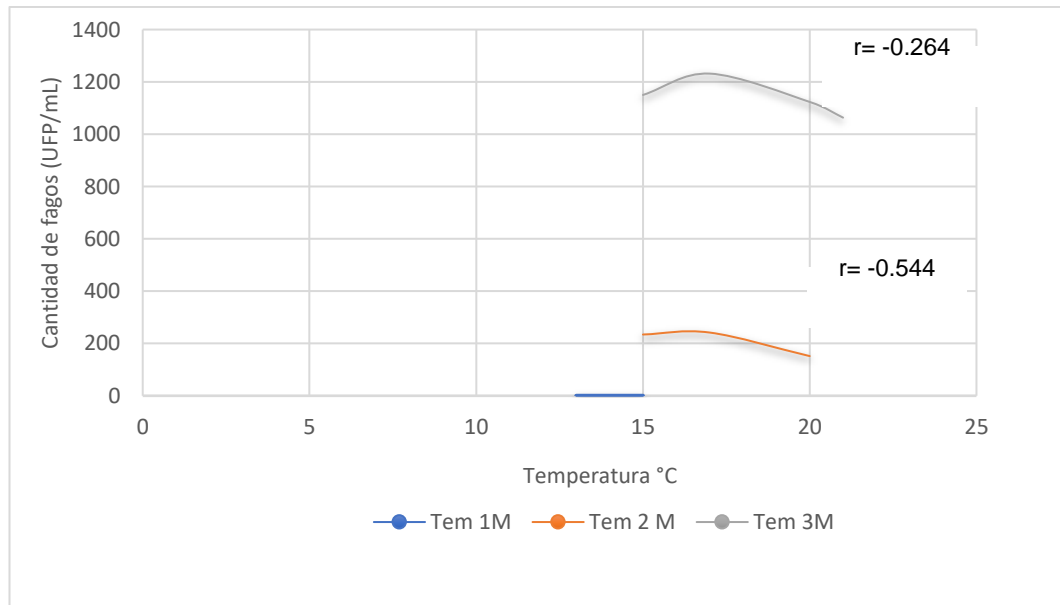
Efecto de la radiación solar ( $W/m^2$ ) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde ( $r$ =Correlación de Pearson).



Interpretación de la figura 10. En Rad 1T, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. En el Rad 2T tiene la correlación inversa es moderado donde ( $r = -0.547$ ) sugiere un patrón esperado de disminución de colífagos con mayor exposición solar, reflejando un impacto directo de la radiación. En el punto 3, la correlación inversa ( $r = -0.845$ ) la radiación solar tiene un efecto fuerte, disminuyendo significativamente la concentración de colífagos.

**Figura 11**

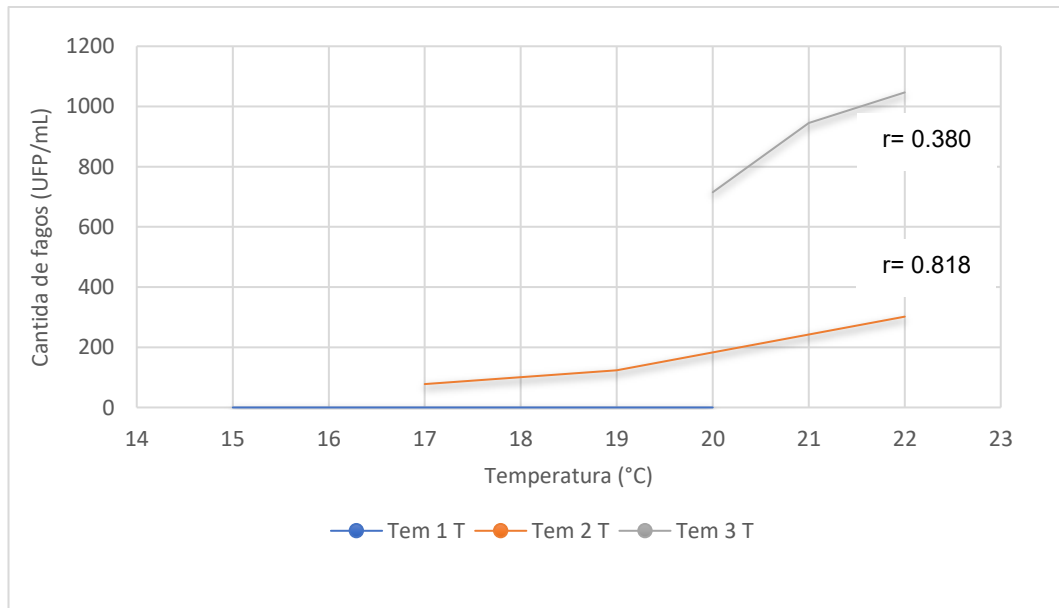
*Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana (r=Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 11. En Tem 1M, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. Punto Tem 2M la correlación negativa moderada ( $r = -0.544$ ) indica que la temperatura tiene un impacto relevante en la reducción de los colífagos, lo que podría atribuirse a una mayor exposición a condiciones ambientales como el calor y la radiación solar. Punto Tem 3M en este punto, la correlación negativa débil ( $r = -0.264$ ) sugiere que la temperatura no es el principal factor que influye en la concentración de colífagos, probablemente debido a condiciones locales que contrarrestan el efecto térmico.

**Figura 12**

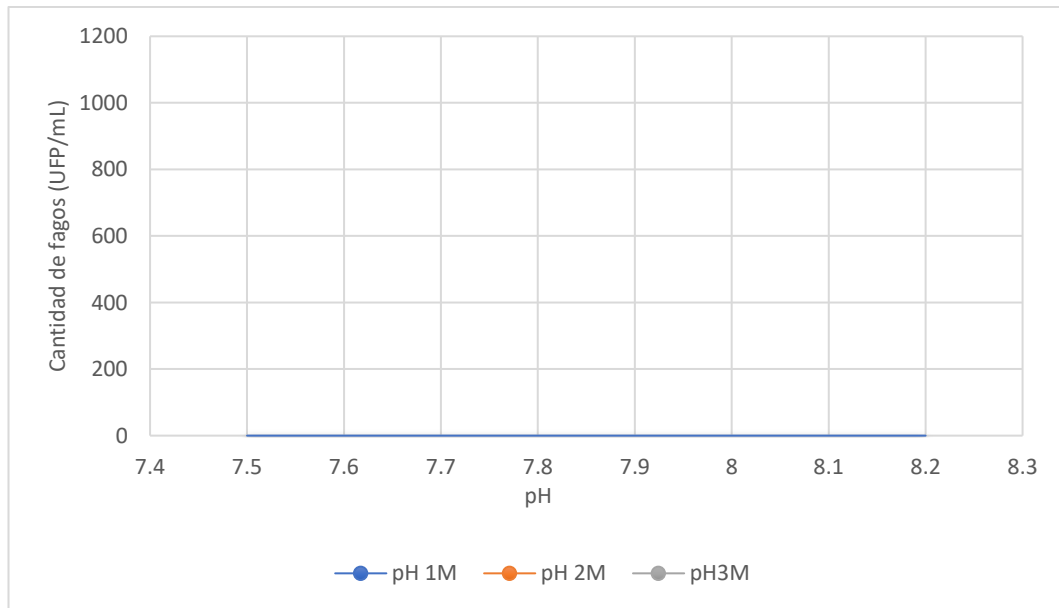
*Efecto de la temperatura (°C) sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante Toma de Muestras en la tarde (r=Correlación de Pearson).*



Interpretación de la figura 12. En Tem 1T, siendo el primer punto de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos son bajas, permaneciendo prácticamente constantes, incluso con variaciones en la radiación solar. En el Punto Tem 2 T donde la fuerte correlación positiva ( $r = 0.818$ ) refleja que la temperatura tiene un impacto significativo en la concentración de colífagos en este punto dando un incremento en la cantidad de colífagos en los rangos de 19 a 22°C, posiblemente debido a aportes externos, mayor actividad metabólica bacteriana o características locales del agua que favorecen su persistencia. En el punto Tem 3T la correlación positiva débil ( $r = 0.380$ ) indica que la temperatura influye en la concentración de colífagos, pero de manera más limitada en comparación con el punto Tem 2 T. Esto sugiere que otros factores locales tienen un papel más relevante en este sitio.

