

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
UNAN-LEÓN

Facultad de Ciencias y Tecnología
Departamento de Biología



**Estudio Microbiológico de la Subcuenca del río Aguas Calientes
en Somoto – Madriz, Nicaragua.**

Trabajo Monográfico para optar al título

Licenciado en Biología

Autor:

- Br. Carlos Isaac Fuentes Cabrera.

Tutor:

- Dra. Aura Lyli Orozco Solórzano.
- Dra. Ana Cristina Rostrán.
- MSc. Octavio Guevara Villavicencio.

León, Febrero 2012.

DEDICATORIA

Doy gracias a Dios y Padre de nuestro Señor Jesucristo. Por la Gracia de poder culminar con éxito mis estudios y por las bendiciones que me ha sabido dar en su momento, además de regalarme las fortalezas en mis debilidades.

A nuestra Madre la Santísima la Virgen María. Que me ha sabido cuidar con amor y dulzura.

A mis padres:

- CARLOS ALBERTO FUENTES CHAVARRIA.
- DULCE MARIA DEL SOCORRO DE FUENTES.

Que con amor y esfuerzo me han sabido guiar para la culminación de dicho trabajo, agradeciéndole su apoyo y ayuda incondicional durante todo este tiempo de realización.

AGRADECIMIENTO

A Dios Sobre todas las cosas, por sus bendiciones.

MSc. Octavio Guevara Villavicencio, por darme la oportunidad de realizar esta investigación en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la UNAN-León.

Dr. Aura Lyli Orozco Solórzano, por darme la oportunidad, apoyo, orientación durante todo este proceso de formación.

Dr. Ana Cristina Rostrán, por haber accedido amablemente a colaborar con la investigación, además de compartir sus conocimientos, por su amistad, consejos y confianza brindada, un placer de haberla conocido.

Agradezco al comité de cuenca por haberme dado la oportunidad de haber realizado esta investigación, por el suministro de información valiosa, al programa CATIE-FOCUENCAS II - Somoto por las orientaciones brindadas y su asesoría.

A mi amigo David Aroca, por haberme apoyado y compartido sus vivencias en la Subcuenca.

A mis amigos extranjeros, que han ayudado en el aporte de esta investigación, así como Paloma Martin Sánchez y Laura Almansa Sánchez.

CONTENIDO

RESUMEN.....	vi
1.INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
MARCO TEÓRICO.....	4
3.1 Generalidades.....	4
3.1.2 Impotancia del agua.....	6
3.1.3 Impotancia del agua del subsuelo.....	8
3.1.4 Ciclo Hidrológico.....	8
.....	8
3.1.5 Distribución del agua en el subsuelo.....	8
.....	8
3.1.6 Calidad de agua del subsuelo.....	9
3.1.7 Enfermedades microbianas transmitidas por el agua.....	11
3.1.8 Microorganismos Indicadores de contaminación.....	13
3.1.9 Detención de los coliformes	17
3.1.10 Hongos.....	21
3.1.11 Aerobios Mesofilos	22
3.2 Métodos de siembra.....	22
3.3 Normas de calidad de agua para consumo humano (CAPRE, 1993).....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
4.1 Localización área de estudio.....	25
4.2 Selección y recolección de la muestras.....	26
4.3 Análisis microbiológicos realizados.	27
4.3.1 Análisis mínimo.....	28
4.3.2 Análisis complementario.....	28
4.3.3 Recuento de esporas Clostridium sulfito reductores.....	29
4.3.4 Estreptococos del grupo D de Lancefield.....	29

4.3.5 Detección de Escherichia Coli.....	29
4.3.6 Detección de Salmonella sp.....	29
4.4 Otros indicadores de contaminación de agua.....	30
4.5 Pruebas Bioquímicas.....	30
Pruebas complementarias para la identificación de Microorganismos.....	32
4.6.1 Tinción de Gram.....	32
4.6.2 Tinción de esporas.....	32
4.6.3 Prueba de oxidasa.....	33
4.6.4 Prueba de la Catalasa.....	33
4.7 Análisis de los datos.....	34
RESULTADOS	35
5.1 Comparación de la contaminación de Coliformes en todo el periodo de estudio.....	35
5.2 Comparación de contaminación de Coliformes con respecto al tipo de pozo por localidad.....	36
5.3 La contaminación con respecto a las épocas.....	37
.....	38
5.4 Análisis de Varianza y prueba de Duncan	38
5.5 Otros indicadores de contaminación de agua.....	40
.....	40
DISCUSIÓN.....	41
6.1. Comparación de la contaminación de Coliformes en todo el periodo de estudio.....	41
6.2. Comparación de contaminación de Coliformes con respecto al tipo de pozo por localidad.	41
6.3 La contaminación con respecto a las épocas.....	42
6.4 Análisis de Varianza y prueba de Duncan.	42
6.5 Otros indicadores de contaminación de agua.....	43
CONCLUSIONES.....	44
RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS.....	48

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el área rural de la Subcuenca Bimunicipal del Río Aguas Calientes en Somoto municipio del departamento de Madriz, Nicaragua. El propósito de este trabajo es determinar la calidad microbiológica del agua que consumen 849 familias de ocho comunidades de Somoto y San Lucas.

Se tomaron muestras mensuales durante ocho meses a 35 pozos; de Septiembre 2008 - Abril del 2009. Con el propósito de determinar si existen diferencias estadísticas significativas de las variables Coliformes totales y fecales. Se midieron los siguientes factores: época (lluviosa y seca), características físicas de los pozos (perforados o excavados), comunidad (rodeo II, Quebrada de agua, Mansico, Uniles, St. Isabel, St. Rosa, el Volcán y el Porcal).

La metodología tuvo como fases la recopilación de información, el uso actual de las fuentes de agua y sus pozos. El análisis de las muestras microbiológicas se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la UNAN- León. El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa estadístico SPSS versión 15.0.1 para Windows.

Los resultados de este estudio sirven como referencia para tomar las medidas preventivas y correctivas para el consumo de agua doméstico en la zona de estudio.

1. INTRODUCCIÓN

La demanda de agua se ha incrementado debido a la mejora en la calidad de vida y al desarrollo industrial y agrícola. Como contrapartida esto provoca una modificación de las propiedades físicas, químicas y biológicas del agua.

En Nicaragua para el año 2004 sólo el 63% de la población rural tenía acceso al agua potable. En Centroamérica era el porcentaje más bajo. Los cuidados sanitarios adecuados estaban disponibles para el 47% de la población total. El 34% de los habitantes rurales del país y el 56% de los habitantes urbanos tenían acceso a instalaciones sanitarias. ([OMS/UNICEF \(JMP/2006\)](#)).

Por niveles de acceso que tiene el agua en Nicaragua y su importancia en el desarrollo de la calidad de vida se realizó esta investigación. El propósito es determinar la calidad microbiológica del agua de consumo doméstico de 849 familias en el Departamento de Somoto en el área rural en la Subcuenca Bimunicipal de Aguas Calientes, en el periodo de Septiembre del 2008, hasta Abril del 2009 (invierno-verano). Para el 2005 Obando reporta que la calidad del agua en esta Subcuenca excedía el 50% de pozos contaminados.

Las condiciones biofísicas de la región en la Subcuenca Bimunicipal del río Aguas Calientes, presenta áreas de planicie, relieves accidentados, laderas escapadas. El sistema de drenaje de la Subcuenca está formado por cursos de aguas intermitentes de poco caudal llegando a la red hídrica principal del río Aguas Calientes. Esta Subcuenca se encuentra dividida en tres zonas, tomando en cuenta las altitudes (alta, media y baja). La zona alta comprendida (900- 1720 msnm; 17 %), la zona media (700 – 900 msnm; 57 %) y la zona baja (620 – 700 msnm; 26 %). (Domínguez, 2008).

Se analizaron ocho comunidades entre el municipio de Somoto (rodeo II, Quebrada de agua, Mansico, Uniles, St. Isabel y St. Rosa) y San Lucas (El Volcán y El Porcal), por las características físicas de los pozos (perforados o excavados) porque son pozos comunales. Se considero la infraestructura de los pozos en este estudio porque se determino si hay

diferencias estadísticas significativas con respecto a los Coliformes totales y fecales. En esta investigación se aplico los criterios considerados dentro de las normas CAPRE, 1983.