### Figura 13

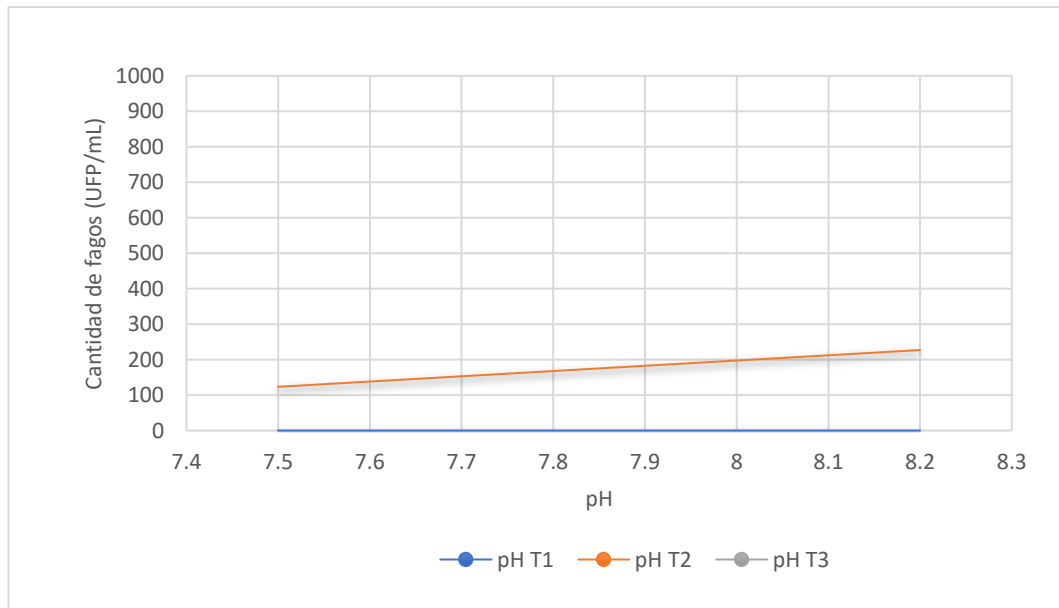
Efecto del pH sobre la Concentración de Fagos (UFP/mL) en el río Alameda durante. Toma de Muestras en la mañana.



Interpretación de la figura 13. En pH 1M, pH 2M y pH 3M siendo los tres puntos de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colífagos varía pero los valores de pH son constantes. En la gráfica observamos con todos los datos obtenidos de pH y cantidad de fagos en los puntos de muestreo sugiere que en pH de 8.2 se da mayor cantidad de colífagos.

**Figura 14**

*Efecto del pH sobre la concentración de fagos (UFP/mL) en el Río Alameda durante. Toma de Muestras en la tarde.*



Interpretación de la figura 14. En pH 1T, pH 3T siendo los dos puntos de muestreo en el río Alameda sugiere que las concentraciones de colifagos varia pero los valores de pH son constantes. Al realizar la correlación de Pearson del punto pH 2T se encontró una correlación de 0.366 lo cual sugiere que es una correlación positiva débil sugiere que el pH la correlación positiva moderada indica que el pH influye en la concentración de colifagos.

## V. DISCUSIÓN

En nuestro estudio se implementó la metodología de “capa simple” con la adición de un filtrado previo de la muestra. Este enfoque incrementa la sensibilidad y minimiza las interferencias en muestras de agua con diversos niveles de contaminación. Asemejándose al trabajo de Gaviria y González en 2012 donde aislaron bacteriófagos a partir de aguas residuales específicos para *E. coli* DH5 $\alpha$ . Este método también fue aplicado por Codillo en 2001 utilizando la cepa de bacteria hospedera ATCC 13706, ya que su alta disponibilidad de receptores contribuye a una mayor sensibilidad, especialmente en muestras de cultivos frescos.

El comportamiento de los colífagos, al permanecer estables y detectables en condiciones donde otros indicadores microbiológicos podrían no estar presentes, proporciona un criterio confiable para la evaluación de la calidad microbiológica del agua. Estudios previos de Zevallos (1997) , Ratto(1989) y Stetler (1984) han reportado observaciones similares, señalando que los colífagos son resistentes a ciertos tratamientos de desinfección y permanecen en el agua a niveles detectables incluso cuando otros indicadores han sido eliminados, trabajos similares realizado por Paz y Miño (2003) y Quiroz (2001) refuerza dichos resultados. Esto les confiere una ventaja como indicadores de contaminación fecal y los convierte en herramientas útiles para el monitoreo de aguas.

En nuestros resultados observamos que se da un incremento en la cantidad de fagos a un rango de temperatura de 19 a 22 °C en la figura 7,8,12 y 13; el trabajo de Espejo en 1980 demuestra que los bacteriófagos son bastante resistentes a la temperatura ambiente. Los bacteriófagos empiezan a desactivarse cuando la temperatura supera los 50 a 60 °C.

Los resultados de este estudio confirman que la radiación solar es un factor determinante en la inactivación de colífagos, lo que respalda su uso como

indicadores de contaminación fecal en cuerpos de agua expuestos al sol. La disminución de colífagos se relaciona directamente con la exposición a la radiación y el aumento de la temperatura del agua, en línea con investigaciones previas que describen mecanismos de inactivación directa e indirecta. La radiación UV B provoca daños directos al material genético viral, mientras que el incremento de la temperatura potencia este efecto, especialmente a temperaturas superiores a los 30°C esto descrito por Nelson (2018). La susceptibilidad de los colífagos a la radiación coincide con estudios que señalan que los virus de ARN de cadena sencilla son más vulnerables al daño por UV que otros virus más resistentes, como los de ADN de doble cadena. Esto indica que los colífagos no solo son útiles para evaluar contaminación fecal, sino que también son modelos adecuados para estudiar la respuesta de los virus ambientales a la radiación solar como indica Häder (2014).

Los resultados de esta investigación respaldan lo señalado por Wommack (1996) sobre el impacto diferencial de la radiación solar en microorganismos acuáticos. En nuestras observaciones, presentadas en las Figuras 5, 6, 10 y 11, se demuestra que la concentración de colífagos disminuye significativamente a medida que aumenta la exposición a la radiación solar. Este patrón evidencia que los colífagos, particularmente los somáticos, son sensibles a la radiación UV-B, lo que refuerza su utilidad como indicadores de contaminación fecal en aguas naturales. La comparación con los coliformes fecales es especialmente relevante. Según Wommack (1996), los coliformes se inactivan más rápidamente que los bacteriófagos. Este comportamiento sugiere que los colífagos pueden ofrecer una visión más conservadora de la calidad del agua, ya que persisten por más tiempo bajo exposición solar, lo que los convierte en indicadores más robustos en escenarios de alta radiación. Además, la variabilidad en la sensibilidad de los distintos tipos de fagos a la radiación solar subraya la importancia de seleccionar adecuadamente los indicadores según las condiciones del entorno.

La luz solar es un factor ambiental clave en la inactivación de colífagos en el agua, y este efecto puede emplearse para evaluar su uso como indicadores de contaminación fecal en ríos. Sinton en 1999 describe cómo la radiación solar degrada las estructuras de la cápside de los bacteriófagos, lo que provoca una reducción en su capacidad infectiva. Estos datos son especialmente relevantes para el presente estudio, ya que demuestran cómo la radiación solar afecta la persistencia de los colífagos en ambientes fluviales. La degradación de la cápside

deja el material genético de los colífagos expuesto y les hace perder su capacidad de infección, reduciendo su viabilidad como indicadores de contaminación. No obstante, debido a que algunos colífagos resisten la radiación solar mejor que las bacterias, su detección en aguas de río podría ser un marcador fiable de contaminación fecal bajo diferentes niveles de exposición a la luz. Así, el impacto de la radiación solar podría fortalecer su uso como indicadores duraderos en condiciones ambientales variadas. Además, estos resultados ofrecen una oportunidad para definir niveles de exposición a la luz solar como un criterio de inactivación de colífagos, diferenciando entre el efecto de la radiación directa y otras variables, como las temperaturas estacionales o la turbidez del agua. Este enfoque podría clarificar las circunstancias en las cuales los colífagos se mantienen viables como indicadores, proporcionando información esencial para el monitoreo de la calidad del agua y la gestión de recursos hídricos en ríos que enfrentan cambios de radiación solar a lo largo del año.

El pH juega un papel clave en la viabilidad de los bacteriófagos utilizados como indicadores de contaminación fecal en ríos. Según este estudio, los rangos de pH observados son de 7.5 a 8.2 no afectaron significativamente a los colífagos, coincidiendo con Grabow (2001). Los resultados obtenidos en los ríos Huatatas y Alameda destacan que la mayor concentración de colífagos se observó a pH 8.2, lo que concuerda con estudios como los de Punil (2017) y Jamalludeen. (2007), que señalan una mayor estabilidad y efectividad de los bacteriófagos en ambientes alcalinos. En estas condiciones, las interacciones electrostáticas entre los fagos y las bacterias hospedadoras son más favorables, promoviendo una adsorción eficiente y manteniendo su capacidad infecciosa. Además, estos hallazgos refuerzan la importancia del pH alcalino para la funcionalidad óptima de los colífagos en cuerpos de agua naturales. Esto concuerda con lo reportado por Manohar (2018) y Häder (2014) señalan que, aunque ciertos bacteriófagos toleran un rango amplio de pH, su viabilidad disminuye notablemente en condiciones ácidas (pH 5) y neutras (pH 7). Por tanto, el rango de pH observado en este estudio representa condiciones ideales para la estabilidad y persistencia de los colífagos en los ríos estudiados. Una limitación de este estudio es que se enfocó únicamente en un rango de pH moderado (7.5 a 8.2), lo que impide evaluar con mayor detalle el comportamiento de los colífagos en condiciones de pH más extremas, niveles extremos pueden comprometer la integridad estructural de los bacteriófagos, reduciendo su eficacia como indicadores de calidad del agua indicado por Sailema

(2024). Se sugiere realizar investigaciones adicionales que incluyan un rango más amplio de pH. Estas investigaciones podrían proporcionar una comprensión más integral del comportamiento de los colífagos y mejorar su aplicación como indicadores de contaminación fecal en diferentes condiciones. Generalmente, los bacteriófagos son estables a valores de pH entre 5 y 8, aunque este rango puede extenderse de 4 a 10 cuando la temperatura es baja (Jorquera, 2015; Hall & Ramírez, 2021). Sin embargo, los ambientes ácidos pueden desnaturalizar las proteínas de los bacteriófagos, lo que resulta en una pérdida de viabilidad. La capacidad de los bacteriófagos para persistir a valores bajos de pH depende del tipo de bacteriófago.

Grabow (2001) reporta en su trabajo que, en las aguas superficiales, la combinación de altas temperaturas y exposición solar intensifica la desactivación de los fagos. Este efecto es más marcado en cuerpos de agua poco profundos y con alta transparencia, donde la penetración de la luz solar es mayor. La temperatura afecta a los bacteriófagos en aguas superficiales o ríos, ya que se ha reportado que la supervivencia del fago T7 en agua de río, lago y subterránea está relacionada con la temperatura del agua. Los resultados que mostraron nuestro trabajo del efecto de la temperatura y la radiación solar coinciden con los mencionado ya que al incrementarse la radiación solar se produce una disminución de la cantidad de fagos mostrados en las gráficas 5,6,10 y 11. Al aumentar la radiación la temperatura de los ríos se incrementa teniendo mayor cantidad de fagos en rangos de 18 a 22 °C mostrados en las figuras 7,8,12 y 13. Wommack (1996) reporta que los fagos tienden a soportar niveles elevados de congelamiento, también ciclos de congelación y descongelación hace que los fagos se inactiven por lo que la temperatura optima de guardarlos es a 4°C. Las variaciones en la temperatura pueden afectar la estabilidad de los bacteriófagos temperaturas extremas pueden llevar a la desnaturalización de sus proteínas y la pérdida de infectividad (E. Wommack & Calwell, 1997) reporta que el rango de temperatura de estabilidad entre 0 y 23 °C para un bacteriófago marino sedimentario se determinó debido a una aparente incapacidad del bacteriófago para adsorberse irreversiblemente a las células hospedadoras. Los títulos del bacteriófago solo mostraron una reducción limitada cuando se expusieron a 30 °C durante 24 horas en presencia de su bacteria hospedadora. Esto sugiere que la estabilidad del bacteriófago está influenciada por su capacidad de adsorción a las células hospedadoras a diferentes temperaturas.

Los datos obtenidos en campo indicaron la ausencia de cloro en todos los puntos de muestreo. Esto sugiere que el agua de los ríos estudiados no estaba sometida a procesos de desinfección con cloro en el momento del muestreo, lo que podría estar relacionado con la falta de tratamiento previo del agua o con fuentes de contaminación natural. El cloro es un desinfectante ampliamente utilizado en el tratamiento de agua potable debido a su capacidad para inactivar una amplia gama de microorganismos patógenos. Según la Organización Mundial de la Salud la desinfección con cloro libre es eficaz contra bacterias y virus, aunque su eficacia puede variar dependiendo de la concentración y el tiempo de contacto (Gordon & Brown, 2011). Estudios previos han demostrado que concentraciones adecuadas de cloro pueden reducir significativamente la presencia de colifagos en cuerpos de agua. Por ejemplo, en una investigación realizada por Paz y Miño (2003), se evaluó la eficacia del tratamiento de agua en la Planta de Tratamiento de La Atarjea en Lima, Perú. Los resultados mostraron que, tras las etapas de decantación, filtración y cloración, hubo una remoción del 99,95% de colifagos, lo que destaca la eficacia de la cloración en la eliminación de estos virus. La ausencia de cloro en los ríos muestreados podría tener implicaciones significativas para la calidad microbiológica del agua, ya que permite la persistencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal, como los colifagos.