El casco urbano del municipio de Somoto posee una red de 2,296 servicios individuales de agua potable, los cuales son abastecidos de este vital líquido por medio de bombeo eléctrico. Generalmente en el área rural la población se abastece de agua, a través de pozos públicos artesanales y en menor cantidad de riachuelos y quebradas. Reportes en el Plan de Desarrollo Institucional de ENACAL 2008-2012 expresan que las todas las cabeceras departamentales y municipales de Nicaragua poseen sistemas de abastecimiento de agua, el 20% se benefician del servicio de alcantarillado sanitario. Otra forma de eliminación de excretas utilizado con frecuencia son las letrinas y sumideros.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar la Calidad Microbiológica del Agua de la Subcuenca del río Aguas Calientes en Somoto – Madriz, Nicaragua.

2.2 Objetivos específicos

- Analizar la Calidad Microbiológica del agua de los pozos de la Subcuenca Aguas Calientes.
- Describir la calidad de agua por comunidad, tipo de pozo de la Subcuenca Aguas Calientes en el período de Septiembre (2008) y Abril (2009).
- Comparar la calidad bacteriológica del agua de la Subcuenca Aguas Calientes Somoto-Madriz en época seca y lluviosa.
- Determinar la calidad de agua a través de un análisis complementario donde se identifiquen parámetros no establecidos por las Normas CAPRE.

MARCO TEÓRICO

3.1 Generalidades

Según Gray (1997) la mayor parte de nuestro Planeta está cubierto por el agua de los océanos, lagos, ríos y arroyos, además de las corrientes de agua subterránea. Sólo una pequeña parte, de esta agua es dulce (3%). El agua de los océanos, ríos y lagos contiene gran diversidad de vida tanto vegetal como animal. El problema es que los usamos como vertederos para nuestras basuras, alcantarillas o lugares donde se pueden tirar productos químicos venenosos procedentes de industrias. El agua subterránea aunque no se ve, es muy importante porque la usamos para cubrir nuestras necesidades, sobre todo, cuando hay sequía.

En la última década se ha incrementado la demanda de agua, debido a la calidad de vida, al desarrollo industrial y agrícola. Incremento de esta manera una notable modificación de las propiedades físicas, químicas y biológicas de agua.

Todas las fuentes de agua pueden disminuir su calidad por la influencia de dos tipos de contaminación las que se clasifican según su origen como:

- La contaminación producidas por causas naturales o geoquímicas es decir que dependen del material geológico a partir del cual se mueven las aguas subterráneas y que no está influenciada por el hombre.
- La contaminación Antropogénica es decir a la contaminación provocada por las actividades del hombre ya sean industriales, agrícolas y domiciliar.

Aunque históricamente se ha demostrado que las aguas subterráneas son relativamente seguras con una calidad aceptable para su uso y poca necesidad de un tratamiento, es importante el monitoreo de ella pues una vez contaminada su consumo puede ser de alto riesgo para la salud humana. (Gray, 1997).

En la actualidad el mejoramiento de la calidad de vida, incluye la vigilancia de la calidad sanitaria del agua, ya que está expuesta a contaminación microbiológica y como agente propagador de enfermedades de origen hídrico.

La experiencia ha demostrado asimismo que las medidas destinadas a mejorar el acceso al agua potable favorecen en gran medida a las zonas rurales como urbanas, y pueden ser un componente eficaz de las estrategias de mitigación de la pobreza y condiciones higiénicas sanitarias. (Rebollo y Loeches Garrido 2008).

3.1.1 Antecedentes

Con 131.812 km², Nicaragua es la república más extensa de las que se encuentran en el istmo centroamericano. Es, sin embargo, también uno de los países más pobres del continente. (OMS 2004). Nicaragua ha sido un país con una larga trayectoria agrícola y ganadera fundamentada en las excelentes características de los suelos, abundantes recursos hídricos superficiales y subterráneos para el riego; condiciones climáticas favorables, aunque afectadas en algunas zonas por sequías inter-estacionales y un potencial humano con alta tradición agropecuaria. (FOCUENCAS II 2004).

Nicaragua posee 17 departamentos de los cuales Madriz (al norte del país, en la región de la Segovia) es uno de los más pobres, donde la mayor parte de la pobreza se encuentra en el sector rural, donde habita el 40 y 45% de la población. El grado de pobreza de los hogares del departamento rurales alcanza valores 68,5% y el 80,2%.

Los efectos de la sequias en años anteriores, ha causado pérdidas económicas en las familias más pobres del sector rural, agravando su bienestar por las pérdidas agrícolas.

Pero los efectos no solamente afecta a los niveles de producción, sino también a la capacidad de abastecimiento de la población, ya que las fuentes de agua reducen sus caudales; esto obliga a las familias a recorrer mayores distancias y dedicar más tiempo para obtener agua, lo cual implica a la vez mayor riesgo de contaminación, por la manipulación durante el traslado y por lo tanto se incrementa las posibilidades de contraer enfermedades de origen hídrico. (Enfermedades Diarreicas Aguadas).

Las comunidades del departamento de Madriz se abastece exclusivamente de las aguas subterráneas, de cantidad y accesibilidad muy irregular en el tiempo de sequia y el deterioro de la cubierta vegetal de las subcuencas hidrográficas que nutren los acuíferos.

En esta situación, la falta de agua en cantidades adecuadas y de buena calidad, ayuda a incrementar los casos de desnutrición por las enfermedades que provoca consumir agua contaminada. En efecto, el acceso al agua y las enfermedades ligadas a su consumo participan en reforzar los efectos de un acceso deficiente a una dieta adecuada (debilitación del metabolismo, mayor riesgo de contraer enfermedades, menor aprovechamiento del alimento). (Benavides 2005).

La ausencia de hábitos higiénicos adecuados se debe básicamente a cuestiones culturales vinculadas a la tradición que, junto con la falta de acceso a los servicios de educación y la falta de infraestructura para el tratamiento de las excretas y al alto grado de pobreza de las familias campesinas, se convierte en un problema de gran magnitud que afecta negativamente a la salud y por ende al desarrollo de las comunidades. (Rebollo et al 2008).

Toda intervención destinada a mejorar el acceso a agua segura en las comunidades rurales, tiene que tener énfasis en tratar de obtener un cambio duradero de hábitos higiénico-sanitarios.

3.1.2 Importancia del agua

En las siguientes secciones Gibsón y Singer (1971) explican la importancia del agua, importancia del agua del subsuelo, ciclo hidrológico, la distribución del agua en el subsuelo, calidad del agua del subsuelo.

Sin duda el agua es, con la excepción del aire, la sustancia más importante para la supervivencia del hombre. Todas las formas de vida biológica existentes, dependen en extremo del agua, y puede sobrevivir mucho más tiempo sin alimentos que sin agua. Las cantidades de agua requeridas directamente para el funcionamiento adecuado de los procesos del cuerpo son relativamente pequeñas pero esenciales.

Si bien el hombre ha reconocido siempre la importancia del agua para las necesidades internas del cuerpo, el reconocimiento de esta importancia para la salud pública es un descubrimiento más reciente, que data de un siglo aproximadamente. Desde entonces, se ha aprendido mucho sobre el papel de los suministros de agua inadecuados y contaminados en la diseminación de las enfermedades transmitidas por el agua. Entre las primeras que se reconocen esta el cólera y la fiebre tifoidea. Más tarde, la disentería, la gastroenteritis y otras enfermedades diarreicas. Se ha demostrado que el agua desempeña un papel importante en la transmisión de ciertas enfermedades virales, tales como la hepatitis infecciosa.

El agua interviene en la diseminación de enfermedades transmisibles esencialmente en dos formas. Primero; Ingestión directa del agente infeccioso, al beber agua contaminada (ejemplo; disentería, tifoidea y otras enfermedades gastrointestinales). Segundo; Falta de agua para propósitos de higiene personal. Es necesario cantidades adecuadas de agua para la higiene personal y el saneamiento del ambiente.

Las cantidades adecuadas de agua para la higiene personal también disminuyen la probabilidad de transmitir algunas enfermedades gastrointestinales antes mencionadas.

La Organización Mundial de la Salud estima que cada año 500 millones de personas sufren de enfermedades contraídas a través de suministros de agua insalubre. Debido a gran parte a los suministros deficientes de agua, se estima que 5.000.000 de niños mueren cada año por causa de enfermedades diarreicas.

Además del consumo humano y los requerimientos de salud, el agua también es necesaria para la agricultura, la industria y otros propósitos. Aunque todas estas necesidades son importantes, el agua para el consumo e higiene es considerada como de mayor importancia social y económica, ya que la salud de la población influye en todas las actividades.

3.1.3 Importancia del agua del subsuelo

Más del 97 % del agua potable en nuestro planeta (excluyendo la de las capas de hielo polar y los glaciares) se encuentra bajo tierra. Si bien no es práctico extraer toda esa agua por razones económicas y de otro tipo, las cantidades recuperables excederían, sin duda, los depósitos existentes de agua potable de la superficie que se encuentra en ríos y lagos.

Las fuentes de agua del subsuelo, se encuentra en almacenamiento, mientras que el agua de los ríos y lagos se encuentra generalmente en circulación, siendo reemplazada varias veces al año. La cantidad disponible de agua de superficie en cualquier punto dado está también más sujeta a fluctuaciones periódicas que las del subsuelo. En muchas zonas, la extracción de agua del subsuelo puede prolongarse mucho tiempo después que las sequías han agotado completamente los ríos. Las fuentes de agua del subsuelo son más confiables en muchas circunstancias. Siendo está de mayor calidad que las aguas superficiales, debido a las ventajas de filtración a través del suelo.

Con mucha frecuencia, el agua del subsuelo es, también, más fácilmente accesible donde se necesita, requiriendo menos transporte y generalmente obteniéndose a un menor costo. En consecuencia debe hacerse notar la importancia de la captación y uso de fuentes de agua del subsuelo muy extenso localizado en todo el mundo.

3.1.4 Ciclo Hidrológico

Ciclo hidrológico es el nombre que se da a la circulación del agua en estado líquido, en forma de vapor, o sólido, desde los océanos al aire, del aire a la tierra, sobre la superficie de ésta o bajo el suelo, y de nuevo a los océanos.

3.1.5 Distribución del agua en el subsuelo

El agua en el subsuelo que se encuentra en los intersticios o poros de las rocas, esta se puede dividir en dos zonas principales: **zonas de aeración y la de saturación.**

La **zona de aeración:** es una mezcla de aire y agua que se encuentran en los poros en esta zona, y de aquí su nombre. Se puede dividir en tres capas (capa de agua de suelo, la capa intermedia y el borde capilar).

La **zona de saturación:** son poros que se encuentran completamente o saturados de agua. El agua de la zona de saturación se conoce como agua del subsuelo y es la única forma de agua del subsuelo que puede fluir fácilmente hacia un pozo.

3.1.6 Calidad de agua del subsuelo

Generalmente, las aberturas a través de las cuales fluye el agua en el suelo son muy pequeñas. Esto restringe considerablemente la velocidad del gasto y al mismo tiempo proporciona una acción filtrante de las partículas que se encuentran originalmente en suspensión en el agua. Estas propiedades, según se observa, afectan considerablemente las cualidades físicas, químicas y microbiológicas del agua del subsuelo.

3.1.6.1 Calidad Física

Físicamente, el agua del subsuelo es generalmente clara, incolora, con poca o ninguna sustancia en suspensión y tiene una temperatura relativamente constante. Esto se atribuye al proceso de percolación lenta a través del suelo. En excepción las aguas del subsuelo que están conectadas hidráulicamente con aguas superficiales cercanas a través de aberturas grandes tales como fisuras y canales de disolución, así como los intersticios de algunas gravas. Estas aberturas pueden permitir la entrada de materia en suspensión en la capa acuífera. En tales casos, también pueden ser notables los sabores y olores de la vegetación en descomposición.

3.1.6.2 Calidad Microbiológica

Las aguas del subsuelo están generalmente exentas de organismos muy pequeños (microbios) que causan enfermedades y que están normalmente presentes en las aguas superficiales. Esto resulta de la percolación lenta del agua en el suelo. En excepciones a esta regla son, como ya se menciona, ocasionado por las fisuras y canales de disolución encontrados en algunas rocas consolidadas y en capas acuíferas de arena y grava poco profundas de donde se extrae el agua a proximidad de las fuentes de contaminación tales

como retretes y fosas de excretas. La construcción inadecuada de un pozo también puede resultar en la contaminación de las aguas del subsuelo.

Mientras que Rebollo et al (2008) ven la migración de la polución bacteriológica desde un foco determinado (letrinas por ejemplo) viene marcada por la dirección de flujo en el gradiente del acuífero, la permeabilidad y el tipo de acuífero (fracturado, poroso). Es imprescindible conocer estos parámetros para evaluar el riesgo de contaminación de las fuentes de agua. Sin embargo, la propagación de la contaminación bacteriológica es un fenómeno muy difícil de medir directamente.

Para lo anterior mencionado la OMS considera las siguientes estimaciones en la migración de la contaminación bacteriológica del agua, para las siguientes zonas:

- **Zona no saturada:** en ausencia del flujo subterráneo, la migración de la contaminación es muy limitada, la OMS sugiere un máximo de profundidad de 3 metros, y una propagación lateral casi insignificante. Pero si se produce una infiltración de agua, la propagación será mucho mayor.
- **Zona saturada:** en formaciones continuas, para caudales de 1 a 3 metros por día la OMS sugiere una distancia máxima de propagación de 11 metros en el sentido del flujo del agua subterránea.
- **Zonas fracturadas o Kársticas:** la propagación es generalmente muy rápida y puede cubrir distancias considerables. Su dirección es difícil de predecir.

Aunque no es posible predecir el comportamiento hidrológico de las aguas subterráneas, será recomendable una distancia mínima de 23 a 30 metros entre las letrinas y las fuentes de agua. (Anexo 1).

3.1.6.3 Calidad Química

La calidad química del agua del subsuelo esta también considerablemente influenciada por su movimiento relativamente lento a través del suelo. El agua ha sido siempre uno de los mejores solventes conocidos por el hombre. Su grado relativamente lento de percolación a

través de la tierra proporciona tiempo más que suficiente para que muchos de los minerales que forman la corteza de la tierra se incorporen a la solución. Estos minerales tienen diferente grado de disolución en el agua, dependiendo de cierto número de condiciones que se pueden variar muy ampliamente en una región pequeña. Como resultado, puede haber variaciones apreciables en la calidad química del agua del suelo encontradas en regiones de extensión superficial relativamente limitada. (Gibson y Singer 1971).

3.1.7 Enfermedades microbianas transmitidas por el agua

Los microorganismos patógenos del hombre pueden ser transmitidos a través del agua de consumo (para beber o cocinar) no tratada apropiadamente. Otra fuente muy común de transmisión de enfermedades se produce a través del agua contaminada con patógenos, usada para bañarse o nadar.

Los microorganismos transmitidos por el agua (tabla 1) generalmente se multiplican en el intestino y se eliminan del cuerpo a través de las heces. Esto puede determinar la aparición de una contaminación fecal de las fuentes de suministro de agua, si la contaminación no es detectada mediante la prueba de los coliformes y eliminada por la desinfección, entonces un nuevo hospedador puede consumir el agua y el patógeno puede colonizar el intestino dando lugar a una enfermedad.

Tabla 1. Principales enfermedades transmitidas por el agua.