## **VI. CONCLUSIONES**

1. La radiación solar disminuye significativamente la cantidad de colifagos en el río Huatatas, se redujeron de 600 a 450 UFP/mL por la mañana y de 500 a 345 UFP/mL por la tarde y en el río Alameda fueron de 350 a 200 UFP/mL (punto 2, mañana) y de 400 a 40 UFP/mL (punto 2, tarde).
2. El incremento de temperatura en un rango de 18 a 22 °C aumenta la cantidad de colifagos en muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas de 400 UFP/ml a 600 UFP/mL.
3. Los rangos de pH en los ríos Alameda y Huatatas se mantuvieron constantes entre 7.5 y 8.2.
4. No se detectó presencia de cloro en las muestras analizadas de ambos ríos.

## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar la caracterización fisicoquímica “in vitro” de los bacteriófagos aislados en los ríos Alameda y Huatatas.
- Utilizar diferentes cepas de bacterias para el aislamiento de bacteriófagos presentes en los ríos Alameda y Huatatas.
- Incluir la medición de materia orgánica y turbidez para analizar si afectan en la cantidad de colífagos.
- Se sugiere evaluar la presencia de colífagos somáticos y F específicos por separado.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar Montes de oca. (2019). Caracterización y aplicación de bacteriófagos líticos en Salmonela enterica utilizando un modelo in vitro [Tesis Doctoral, Universidad Autónoma del estado de México]. pdf. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/105561/Tesis%20-%20doctorado%20Saul.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Arcos Pulido, M. D. P., Ávila De Navia, Msc, S. L., Estupiñán Torres, Msc, S. M., & Gómez Prieto, A. C. (2005a). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 3(4), 69-79. <https://doi.org/10.22490/24629448.338>
- Ango Aguilar, H., & Guevara Montero, R. (1999). *Detección de colífagos en fuentes de agua en Ayacucho*. En Libro de resúmenes 1999 (pp. 17-22). Universidad Ricardo Palma.
- Blanco Picazo, P. B. (2022). Bacteriófagos y movilización de genes de resistencia a antibióticos desde una perspectiva One- Health [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. pdf. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/PBP\\_TESIS%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/PBP_TESIS%20(2).pdf)
- Bracho, M., & Morón, V. (2008). Detección del virus de la hepatitis A , adenovirus 40 y 41 y bacteriófagos en agua para consumo humano. *CIENCIA*, 16(3), 8. pdf.
- Brown Jaque, M. (2018). Bacteriófagos en el cuerpo humano [Tesis Doctoral, Universitat de Barcelona]. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/MABJ\\_TESIS%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/MABJ_TESIS%20(3).pdf)
- Busbano Rosero, E., & Guerrero Ceballos, D. L. (2023). Escherichia coli y colífagos somáticos: Bioindicadores de contaminación fecal en el lago Guamuez [Universidad de Nariño]. pdf. <https://sired.udenar.edu.co/10365/>
- Cusiche Pérez, L. F., & Miranda Zambrano, G. A. (2019). Contaminación por aguas residuales e indicadores de calidad en la reserva nacional 'Lago Junín', Perú. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(6), 1433-1447. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1870>
- Espejo T, R. (1980a). Bacteriófagos (Vol. 12, p. 104). Eva V. Chesneau.
- Espinosa-García, A. C., & Arias-Ortiz, C. F. (2004). Virus en sistemas acuáticos e implicaciones en salud pública Virus in aquatic systems and public health implications. 14(2).
- Flores Dominick, V. de J. (2017). Aislamiento y caracterización de un bacteriófago con actividad lítica para *Vibrio fluvialis* [Maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. pdf. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/7ce1e76a-d387-42de-a2be-2df706ea2b2c/content>
- Galindo García, C. M. G. (2011). UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA. 70.
- García Salazar, I. A. (2018). Aislamiento de bacteriófago de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogo-resistente en aguas de tres ríos de la provincia de Lima—Peru [Título profesional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. pdf. <https://core.ac.uk/download/pdf/323343804.pdf>

- Gaviria, G., & González, M. (2012). Técnica para asilamiento de bacteriófagos específicos para *E. coli* DH5a a partir de aguas residuales. 17(1), 9. pdf.
- Gordon, B., & Brown, J. (2000). Evaluación de métodos para el tratamiento domésticos del agua: Metas sanitarias y especificaciones de eficiencia microbiológica (675; p. 78). Organización Mundial de la Salud; pdf. [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/79186/9789243548227\\_spa.pdf?utm\\_source=chatgpt.com](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/79186/9789243548227_spa.pdf?utm_source=chatgpt.com)
- Grabow, W. (2001). Bacteriophages: Update on application as models for viruses in water. 27(2), 18. pdf.
- Grabow, W. (2004). Bacteriophages: Update on application as models for viruses in water. *Water SA*, 27(2), 251-268. <https://doi.org/10.4314/wsa.v27i2.4999>
- Granda Játiva. (2021). Aislamiento de bacteriófagos inhibidores del crecimiento de *Listeria* spp con resistencia antimicrobiana [Título profesional, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/26730/1/TTQ191.pdf>
- Guzmán Quintero, A., & Palacios Vélez, O. (2007). La contaminación del agua superficial en la cuenca del Río Texcoco, México. *Agrociencia*, 41, 385-393.
- Gyles, C. L., & Fairbrother, J. M. (2010). *Escherichia Coli*. En C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer, & C. O. Thoen (Eds.), *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals* (1.<sup>a</sup> ed., pp. 267-308). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470958209.ch15>
- Häder, D.-P., Williamson, C. E., Wängberg, S.-Å., Rautio, M., Rose, K. C., Gao, K., Helbling, E. W., Sinha, R. P., & Worrest, R. (2014a). Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with other environmental factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 14(1), 108-126. <https://doi.org/10.1039/c4pp90035a>
- Hall, G., & Ramírez, A. (2021b). Aislamiento y Caracterización de bacteriófagos específicos de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. A partir de aguas residuales [Título profesional, Universidad de Panamá]. pdf. [https://up-rid.up.ac.pa/6366/1/gina\\_hall.pdf](https://up-rid.up.ac.pa/6366/1/gina_hall.pdf)
- Jorquera, D., Galarce, N., & Borie, C. (2015). El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: Bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. *Revista chilena de infectología*, 32(6), 678-688. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000700010>
- Judson, M. J., & Ribeiro Rosa, E. (2024). Morfología de las placas de bacteriófagos líticos que infectan *Escherichia coli* aislados de muestras de aguas residuales y ríos de Curitiba, Brasil. *Revista Academica ciencias animales*, 22, 7. pdf. <http://dx.doi.org/10.7213/acad.2024.22006>
- Kutter, E., & Sulakvelidze, A. (2004). *Bacteriophages: Biology and Applications*. CRC Press.
- Larrea-Murrell, J. A., Rojas-Badía, M. M., & Romeu-Álvarez, B. (2012). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: Revisión de la literatura. 44(3). pdf. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181229302004.pdf>