Enfermedades	Causa y vía de transmisión	Extensión geográfica	Números de casos ^a	Defunción por año
Disentería amebiana	Los protozoos pasan por la vía fecal-oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra.	Todo el mundo	500 millones por año	*
Disentería bacilar	Las bacterias pasan por la vía fecal-oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra.	Todo el mundo	*	*
Enfermedades diarreicas (inclusive disentería amebiana y bacilar)	Diversas bacterias, virus y protozoos pasan por la vía fecal-oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra.	Todo el mundo	4.000 millones actualmente	3-4 millones
Cólera	Las bacterias pasan por la vía fecal-oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra.	Sudamérica, África, Asia	384.000 por año	20.000
Hepatitis A	El Virus pasa por la vía fecal-oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra.	Todo el mundo	600.000 a 3 millones por año	2.400 a 12.000
Fiebre paratifoidea y tifoidea	Las bacterias pasan por la vía fecal-oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra.	80% en Asia, 20% en América Latina, África	16 millones actualmente	600.000
Poliomielitis	Los virus pasan por la vía fecal-oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra.	66% en la india, 34% en el Cercano Oriente, Asia, África	82.000 actualmente	9.000

^a El número de casos se presenta como incidencia ('por año') – el número de nuevos casos ocurridos en un año-- o como prevalencia ('actualmente')-el número de casos existentes en un momento dado.

* Incluidas las enfermedades diarreicas

**no hay defunciones, pero causa 270.000 casos notificados de ceguera anualmente

Tomado: Rebollo et al (2008).

En los siguientes apartados Madigan, Martinko y Porker (2004) describen las características de los Microorganismos indicadores de contaminación. Entre otros géneros de bacteria están: *Salmonella sp*, *Streptococcus sp*, Coliformes *faecalis* y totales, *Escherichia coli*, *Clostridium Sulfito reductores*. Pruebas de coliformes, Hongos, aerobios Mesofilos, Métodos de siembra

3.1.8 Microorganismos Indicadores de contaminación

Los organismos no patógenos que están siempre presentes en el intestino de los humanos y animales se excretan junto con los patógenos, pero en muchas mayores cantidades. Los organismos indicadores de contaminación deberían:

- ser fácilmente detectado e identificado,
- ser del mismo origen que los patógenos (por ej., del intestino),
- estar presentes en mucho mayor número que los patógenos,
- y ser no patógeno por sí mismo.

Algunos microorganismos son fácilmente aislables y son ideales para utilizarlos como indicadores de contaminación fecal. Los más utilizados son los Coliformes, *Streptococcus faecalis*, y los *Clostridium sulfito reductores*.

Los *Streptococcus faecalis* mueren rápidamente fuera del hospedador y su presencia es un indicador de una contaminación reciente. *Clostridium perfringens* pueden existir indefinidamente en el agua. Cuando *Escherichia coli* y los *Streptococcus faecalis* están ausentes, la presencia de *Clostridium perfringens* indica contaminación remota o intermitente.

Entre otros géneros de bacteria están: *Salmonella sp*, *Streptococcus sp*, Coliformes *faecalis* y totales, *Escherichia coli*.

3.1.8.1 Coliformes

La presencia de unos pocos microorganismos no patógenos en el agua puede ser tolerable, la presencia de organismos indicadores específicos puede indicar que esa agua puede estar contaminada con patógenos. Estos organismos indicadores están generalmente asociados con el tracto intestinal; su presencia indica contaminación fecal en la fuente de esa agua. Los microorganismos indicadores más ampliamente empleados como indicadores son los coliformes.

Los coliformes se usan como indicadores de contaminación en el agua porque se encuentran en gran número en el tracto intestinal de humanos y animales. Estos se definen en bacteriología del agua como bacterias en forma de varilla, no esporuladas, Gram negativas, aeróbicas o aeróbicas facultativas que fermentan la lactosa con producción de gas cuando se incuban a 35°C durante 48h. Esta clasificación es operacional y no tiene carácter taxonómico y por ello dentro los coliformes se incluyen una gran variedad de microorganismos, siendo la mayoría pertenecientes al grupo de las bacterias entéricas, Ejemplo; (*Escherichia coli*).

Por lo tanto la presencia de coliformes en una muestra de agua indica contaminación fecal y hace que dicha agua no sea apta para el consumo humano. Cuando los coliformes se encuentran en el agua, finalmente mueren rápidamente como otros microorganismos patógenos.

Genero Escherichia

Los miembros de este género son habitantes universales de todos los animales de sangre caliente, incluido el hombre. Son bacterias entéricas; Gram negativas, bacilos no esporulados, no móviles o si lo son es por flagelos de inserción peritricas, anaerobios facultativos, producen acido de la glucosa; el sodio ni es requerido para crecimiento ni lo estimula; catalasa positiva y oxidasa negativa y normalmente reducen nitrito a nitrato, con requerimientos nutricionales relativamente simples y fermentan azucares con diversos productos finales.

Estas bacterias entéricas se encuentran especies patógenas para el hombre, animales y plantas y también otras muy importantes desde el punto de vista industrial. Algunas cepas patógenas han sido implicadas en el desarrollo de cuadros diarreicos en niños; a veces con proporciones epidémicas, en guarderías infantiles y servicios ginecológicos y obstétricos. Sin lugar a dudas se sabe más de la Enterobacterias por excelencia *Escherichia coli* que de ninguna otra especie de bacteria.

➤ *Escherichia coli*

Se caracteriza por dar productos de la fermentación; bajo condiciones anaeróbicas obtienen la energía necesaria por fermentación y liberan a varios ácidos orgánicos al exterior. Entre ellos el ácido fórmico, que no es el mayoritario, pero sí el producto característico. Son habitantes del tracto intestinal ("enteron"). (Ingrahan John L., Ingrahan Catherine A. 1998).

Análisis de las aguas potable: El análisis de las aguas potables se centra esencialmente en la demostración de la presencia de *Escherichia coli*.

Según Hans G. Shlegel y Christiane Zaborosch (1997) *Escherichia coli* es un habitante totalmente inocuo del intestino humano; su presencia en las aguas potables no es peligrosa, aunque algunas cepas son enteropatógenas y determinan enfermedades de tipo diarreico. No obstante, en el intestino habitan una serie de causantes de enfermedades, que son eliminados con los excrementos de enfermos agudos, de convalecientes o de "portadores", de forma que llegan conjuntamente con *Escherichia coli* a las aguas potables. Para no tener que desarrollar métodos especiales para cada uno de los causantes de una enfermedad se utiliza como indicador la bacteria intestinal normal *Escherichia coli*. La demostración de la presencia de *Escherichia coli* en una muestra de agua indica la contaminación por contenido de bacterias intestinales entre las que pueden encontrarse organismos patógenos, por lo que hay que tomar precauciones. El número total de organismos en las aguas potables debe encontrarse por debajo de las cien células por mililitro. En 100 mililitros de agua potable no debe poder demostrarse la presencia de *Escherichia coli*.

Mientras que Willey, Sherwood y Woolverton (2007) explican que *Escherichia coli* crece bien sobre medios de cultivo que contengan glucosa, o lactosa y peptona. Para establecer ya

desde un principio condiciones selectivas para que puedan crecer pocas bacterias, se utiliza la lactosa. La utilización de lactosa supone la capacidad de escindir la lactosa mediante beta-galactosidasa; esta enzima puede sintetizar las bacterias coliformes y las bacterias lácticas, pero no otras muchas bacterias de los suelos y las aguas.

Indicación de que se tratan de bacterias formadoras de gas, se da en la producción durante la incubación de las muestras en un medio de cultivo que contiene lactosa y peptona en tubos de fermentación (tubos de Einhorn). Si se incuba uno de los frascos con *Escherichia coli*, y los otros con *Enterobacter aerogenes* pueden ya determinarse diferencias en la producción de gas al cabo de tan solo 24 horas de incubación a 37°C. *Enterobacter aerogenes* hace honor a su nombre y produce aproximadamente doble cantidad de gas que *Escherichia coli*. Este último forma hidrógeno y anhídrido carbónico aproximadamente en la relación 1:1; *Enterobacter aerogenes* forma más anhídrido carbónico que hidrógeno.

Como algunas bacterias del ácido láctico son capaces de desdoblar la lactosa formando gas, por lo que podrían falsear los resultados, son necesarios otros procedimientos para la diferenciación. Si se siembran en placa organismos de un cultivo de este tipo sobre agar-eosina-azul de metileno (lactosa-peptona-eosina-azul de metileno) las colonias de *Escherichia coli* se diferencian porque sus colonias son de tonalidad negra con un brillo metálico acentuado por la reflexión de la luz; *Enterobacter* forma únicamente colonias rosa limosas y sin el brillo metálico. (Hans et al 1997).

Para una diferenciación aun más exacta de las dos especies podría desarrollarse un análisis completo de la fermentación; esta sería sin ninguna duda la vía más exacta, pero también la más complicada. Para esta diferenciación total se ha acostumbrado a seguir un método rutinario. Las dos especies se diferencian entre sí cualitativamente por: Formación de Indol, Rojo de Metilo, Formación de Acetoina y Utilización de Nitratos.

Estas reacciones Hans et al (1997) las denominadas con fines más técnicos como "IMVIC", se representan en (anexo 2, tabla 2).

3.1.9 Detención de los coliformes

Para esto Madigan et al (2004) emplean procedimientos generalmente para detectar la presencia de coliformes en el agua. Estos son: el método de número más probable (MPN) y el método de la filtración en membrana (MF).

El método número más probable, emplea medio de cultivo líquido en tubos de ensayo. Las muestras de agua se añaden a los tubos con el medio de cultivo. La aparición de crecimiento microbiano en los tubos indica contaminación en el agua que se añadió.

Para el método filtración en membrana, más empleado, al menos 100 ml de la muestra de agua se pasan a través de una membrana estéril la cual retiene las bacterias. La membrana se coloca sobre la superficie de una placa de un medio de cultivo azul de metileno-eosina (EMB) que es muy selectivo para el crecimiento de coliformes. Se cuenta las colonias y, a partir de ese valor, se puede calcular el número de bacterias coliformes presentes en esa agua.

Genero *Salmonella sp.*

Generalmente los integrantes de este género son patógenos, bien para humanos o para otros animales de sangre caliente. En humanos, la enfermedad más común son las fiebres tifoideas y la gastroenteritis. Las salmonellas se caracterizan inmunológicamente sobre la base de tres antígenos superficiales, el antígeno O de la pared celular (somático); el H, o flagelar y el Vi (capa externa polisacárida) que se encuentra en las cepas causantes de las fiebres tifoideas. (Madigan et al 2004).

Las *Salmonella sp.* al igual que *Escherichia coli* se encuentran dentro del grupo de las Enterobacteriaceas. Como características de la familia pueden considerarse: bacilos Gram negativos móviles por flagelos de inserción períttrica, no formadores de esporas. Son aeróbicos facultativos, disponen de hemina (citocromo y catalasa) y pueden regenerar energía tanto por respiración (aeróbicos) como por fermentación (anaeróbicos). Con respecto a su alimentación podemos decir que son siempre muy poco exigentes; crecen sobre medios de cultivo sintéticos sencillos que contienen sales minerales, hidratos de carbono y sales de amonio. La fermentación de la glucosa se desarrolla en todos los

pertenecientes a este grupo con formación de ácidos. La importancia de las Enterobacteriaceas para la higiene y para la investigación experimental. (Hans et al 1997).

Streptococcus Sp.

El género *Streptococcus* contiene una amplia variedad de especies homofermentativas con hábitat muy diversos y con actividades de mucha importancia para el ser humano. Algunas especies son patógenas primarias de mamíferos. Como productoras de ácido láctico juegan un papel importante en la producción de leches fermentadas, además, ciertas especies están implicadas en el desarrollo de la caries dental. (Madigan et al 2004).

Para distinguir especies patogénicas y no patogénicas del ser humano, se ha reestructurado el género en tres; *Streptococcus*, *Lactococcus* (estreptococos de importancia en la industria lechera) y *Enterococcus* (estreptococos de origen fecal). (Willey et al 2007).

Enterococcus faecalis

Los *Enterococcus* son [cocos Gram-positivos](#) que se presentan apareados como [diplococos](#); siendo difícil distinguirlos de [Streptococcus](#) con solo las características físicas. Dos especies son organismos [comensales](#) en el intestino de humanos: [Enterococcus faecalis](#) y [Enterococcus faecium](#). Los *Enterococcus* son un [organismo facultativo anaeróbico](#), prefieren usar [oxígeno](#), pero sobreviven bien en su ausencia.

Los *Streptococcus faecalis* (o estreptococos del grupo “D” de Lancefield) son bacterias integrantes de la flora normal de los animales homeotérmicos. El género *Streptococcus* reúne apenas dos especies ya existentes en la antigua clasificación: [Streptococcus bovis](#) y [Streptococcus equinu](#), que son más abundantes en heces animales.

Los *Enterococcus faecalis* son el indicador bacteriológico más eficiente para evaluar la calidad de agua ya que representan, contaminación fecal reciente. Y está relacionado directamente con enfermedades como gastroenteritis, enfermedades respiratorias, conjuntivitis y dermatitis, entre otras. (Ingraham et al 1998).

Clostridium Sulfito reductores

Este grupo para Madigan et al. (2004) son bacterias Gram positivas formadoras de endoesporas, que se distinguen sobre la base de la morfología celular, forma y disposición de la espora, relación con el oxígeno y metabolismo energético. Los géneros más estudiados son: *Bacillus*, que agrupa especies aeróbicas facultativas y *Clostridium* que agrupa las especies anaerobias y fermentadoras. Un grupo de endosporoformadores (las heliobacterias) son fototróficas (del griego helios, sol).

Aunque existe considerable heterogeneidad entre los endosporoformadores, existe un principio ecológico unificante, ya que el hábitat primario de todos ellos es el suelo. Donde ellos pueden permanecer durante mucho tiempo, incluso millones de años, hasta que las condiciones sean favorables y puedan germinar de nuevo.

Los formadores de esporas pueden aislarse fácilmente del suelo, alimentos, polvo y otros materiales tratando las muestras a 80°C durante 10 minutos (pasteurización). A esta temperatura solo sobreviven las esporas bacterianas. Inoculando ahora un medio apropiado e incubando aeróbica o anaeróticamente, da lugar a colonias de los géneros *Bacillus* o *Clostridium*.

Algunos *Clostridium* producen serias enfermedades en humanos. El botulismo es producido por el [*Clostridium botulinum*](#), el tétanos por [*Clostridium tetani*](#) y la gangrena gaseosa por [*Clostridium perfringens*](#) y especies relacionadas. Estas especies patógenas no son muy diferentes, metabólicamente hablando, del resto, pero son capaces de producir toxinas muy potentes. [*Clostridium perfringens*](#) y relacionados pueden dar lugar a gastroenteritis en humanos y animales y el botulismo puede darse también en patos, ovejas y otros animales domésticos. (Willey et al 2007).

➤ [***Clostridium perfringens***](#)

Clostridium perfringens es una bacteria alargada, anaeróbica, Gram positiva, formadora de esporas, que se encuentra comúnmente en el suelo. También viven en bajo número en el tracto intestinal de muchos animales y, por tanto, se encuentra en las aguas residuales.

Este microorganismo es el tercer indicador de [contaminación fecal](#) de las aguas. Se destruye con temperaturas superiores a 121°C.

La enfermedad se produce como consecuencia de la ingesta de una dosis elevada de *Clostridium perfringens* (>10 células) en alimentos cocinados y sin cocinar, especialmente carnes, aves y pescado. Las esporas de *Clostridium perfringens* germinan en condiciones anaeróbicas, tales como de envases cerrados, y crecen rápidamente en carnes. No obstante la toxina no está aun presente.

Después del consumo de los alimentos contaminados la células vivas de *Clostridium perfringens* esporulan dentro del intestino, determinando la producción de la enterotoxina. La enterotoxina altera la permeabilidad del epitelio intestinal produciendo diarrea y calambres, habitualmente sin fiebre ni vómitos. La aparición de los síntomas por intoxicación alimentaria por *Clostridium perfringens* aparecen entre 7 y 15 horas después de la ingesta del alimento contaminado y habitualmente se resuelve en 24h; los casos fatales son raros. (Ingrahan et al 1998).

Pseudomonas Sp.