- Luján Urseler, N., Bachetti, R. A., Damilano, G., Morgante, V., Ingaramo, R. N., & Saino, V. (2019). CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y USOS DEL AGUA SUBTERRÁNEA EN ESTABLECIMIENTOS AGROPECUARIOS DEL CENTRO-SUR DE CÓRDOBA, ARGENTINA. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(4), 839-848. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.04.06>
- Madigan, M., & Martinko, J. (2009). *Brock Biología de los microorganismos* (14 edición). Pearson educacion S.A.; pdf. <https://eduteka.icesi.edu.co/proyectos/gp/doc/py-186017-454933-2588-20240116.pdf>
- Martín Díaz, J. (2017). Utilidad de los bacteriófagos y otros indicadores de contaminación fecal en muestras ambientales sólidas [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. pdf. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD\\_TESIS%20\(7\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD_TESIS%20(7).pdf)
- Martín Díaz, J. (2017). Utilidad de los bacteriófagos y otros indicadores de contaminación fecal en muestras ambientales sólidas [Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona]. pdf. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD\\_TESIS%20\(6\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMD_TESIS%20(6).pdf)
- Méjico Orosco, E. (2011). Recuento de coliformes fecales, coliformes totales y colífagos en agua de consumo humano en la comunidad de Uchuypampa 2009 [Tesis para optar título profesional, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga]. pdf. <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/19402fa9-2b94-478a-a15d-97c0444c0b5e/content>
- Meza Pacheco, A. P. (2016). Aislamiento y caracterización de bacteriófagos para cepas nosocomiales de *Acinetobacter baumannii* de Lima e Iquitos, Perú 2014-2015 [Tesis para optar título profesional, Universidad católica de Santa Mría]. pdf. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/803675ce-5e5a-4cb6-86db-0c3286cdcdfa/content>
- Mojica, K. D. A., & Brussaard, C. P. D. (2014). Factors affecting virus dynamics and microbial host virus interactions in marine environments. *FEMS Microbiology Ecology*, 89(3), 495-515. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12343>
- Montoya Vargas, M. J. (2019). Evaluación de la contaminación fecal y propuesta de control en la microcuenca del río Olia, región amazonas [Tesis para optar título profesional, Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur]. pdf. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/6595113>
- Nallelyt Segundo, & Hernandez, E. (2010). Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas (fagoterapia). *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 41(3), 11.
- Nelson, K. L., Boehm, A. B., Davies-Colley, R. J., Dodd, M. C., Kohn, T., Linden, Karl. G., Liu, Y., Maraccini, P. A., McNeill, K., Mitch, W. A., Nguyen, T. H., Parker, K. M., Rodriguez, R. A., Sassoubre, L. M., Silverman, A. I., Wigginton, K. R., & Zepp, R. G. (2018). Sunlight-mediated inactivation of health-relevant microorganisms in water: A review of mechanisms and

- modeling approaches. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 20(8), 1089-1122. <https://doi.org/10.1039/C8EM00047F>
- Olivas-Enriquez, E., Flores-Margez, J. P., Serrano-Alamillo, M., Soto-Mejía, E., Iglesias-Olivas, J., Salazar-Sosa, E., Fortis-Hernández, M., Olivas-Enriquez, E., Flores-Margez, J. P., Serrano-Alamillo, M., Soto-Mejía, E., Iglesias-Olivas, J., Salazar-Sosa, E., & Fortis-Hernández, M. (2011). Indicadores fecales y patógenos en agua descargada al Río Bravo. *Terra Latinoamericana*, 29(4), 449-457.
- Osorio, J. C. C. (2015). Bacteriófagos: Aspectos generales y aplicaciones clínicas. *Hechos Microbiológicos*, 6(1-2), Article 1-2. <https://doi.org/10.17533/udea.hm.335348>
- Paz-y-Miño, M., Barzola, C., Lazcano, C., Ponce, M., & León, J. (2003a). Colifagos como indicadores de contaminación fecal y de remoción bacteriana en la potabilización del agua. *Revista Peruana de Biología*, 10(2), 133-144. <https://doi.org/10.15381/rpb.v10i2.2495>
- Perdomo, C. H., & Casanova, O. N. (2001). Contaminación de aguas subterráneas con nitratos y coliformes en el litoral sudoeste del Uruguay. *Agrociencia*, V(1), 13. pdf.
- Primrose, S. B. (1976). *Introducción a la virología moderna* (Primera edición). Hermann Blume ediciones.
- Punil, L. (2017). Caracterización de un bacteriófago específico de *Escherichia coli* aislado de aguas residuales de «La Taboada» [Título profesional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. pdf. <https://core.ac.uk/download/pdf/323342482.pdf>
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236-247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>
- Rubalcaba, S. C., González, M. I. G., & Rojas, T. T. (2007). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares (Cuba).
- Santander M., J., & Robeson C., J. (2002). Aislamiento y caracterización de bacteriófagos activos contra *Salmonella enteritidis* y su ensayo en *Salmonella pullorum*. *Laboratorio de Bacteriología*, 8(17), 5. pdf. <https://doi.org/UCV 122.759.2000>.
- Seañez Reyes, Rr. (2001). Aislamiento de bacteriófagos y su aplicación en la contaminación de la Bahía Todos Santos, B.C. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California]. pdf. <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/server/api/core/bitstreams/a56b84f9-097c-4f59-9687-f78289f4ddb9/content>
- Sinton, L. W., Finlay, R. K., & Lynch, P. A. (1999). Sunlight Inactivation of Fecal Bacteriophages and Bacteria in Sewage-Polluted Seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8), 3605-3613. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.8.3605-3613.1999>
- Vanegas, L. (2015). Indicadores de Contaminación fecal en la subcuenca del Río Gil González. *Universidad y Ciencia*, 6(9), 31-37. <https://doi.org/10.5377/uyc.v6i9.1954>

- Victoria Blanco, E. E. (2021). Caracterización de bacteriófagos provenientes de aguas residuales de río Abajo, ciudad de Panamá con actividad antimicrobiana contra el complejo *Enterobacter cloacae* [Tesis de Maestría, Universidad de Panamá]. pdf. [https://up-rid.up.ac.pa/4497/1/ednner\\_victoria.pdf](https://up-rid.up.ac.pa/4497/1/ednner_victoria.pdf)
- Wommack, E., & Calwell, R. R. (1997). Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(1), 77-83. <https://doi.org/10.1128/aem.63.1.77-83.1997>

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Punto 1 de muestreo del río Huatatas.

## **RÍO HUATATAS**



**NOTA:** En el punto 1 del río Huatatas hubo accesibilidad al punto al realizar una caminata de 15 minutos, al ser alejado de la ciudad no hubo presencia de contaminación en los ríos.

### Anexo 2. Punto 2 de muestreo del río Huatatas.



**Nota:** En el punto 2 se observó que, tras una caminata de 15 minutos para acceder al lugar, había actividad humana alrededor del río, específicamente siembra de choclo. En las orillas del río no se detectó contaminación ni se encontraron desechos.

### Anexo 3. Punto 3 de muestreo del río Huatatas.



**Nota:** Se tuvo acceso al punto de muestreo y se observó la presencia de desechos en las orillas de los ríos. Además, se percibieron olores desagradables debido a la descomposición de materia orgánica. Las casas aledañas utilizaban el río como depósito de desechos.

**Anexo 4. Punto 1 de muestreo del río Alameda.**

**RÍO ALAMEDA**



**Nota:** En el punto 1 del río Alameda, se observó, tras una caminata de aproximadamente 45 minutos, que no hubo contaminación en el río, ya que este punto se encontraba alejado de la ciudad, donde no se registró actividad humana. El agua se presentó más clara, sin presencia de turbidez, y no se detectaron olores desagradables.

### Anexo 5. Punto 2 de muestreo del río Alameda.



**Nota:** En el punto 2 de muestreo del río Alameda, ubicado cerca del evitamiento, se observó que las personas y casas aledañas utilizan este punto como depósito de desechos. Se percibieron olores desagradables y el agua presentaba turbidez.

### Anexo 6. Punto 3 de muestreo del río Alameda.



**Nota:** En el punto 3 del río Alameda, se tuvo acceso tras una caminata de 15 minutos. Se observó que el agua presentaba turbidez y había presencia de desechos en el río. En las orillas se notó acumulación de desechos como bolsas de plástico y botellas. Además, se percibió un olor desagradable.

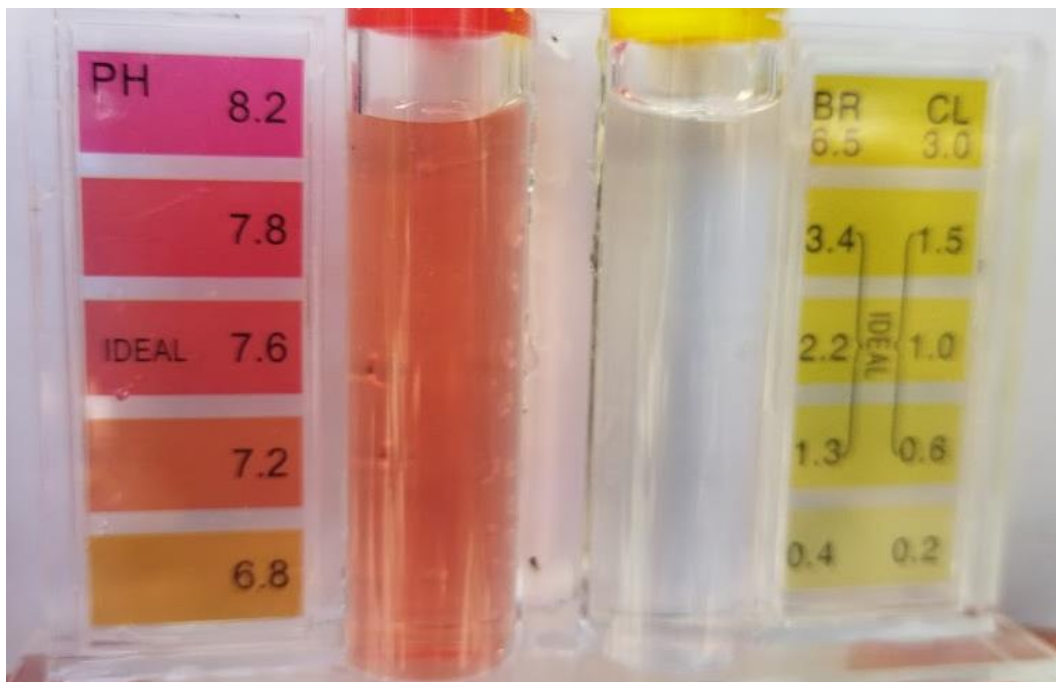
**Anexo 7.** Toma de muestra en el punto 2 del río Alameda.



**Anexo 8.** Registro de temperatura en el punto 1 de río Huatatas.



**Anexo 9.** Registro de pH y Cloro kit en cada punto de muestreo.



**Anexo 10.** Materiales para el filtrado de muestras de agua de los ríos.



**Anexo 11.** Observación de UFP en muestras de agua de río.



**Anexo 12.** Datos registrados en campo del río Huatatas.

**Tabla 2**

*Datos de radiación solar (W/m<sup>2</sup>) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde.*

FECHAS	RAD 1	CANTIDAD 1	CANTIDAD 2	CANTIDAD 3	fechas	RAD 1	CANTIDAD 1	CANTIDAD2	CANTIDAD 3
	(W/m <sup>2</sup> ) mañana					T (W/m <sup>2</sup> ) tarde			
1	197	0	0	650	1	590	0	0	495
8	198	0	0	640	7	630	0	0	470
5	200	0	0	570	9	670	0	0	555
12	260	0	0	555	3	690	0	0	550
6	260	0	0	560	8	693	0	0	500
2	275	0	0	480	11	730	0	0	465
9	340	0	0	475	12	740	0	0	480
4	350	0	0	460	2	750	0	0	440
3	397	0	0	440	5	763	0	0	475
11	420	0	0	435	4	784	0	0	425
10	440	0	0	425	6	800	0	0	435
7	450	0	0	470	10	860	0	0	345

**Tabla 3**

*Datos registrados de pH y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la mañana.*

Fechas	Mañana 1	Cantidad 1	Fechas	Mañana 2	Cantidad 2	Fechas	Mañana 3	Cantidad 3
1	7.8	0	1	8.2	0	1	8.2	650
2	7.8	0	2	8.2	0	2	8.2	640
3	7.8	0	3	8.2	0	3	8.2	570
4	7.8	0	4	8.2	0	4	8.2	555
5	7.8	0	5	8.2	0	5	8.2	560
6	7.5	0	6	7.8	0	6	7.8	480
7	7.8	0	7	7.5	0	7	7.8	475
8	8.2	0	8	7.5	0	8	7.5	460
9	8.2	0	9	8.2	0	9	7.5	440
10	8.2	0	10	7.8	0	10	7.5	435
11	7.8	0	11	7.8	0	11	8.2	425
12	7.8	0	12	7.5	0	12	7.8	470

Fechas	pH Promedio	Cantidad 1	Fechas	pH Promedio	Cantidad 2	Fechas	pH Promedio	Cantidad 3
1,2,3,4,5, 6,10,11,1 2	5.17	0	1,2,3,4,5 ,6,7,8,9, 10	7.98	0	1,2,3,4,5, 6,7,8,9,1 0,11,12	7.93	513.3
7,8,9	8.07	0	11,12	7.65	0			

**Tabla 4**

*Datos registrados de pH y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Huatatas recolectados durante la tarde.*

Fechas	Tarde 1	Cantidad 1	Fechas	Tarde 2	Cantidad 2	Fechas	Tarde 3	Cantidad 3
1	8.2	0	1	7.5	0	1	8.2	495
2	8.2	0	2	7.5	0	2	8.2	470
3	8.2	0	3	7.5	0	3	8.2	555
4	8.2	0	4	8.2	0	4	8.2	550
5	8.2	0	5	8.2	0	5	8.2	500
6	8.2	0	6	8.2	0	6	8.2	465
7	8.2	0	7	8.2	0	7	8.2	480
8	8.2	0	8	8.2	0	8	8.2	440
9	8.2	0	9	8.2	0	9	8.2	475
10	8.2	0	10	7.5	0	10	8.2	425
11	8.2	0	11	7.5	0	11	8.2	435
12	8.2	0	12	7.5	0	12	8.2	345