Son bacilos rectos o curvados pero no vibrioides; tamaño 0,5-1,0 µm por 1,5-4,0 µm; sin esporas; Gram negativas; flagelos polares, normalmente aislados; no envainadas apendiculares o con yemas; metabolismo respiratorio, nunca fermentativo, aunque pueden producir ligeras cantidades de ácido a partir de la glucosa en aerobiosis; utilizan compuestos orgánicos de bajo peso molecular pero no polímeros; algunos son quimiolitotrofos, utilizando H² o CO como único donador de electrones; algunos pueden utilizar nitrato como aceptor de electrones en anaerobiosis; algunos puede usar arginina anaeróbicamente. (Madigan et al 2004).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas fluorescens, está frecuentemente asociada a infecciones de los tractos respiratorio y urinario en humanos. Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* son frecuentes en quemados u otros traumatismos severos que afecten a amplias zonas de la piel

o bien en pacientes con fibrosis quísticas. Sin embargo, no es un parásito estricto, sino un oportunista típico, iniciando una infección cuando el individuo se encuentra bajo en defensas. También puede causar infecciones sistemáticas, de nuevo en individuos con amplias lesiones de piel. Este microorganismo es naturalmente resistente a muchos de los antibióticos utilizados rutinariamente de modo que la quimioterapia es difícil. Se encuentra a menudo en los niños menores a 1 año. (Willey et al 2007).

3.1.10 Hongos

Madigan et al (2004) definen a los hongos que contienen pared celular y esporas de diversos tipos y forman un grupo coherente filogenéticamente hablando. Se reconocen tres grupos: mohos u hongos filamentosos, las levaduras y las setas.

Los hábitat de los hongos son bastantes diversos. Algunos son acuáticos, principalmente de agua dulce, aunque estén también algunos de medios marinos. La mayoría de ellos son de medios terrestres, crecen en suelos o sobre materia orgánica en descomposición y contribuyen notablemente a la mineralización del carbono orgánico. Un gran número de hongos es parásito de plantas terrestres, y otros son parásitos de animales, incluido el hombre.

Los hongos son típicamente quimioorganotrofos y tienen pocos requerimientos nutricionales. Muchas especies pueden crecer en ambientes extremos con bajos pH o altas temperaturas de hasta 62°C y esto, junto con la ubicuidad de las esporas fúngicas, hacen que sean los contaminantes más frecuentes de alimentos, medios de cultivo microbianos etc. Sin embargo, los mohos y levaduras no son clasificados sobre bases fisiológicas, sino por sus diferentes ciclos celulares que incluyen la formación de esporas.

- **Mohos (hongos filamentosos):** Están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se ven frecuentemente sobre pan viejo, queso y frutas. Cada filamento crece fundamentalmente en el extremo por un mecanismo de extensión celular. Cada filamento se denomina hifa. Las hifas crecen en masa en lo que se denomina micelio, que puede verse fácilmente sin ayuda del microscopio.

Una actividad muy significativa de los hongos es la descomposición de la madera, papel, tela y otros productos derivados de fuentes naturales, utilizando estos productos como fuentes de carbono y energía. (Madigan et al 2004).

- **Levaduras (hongos unicelulares):** La mayoría pertenecientes a los Ascomicetos. Normalmente son ovales, esféricas o casi cilíndricas y la división es, casi siempre, asimétrica o por gemación. Aunque la mayoría de las levaduras se reproducen como células aisladas, bajo ciertas condiciones pueden filamentarse. Las levaduras prosperan típicamente en hábitat con azúcares, tales como frutos, flores y cortezas de los árboles. Un buen número vive simbiote con animales, especialmente insectos y algunas son patógenas para animales incluidos el hombre.

3.1.11 Aerobios Mesofilos

Son microorganismos que obtienen su energía en presencia de oxígeno (a través de la respiración) y algunos requieren oxígeno para el crecimiento. Los aerobios son especies capaces de crecer a tensiones de oxígeno normales (el 21% del aire es de oxígeno) y muchos pueden tolerar concentraciones más elevadas de oxígeno (oxígeno hiperbárico). (Ingraham et al 1998).

3.2 Métodos de siembra

Para el recuento en placa o recuento de colonias viables, Madigan et al (2004) proponen dos maneras de realizar un recuento en placa (anexo 3).

3.2.1 Método de extensión en placa: donde un cierto volumen de cultivo diluido, que no suele ser superior a 0,1 ml, se extiende sobre la superficie de una placa con medio sólido utilizando un asa estéril de extensión. La placa se incuba después hasta que aparecen las colonias y se cuenta su número. Es importante que la superficie del medio esté seca de modo que el líquido de la muestra se absorba. No se suelen usar volúmenes mayores de 0,1 ml porque el exceso de líquido no se absorbe, y origina problemas en el recuento al favorecer la extensión y mezcla de colonias.

3.2.2 Método del vertido en placa: se pipetea un volumen conocido (normalmente 0,1-1,0 ml) de cultivo en una placa Petri estéril sobre la que se añade el medio con agar fundido y se mezcla todo bien con suaves movimientos de la placa sobre la superficie de la mesa antes de dejar solidifique. Como la muestra se mezcla con el medio fundido, se pueden usar volúmenes de inóculo mayores que en el método de recuento por extensión; sin embargo, con este método el organismo que se cuenta debe ser capaz de resistir la temperatura del agar fundido a 45°C.

Además de los métodos ya antes mencionados: Método del número más probable (Coliformes) y el de filtración en membrana (Coliformes y *Salmonella sp.*).

3.3 Normas de calidad de agua para consumo humano (CAPRE, 1993)

CAPRE: Comité Coordinador Regional de Instituciones de Agua Potable y Saneamiento de Centroamérica, Panamá y República Dominicana.

El Comité Coordinador Regional de Instituciones de Agua Potable y Saneamiento de Centroamérica, Panamá y República Dominicana, en adelante “CAPRE”, Organismo Técnico Regional con sede permanente en San José, Costa Rica, conforme con sus estatutos 14. “Dictar Normas Regionales Técnicas de Estandarización de equipos, repuestos y materiales, para facilitar el intercambio entre los miembros afiliados” y 15. “Dictar Normas Técnicas de Control de Calidad de Productos en materia de agua potable y saneamiento entre los países miembros y afiliados”; establece la Norma Regional de Calidad del Agua para Consumo Humano.

Artículo 1: Los países adscritos a estas Normas son los miembros de CAPRE, a saber: Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá y República Dominicana.

Artículo 2: Para efecto de la aplicación de esta normativa se establecen como niveles de Administración, Control y Ejecución las Instituciones miembros de CAPRE.

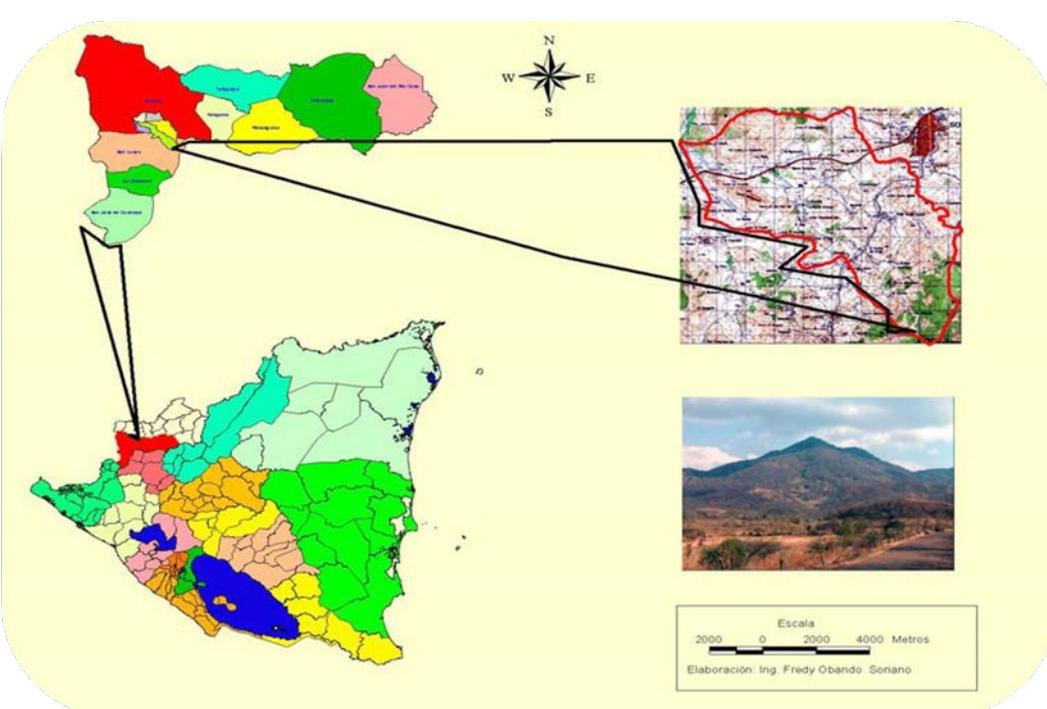
Artículo 3: El objetivo de esta Norma de Calidad del Agua de Consumo Humano es proteger la salud pública y por consiguiente, ajustar, eliminar o reducir al mínimo aquellos componentes o características del agua que pueden representar un riesgo para la salud de la comunidad e inconvenientes para la preservación de los sistemas de abastecimiento del agua.