Fechas	pH Promedio	Cantidad 1	Fechas	pH Promedio	Cantidad 2	Fechas	pH Promedio	Cantidad 3
1,2,3,4,5, 6,7,8,9,1 0,11,12	8.2	0	1,2,3,10, 11,12 4,5,6,7,8, 9	7.5 8.2	0 0	1,2,3,4, 5,6,7,8, 9,10,11 ,12	8.2	469.583333

**Tabla 5**

*Datos de temperatura (°C) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la mañana.*

Fechas	Mañana 1	Cantidad 1	Fechas	Mañana 2	Cantidad 2	Fechas	Mañana 3	Cantidad 3
1	10	0	1	13	0	1	19	650
2	10	0	2	13	0	2	20	640
3	10	0	3	13	0	3	19	570
4	11	0	4	16	0	4	19	555
5	11	0	5	16	0	5	19	560
6	11	0	6	16	0	6	20	480
7	13	0	7	19	0	7	20	475
8	13	0	8	18	0	8	20	460
9	13	0	9	19	0	9	19	440
10	14	0	10	16	0	10	19	435
11	14	0	11	14	0	11	18	425
12	14	0	12	14	0	12	18	470

Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad
1,2,3	10	0	1,2,3	13	0	1,2,3	19.3333333	620.0
4,5,6	11	0	11,12	14	0	4,5,6	19.3333333	531.7
7,8,9	13	0	4,5,6,10	16	0	7,8,9,10,11,1 2	19	450.8
10,11,12	14	0	7,8,9	18.666666 7	0			

**Tabla 6**

*Datos de temperatura (°C) registrados en campo del río Huatatas recolectados durante la tarde.*

Fechas	Tarde 1	Cantidad 1	Fechas	Tarde 2	Cantidad 2	Fechas	Tarde 3	Cantidad 3
1	18	0	1	19	0	1	19	495
2	18	0	2	19	0	2	19	470
3	18	0	3	19	0	3	19	555
4	17	0	4	20	0	4	19	550
5	17	0	5	21	0	5	18	500
6	17	0	6	22	0	6	17	465
7	17	0	7	21	0	7	17	480
8	17	0	8	20	0	8	18	440
9	17	0	9	21	0	9	20	475
10	20	0	10	19	0	10	18	425
11	20	0	11	19	0	11	18	435
12	20	0	12	18	0	12	18	345
Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad	Fechas	Tem	Cantidad
1,2,3	18	0	1,2,3	19	0.0	1,2,3	18	401.7
4,5,6,7,8,9	17	0	10,11,12	18.6666667	0.0	10,11,12	18	505.0
10,11,12	20	0	4,5,6	21	0.0	4,5,6	18.3333333	465.0
			7,8,9	20.6666667	0.0	7,8,9	19	506.7

### Anexo 13. Datos registrados en campo del río Alameda.

**Tabla 7**

*Datos de radiación solar (W/m<sup>2</sup>) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en muestras recolectadas durante la mañana y la tarde del río Alameda.*

Fechas	RAD	Cantida	Cantida	Cantida	Fechas	RAD	Cantidad	Cantidad	Cantidad
	(W/m <sup>2</sup> ) Mañana	d Punto 1	d Punto 2	d Punto 3		(W/m <sup>2</sup> ) Tarde	Punto 1	Punto 2	Punto 3
6	187	0	305	1375	2	469	0	180	1240
7	230	0	200	1050	4	500	0	375	1190
8	234	0	260	1415	8	520	0	190	1020
2	300	0	185	1275	9	615	0	315	990
1	321	0	325	1160	6	700	0	325	925
5	326	0	185	945	5	707	0	415	1025
9	330	0	265	1230	7	715	0	190	890
10	334	0	125	1200	10	765	0	135	880
12	358	0	130	1070	3	769	0	125	785
4	373	0	190	1050	1	773	0	65	745
3	427	0	215	1015	11	820	0	58	660
11	464	0	200	920	12	877	0	40	605

**Tabla 8**

*Datos registrados de pH y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana y tarde.*

Horario de muestreo	Fechas	pH	Cantidad	pH	Cantidad	pH	Cantidad
		mañana 1	Punto 1	mañana 2	Punto 2	mañana 3	Punto 3
Mañana	1	8.2	0	8.2	325	8.2	1160
	2	8.2	0	8.2	185	8.2	1275
	3	8.2	0	8.2	215	8.2	1015
	4	8.2	0	8.2	190	8.2	1050
	5	8.2	0	8.2	185	8.2	945
	6	8.2	0	8.2	305	8.2	1375
	7	7.5	0	8.2	200	8.2	1050
	8	7.5	0	8.2	260	8.2	1415
	9	7.5	0	8.2	265	8.2	1230
	10	8.2	0	8.2	125	8.2	1200
	11	8.2	0	8.2	200	8.2	920
	12	8.2	0	8.2	130	8.2	1070
Tarde	1	8.2	0	7.5	65	8.2	745
	2	8.2	0	7.5	180	8.2	1240
	3	8.2	0	7.5	125	8.2	785
	4	8.2	0	8.2	375	8.2	1190
	5	8.2	0	8.2	415	8.2	1025
	6	8.2	0	8.2	325	8.2	925
	7	8.2	0	8.2	190	8.2	890
	8	8.2	0	8.2	190	8.2	1020
	9	8.2	0	8.2	315	8.2	990
	10	7.5	0	8.2	135	8.2	880
	11	7.5	0	8.2	58	8.2	660
	12	7.5	0	8.2	40	8.2	605

**Tabla 9**

*Datos registrados de Temperatura (°C) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la mañana.*

Fechas Mañana	Tempera tura (°C)	Cantidad Punto 1	Fechas Mañana	Tempera tura (°C)	Cantidad Punto 2	Fechas Mañana	Tempera tura (°C)	Cantidad Punto 3
1	13	0		15	325		15	1160
2	13	0		15	185		15	1275
3	13	0		15	215		15	1015
4	15	0		15	190		20	1050
5	15	0		15	185		20	945
6	15	0		15	305		20	1375
7	15	0		17	200		17	1050
8	15	0		17	260		17	1415
9	15	0		17	265		17	1230
10	14	0		20	125		21	1200
11	14	0		20	200		21	920
12	14	0		20	130		21	1070
Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio
1,2,3	13	0	1,6	15	234.666667	1,3	15	1150
10,11,12	14	0	7,8,9	17	241.666667	7,8,9	17	1231.66667
4,5,6,7,8,9	15	0	10,11,12	20	151.666667	4,6	20	1123.33333

**Tabla 10**

*Datos registrados de Temperatura (°C) y cantidad de colifagos (UFP/mL) en el río Alameda recolectados durante la tarde.*

Fechas Tarde	Temperat ura (°C)	Cantidad Punto 1	Fechas Tarde	Temperat ura (°C)	Cantidad Punto 2	Fechas Tarde	Temperat ura (°C)	Cantidad Punto 3
1	18	0	1	19	65	1	21	745
2	18	0	2	19	180	2	21	1240
3	18	0	3	19	125	3	21	785
4	20	0	4	22	375	4	22	1190
5	20	0	5	22	415	5	22	1025
6	20	0	6	22	325	6	22	925
7	20	0	7	22	190	7	21	890
8	20	0	8	22	190	8	21	1020
9	20	0	9	22	315	9	21	990
10	15	0	10	17	135	10	20	880
11	15	0	11	17	58	11	20	660
12	15	0	12	17	40	12	20	605
Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio	Fechas	T °C promedio	Cantidad promedio
10,11,12	15	0	10,11,12	17	77.6666667	10,11,12	20	715
1,2,3	18	0	1,2,3	19	123.333333	1,2,3,7,8,9	21	945
4,5,6,7,8,9	20	0	4,5,6,7,8,9	22	301.666667	4,5,6	22	1046.66667

### Anexo 14. Matriz de consistencia.

**Título** : Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas-Ayacucho 2021

**Autor** : Yazmin Lisbeth Canchari Rojas

**Asesor:** Dr. José Alarcón Guerrero

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Cuál será la cantidad y que características fisicoquímicas tendrán los colifagos aislados de los ríos Alameda y Huatatas?	<p><b>General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar colifagos procedentes de los ríos Alameda y Huatatas.</li> </ul> <p><b>Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aislar y caracterizar colifagos procedentes de los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Cuantificar colifagos utilizando como cepa receptora a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076 en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Determinar el efecto de la radiación solar en colifagos utilizando como cepa receptora a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076 en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Determinar la sensibilidad del cloro en colifagos utilizando como cepa receptora a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13076 en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> </ul>	<p><b>Antecedentes</b></p> <p><b>Marco conceptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Frecuencia</li> <li>• Huésped</li> <li>• Placa</li> <li>• Colifagos</li> <li>• Célula hospedera</li> </ul> <p><b>Bases teóricas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Control de calidad microbiológica del agua</li> <li>• Características de los ríos Huatatas y Alameda</li> <li>• Bacteriófagos</li> <li>• Estructura de los bacteriófagos</li> <li>• Ciclo del bacteriófago</li> <li>• Virus indicadores de calidad sanitaria en el agua</li> <li>• Bacterias presentes en el agua</li> <li>• Bacteria entérica indicadora</li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• Cuantificación de virus</li> <li>• Técnicas de enumeración e identificación de bacteriófagos</li> <li>• Determinación de placa de lisis</li> <li>• Técnica de membrana filtro adsorción</li> </ul>	<p><b>Variable</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cantidad de colifagos presentes en los ríos Alameda y Huatatas.</li> <li>• Características fisicoquímicas de los colifagos (efecto de la radiación solar y sensibilidad al cloro)</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Unidades formadores de placas (UFP)</li> <li>• Variación de la radiación solar en los días de muestreo.</li> <li>• Variación del cloro en las muestras de agua de los ríos Alameda y Huatatas.</li> </ul>	<p><b>Tipo de investigación</b> Básico</p> <p><b>Nivel de investigación</b> Descriptiva comparativa</p> <p><b>Método</b> Comparativo Estadístico</p> <p><b>Diseño</b> Descriptivo</p> <p><b>Análisis de datos</b></p> <p><b>Población</b> Aguas del río Alameda y Huatatas</p> <p><b>Muestras</b> Las muestras de agua recolectadas en los puntos de muestreo.</p> <p><b>Técnicas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La determinación de bacteriófagos se realizará mediante la prueba de la gota o Spot test descrita por twest y kropinski con modificaciones "doble capa".</li> <li>• La determinación de cloro se realizará siguiendo el protocolo de monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales – DIGESA.</li> </ul> <p><b>Instrumentos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Equipo de filtración al vacío</li> <li>• Incubadora</li> </ul> <p><b>Materiales y equipos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Asa de kolle</li> <li>• Centrifuga</li> <li>• Matrices Erlenmeyer</li> <li>• Micropipeta</li> <li>• Papel de filtro</li> <li>• Tips</li> <li>• Tubos de ensayo</li> </ul>

**UNSCH**FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS**  
**RESOLUCIÓN DECANAL N° 024-2025-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes siete de marzo del año dos mil veinticinco; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista, el Dr. Homero Ango Aguilar (miembro – jurado), Dra. Nilda Aurea Apayco Espinoza (miembro – jurado), Mg. Dante Moisés Barrenechea Bustamante (miembro – jurado), Dr. José Alarcón Guerrero (miembro – asesor), actuando como secretario docente el Mg. Luis Uriel Moscoso García; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021**, presentado por la **Bach. Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS**; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

<b>Miembros del jurado evaluador</b>	<b>Exposición</b>	<b>Respuesta/preguntas</b>	<b>Promedio</b>
Dr. Homero Ango Aguilar	13	13	13
Dra. Nilda Aurea Apayco Espinoza	16	16	16
Mg. Dante Moisés Barrenechea Bustamante	15	15	15
		<b>PROMEDIO</b>	<b>15</b>

La sustentante alcanzó el promedio de 15 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis de la tarde con treinta minutos; firmando al pie del presente en señal de conformidad.

Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista  
Presidente

Dr. Homero Ango Aguilar  
Miembro – Jurado

Dra. Nilda Aurea Apayco Espinoza  
Miembro – Jurado

Mg. Dante Moisés Barrenechea Bustamante  
Miembro – Jurado

Dr. José Alarcón Guerrero  
Miembro – Asesor

Mg. Luis Uriel Moscoso García  
Secretario docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

N° 018-2025-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021**, por YAZMIN LISBETH CANCHARI ROJAS; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 9%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 23 de abril de 2025.

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Escuela Profesional de Biología  
Dr. Fidel R. Mujica Lengua  
DIRECTOR

# Cuantificación de colífagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021

*por* Yazmin Lisbeth CANCHARI ROJAS

---

**Fecha de entrega:** 22-abr-2025 09:00p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2654121142

**Nombre del archivo:** NCHARI\_ROJAS\_-Yazmin-\_Lisbeth\_-pregrado-2025\_TURNITIN\_PDF\_3.pdf (963.87K)

**Total de palabras:** 11883

**Total de caracteres:** 61372

# Cuantificación de colifagos y caracterización fisicoquímica en aguas del río Alameda y Huatatas- Ayacucho 2021

## INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

9%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="https://up-rid.up.ac.pa">up-rid.up.ac.pa</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="http://www.urbe.edu">www.urbe.edu</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://biblioteca.usac.edu.gt">biblioteca.usac.edu.gt</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://dieumsnh.qfb.umich.mx">dieumsnh.qfb.umich.mx</a> Fuente de Internet	1%
6	Marco Paz-y-Miño, Carmen Barzola, César Lazcano, Milagros Ponce, Jorge León. "Colifagos como indicadores de contaminación fecal y de remoción bacteriana en la potabilización del agua", Revista Peruana de Biología, 2013 Publicación	<1%
7	<a href="http://www.produccioncientificaluz.org">www.produccioncientificaluz.org</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="http://www.pumagua.unam.mx">www.pumagua.unam.mx</a> Fuente de Internet	<1%
9	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	<1%

---

10	<a href="http://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
11	<a href="http://repositorio.upn.edu.pe">repositorio.upn.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
12	<a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a> Fuente de Internet	<1 %
13	<a href="http://html.rincondelvago.com">html.rincondelvago.com</a> Fuente de Internet	<1 %

---

---

Excluir citas      Activo

Excluir bibliografía      Activo

Excluir coincidencias      < 30 words