CAPRE representa las normas aprobadas por la OPS/OMS para la región centroamericana y expresan los valores que deben tener los Coliformes fecales y totales para todo tipo de agua de bebida.

En los análisis de calidad de agua los valores aceptados para parámetros microbiológicos están en dependencia de las normas utilizadas por instituciones que protegen la salud. En el caso de Nicaragua estos análisis se rigen por las normas CAPRE aplicadas a nivel Centroamericano.

CAPRE (1993) establece lo siguiente:

- **Valor recomendable:** Corresponde a la concentración de sustancia o densidad de bacterias donde no hay riesgos sobre la salud de los consumidores.
- **Valor máximo admisible:** Corresponde a la concentración de sustancia o densidad de bacterias a partir de la cual provoca rechazo por parte de los consumidores o donde existe un riesgo para la salud. La superación de estos valores implica la toma de acciones correctivas inmediatas.



MATERIALE S Y MÉTODOS

4.1 Localización área de estudio

El estudio se realizo en la subcuenca intermunicipal del río

Coco Somoto, cuyo nombre genérico es subcuenca del río aguas calientes se encuentra localizada geográficamente entre las coordenadas 13°24'10" y 13° 29'28" de Latitud Norte y 86°34'12" y 86° 39'39" de longitud Oeste. En el departamento de Madriz, municipio de Somoto, limita al Norte con un sector del río Coco, parte del municipio de Somoto; al Sur con el resto del municipio de San Lucas, al este con la subcuenca del río Somoto y ciudad de Somoto y al Oeste con la subcuenca del río Inalí.



Fig. 1. Zona de actuación: Subcuenca de Aguas Calientes.

Tomado: Obando (2005).

Posee un área de 47.36 km², el 84.53% corresponde al municipio de Somoto (40.04 km²) y el 15.47% al municipio de San Lucas (7.32 km²). La fisiografía está dominada por lomerías con algunas planicies ubicadas en la depresión montañosa de Somoto. El relieve es accidentado con altitudes que varían de 620 hasta los 1700 m.s.n.m.

El estudio se realizó en un periodo de 8 meses. Donde se estudió la calidad bacteriológica del agua de los pozos, entre los meses de Septiembre del 2008 a Abril del 2009, realizando un estudio comparativo entre la estación lluviosa y la estación seca. Para ver en qué época hay más enfermedades de origen hídrico y microorganismo relacionados con el agua y su calidad según parámetros bacteriológicos (anexo 4).

4.2 Selección y recolección de las muestras.

Para la selección y recolección de las muestras se procedió de la siguiente manera:

Se realizó visitas previas (marzo 2008) de reconocimiento, obteniendo información sobre las fuentes de agua y la zona en estudio. Las fuentes de agua seleccionadas en este estudio fueron 35, debido a que tienen mayor demanda en uso entre los pobladores de las comunidades de la Subcuenca Bimunicipal. Dichas comunidades son: Volcán, Porcal, Rodeo II, Quebrada de agua, Mansico, Uniles, St. Isabel y St. Rosa.

Se realizó encuesta (anexo 5) entre los pobladores sujetos de este estudio, con el propósito de conocer las condiciones de los pozos y el número de familias que se abastecen de cada una de las fuentes de agua seleccionadas para este estudio.



Fig. 2 Colecta de las muestras.

La colecta de las muestras microbiológicas (Fig.1) se realizó, utilizando botellas y frascos de vidrio con capacidad de 500 ml previamente esterilizados, en autoclave a 1 atmósfera de presión (121°C), durante 15 mts. Se llenaron 375 ml. de la botella con la muestra, dejando $\frac{1}{4}$ de espacio libre para facilitar el mezclado de la muestra a la hora de realizar el análisis y el contacto

de la muestra con el oxígeno, una vez recolectada las diferentes muestras de agua eran colocadas en un termo con hielo a 4°C con el objetivo de brindarle las condiciones óptimas de temperatura para mantener vivos los microorganismos durante su traslado hacia el laboratorio de microbiología de la UNAN-León y donde se realizaron los análisis microbiológicos correspondientes para determinar la calidad bacteriológica de la misma.

4.3 Análisis microbiológicos realizados.

De acuerdo a los establecidos por las Comité Coordinador Instituciones de Agua Saneamiento de Panamá y República (CAPRE, 1993), para la por las que se rige Nicaragua, cada muestra



Parámetros Normas del Regional de las Potable y Centroamérica, Dominicana calidad del agua

Fig.3 Análisis Microbiológico: mínimo y completo.

fue sometida a un Análisis mínimo (Fig. 2) realizado cada mes durante un periodo de 8 meses, para la búsqueda de Coliformes Totales y Coliformes Fecales; principales indicadores de contaminación establecidos por CAPRE, en cuanto a la calidad del agua de consumo humano.

Los Coliformes, a pesar de ser buenos indicadores de contaminación no son las únicas bacterias patógenas para la salud humana. Estas algunas veces pueden ser enmascarados por otros microorganismos patógenos ejemplo: *Pseudomona aeruginosa*; encontradas en el agua que normalmente es consumida en las comunidades que cuentan con precarios sistemas de suministro de agua y métodos inadecuados de potabilización.

Los microorganismos indicadores de contaminación son los que se encuentran presentes en el agua y son fáciles de identificar por técnicas convencionales de laboratorio, estas técnicas son:

- Técnica del Numero Más Probable (NMP): Coliformes totales y Coliformes fecales.

- Siembra en masa: *Clostridium sp*,
- Siembra en superficie: *Enterococos faecalis* del grupo Lancefield
- Técnica de filtración con filtros de membrana: *Pseudomona sp* y *Salmonella sp*.

Los valores obtenidos se compararon con los máximos permisibles según las normas CAPRE y según los estándares utilizados en el laboratorio.

Una vez obtenidos los valores de los parámetros de calidad se clasificó el agua como: apta o no apta, de acuerdo a los valores permisibles de las normas CAPRE.

4.3.1 Análisis mínimo

Se realizó mensualmente, identificando Coliformes totales y Coliformes fecales. Con la técnica del Número más Probable (NMP); donde 3 tubos de ensayo conteniendo 10 ml. de caldo de doble concentrado Mc. Conkey se le agrega 10 ml. de agua problema y a 3 tubos de ensayo conteniendo 9 ml. de caldo Mc. Conkey se le agrega 1 ml. de agua problema. Y a 3 tubos de ensayo conteniendo 9.9 ml de caldo Mc. Conkey se le agrega 0.1 ml. de agua problema. Luego se agita cada tubo con un vórtex para homogenizar la muestra con el medio. Se incubo a 37° C para detectar Coliformes Totales (CT) y a 44° C para detectar Coliformes Fecales (CF), por un periodo de 24 horas. Todos los tubos contenían en su interior un tubo de vidrio en forma invertida (campanita de Durham), con el objetivo de recolectar gas, producto de la fermentación. Luego del tiempo de incubación se procede a dar lectura a los tubos y comparar los resultados con la tabla 3 de NMP (anexo 6), la cual se basa en formulas de probabilidades para obtener una estimación del número aproximado de las bacterias coliformes por 100 ml. de agua, así como también límites superiores e inferiores del número más probable.

4.3.2 Análisis complementario

Análisis completo: se realizó una vez en todo el estudio en el mes de Octubre del 2009, determinando la presencia de: Coliformes totales, Coliformes fecales, *Salmonella sp.*, *Pseudomona sp.*, *Clostridium* sulfito reductores, *Enterococos faecales*, *Escherichia coli*, recuento total de microorganismos aerobios a 37° C, mohos y levaduras.

4.3.3 Recuento de esporas *Clostridium sulfito reductores*

En un tubo estéril se depositaron 10 ml de agua problema, y se calentó hasta 80°C por 30 minutos (baño María) para destruir las formas vegetativas existentes en la muestra. Se depositaron 10 ml de la muestra de agua en un tubo que contenía 10 ml de medio SPS doble concentrado (Agar Sulfito-Polimixina Sulfadiaxina), posteriormente se homogenizó el medio junto con la muestra, se dejó solidificar, se cubrió con vaselina estéril, e incubó a 28° C por 4 a 5 días. (ADSA-MIGROIOLOGIA, 1981).

4.3.4 Estreptococos del grupo D de Lancefield

En dos tubos de ensayo conteniendo cada uno 5 ml de caldo KAA (Kanamicina, Aesculina Ácida), se le agregó 5 ml de agua problema y se agitó suavemente. Luego se incubó a 37° C por 24 horas. Del tubo donde se observó crecimiento se pasan 2 ó 3 asas por agotamiento a una placa Agar KAAA (Kanamicina, Aesculina Ácida Agar) y se incubó a 37° C por 24 horas. De una colonia típica de *Streptococos*, se realizó una siembra por agotamiento en una placa de Plate Count Agar (PCA), se incubó a 37° C por 24 horas, luego se realizó la tinción de Gram y prueba de Catalasa.

4.3.5 Detección de *Escherichia Coli*.

Se siembra alícuotas de todos los tubos positivos obtenidos en la detección de coliformes totales en tubos de Mc. Conkey con campana de Durham. Se incubó a 44° C por 24 horas. Luego se pinchó una colonia verde metálica presuntiva de *E. coli* y se sembró por agotamiento a una placa de Plate Count Agar (PCA). Las colonias de *E. coli* presentan un centro azul-negro con brillo verde metálico cuando se observa con la luz reflejada. A veces no se manifiesta.

4.3.6 Detección de *Salmonella sp.*

En un Erlenmeyer se filtró al vacío 100 ml de la muestra, a través de un filtro de membrana estéril (0.45µm), utilizando para ello la unidad de filtración esterilizada. Se extrajo la membrana filtrante con una pinza estéril y se depositó en un Erlenmeyer que contenía 100 ml de caldo enriquecimiento selenito (medio específico para el crecimiento de *Salmonella*) y se pasó a incubar a 37° C por 24 horas. Si hay crecimiento bacteriano se siembra por

agotamiento (reproducción de bacterias) de 2 a 3 asas en una placa con medio selectivo de HECKTOEN. Se incuba a 37° C por 24 horas. Si hubo crecimiento se selecciona una colonia típica y se siembra por agotamiento en una placa petri de Plate Count Agar PCA. Luego se incuba a 37° C por 24 horas y se realiza la prueba de Catalasa y Oxidasa, y se pasa a realizar, pruebas bioquímicas para confirmar las especies.

- IMVIC (Indol, Rojo de Metilo Voges Proskaver, Citrato de Simons)
- KIA (Agar Iron Kliger)
- REDUCCION DE NITRATOS
- UREA

4.4 Otros indicadores de contaminación de agua

El laboratorio de Microbiología de agua de la UNAN–León en su línea de investigación para determinar la calidad del agua, utiliza otros parámetros que no están establecidos dentro de las normas CAPRE, pero son importantes de conocer cuando se requiere consumir agua segura. Los indicadores que se analizaron en este estudio fueron: *Enterococos*, *Clostridium*, *E. coli* y *Pseudomonas*.

4.5 Pruebas Bioquímicas

Las pruebas bioquímicas consisten en distintos test químicos aplicados a medios biológicos, los cuales, conocida su reacción, nos permiten identificar distintos microorganismos presentes.

Su sistema de funcionamiento generalmente consiste en determinar la actividad de una vía metabólica a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer incorpora o no.

Para realizar las pruebas bioquímicas se dispone de múltiples medios, los cuales se deben aplicar de acuerdo a las exigencias del microorganismo en estudio.

De la amplia variedad de pruebas bioquímicas, el laboratorio de Microbiología de la UNAN-León, utiliza las siguientes pruebas para la identificación de especies de microorganismos presentes en el agua.

4.5.1 Pruebas IMVIC (Indol, Rojo de Metilo, Voges Proskauer, Citrato de Simons).

Prueba de Indol: De la placa con Plate Count Agar (PCA), se toma una muestra con el asa de siembra y se inocula un tubo de ensayo que contiene 5 ml de agua peptonada. Luego se procede a incubar a 37° C por 24 horas. Si existe crecimiento se agregan 4 gotas del reactivo de Kovacs.

Prueba de rojo de Metilo: De la placa con Plate Count Agar (PCA), se inocula con el asa de siembra en un tubo de ensayo que contiene 5 ml de rojo de metilo. Se incuba a 37° C por 24 horas. Si hubo crecimiento se agregan 4 gotas de rojo de metilo y se agita suavemente.

Prueba de Voges Proskauer: De la placa con Plate Count Agar (PCA), se inocula con el asa de siembra en un tubo de ensayo que contiene 5 ml de rojo de metilo. Se incuba a 37° C por 24 horas si hubo crecimiento se agrega 0.6 ml (4 gotas) de Alfa-Naftol, (4 gotas) de KOH al 40%, se agita y se deja reposar por 10 minutos.

Citarato de Simmons: De la placa con Plate Count Agar (PCA), se inocula con el asa de siembra en un tubo de ensayo que contiene 5 ml de Agar de Citrato de Simmons, se incuba a 37° C por 24 horas y se procede a leer.

4.5.2 Prueba de KIA (*Agar Iron Kliger*): De la placa con Plate Count Agar (PCA), se inocula con el asa de siembra en un tubo de ensayo que contiene 5 ml de Kia, se siembra en el fondo y en la superficie y se incuba a 37° C por 24 horas.

4.5.3 Reducción de Nitratos: De la placa con Plate Count Agar (PCA), se inocula con el asa de siembra en un tubo de ensayo que contiene 5 ml de Caldo Nitratado, se incuba a 37°

C por 24 horas, si hubo crecimiento, se agregan de 2 a 4 gotas del reactivo I y II de Nitrato, se agita suavemente, se deja reposar y se procede a leer.

4.5.4 Prueba de la UREASA: De la placa con Plate Count Agar (PCA), se inocula con la asa de siembra en un tubo de ensayo que contiene 5 ml de Agar Urea, se incuba a 37° C por 24 horas, se procede a leer.

Pruebas complementarias para la identificación de Microorganismos.

El laboratorio de Microbiología de la UNAN-León utiliza las siguientes pruebas en la identificación de especies de microorganismos en el agua:

4.6.1 Tinción de Gram

La tinción de Gram o coloración de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas. La técnica de tinción es la siguiente: Se añade al frotis (muestra montada en portaobjeto) de la muestra dos gotas de cristal violeta por 2 minutos, luego se lava con agua destilada, se añade dos gotas de lugol por 1 minuto. Lavar con Alcohol (etanol al 95% o alcohol acetona). Después se agrega cinco gotas de safranina por 1 minuto, se lava, se deja secar y se observa al microscopio. En esta prueba la muestra puede teñirse en rosado teniendo así bacterias Gram-, mientras que las bacterias Gram+ obtienen un color violeta más intenso.

4.6.2 Tinción de esporas

Se emplearán cultivos en fase estacionaria para dar lugar a que las bacterias produzcan las esporas. Esta tinción es delicada en su realización y para poder obtener unos resultados satisfactorios hay que seguir cuidadosamente las instrucciones.

1. Preparar el frotis bacterianos indicados.
2. Teñir con verde malaquita. Con unas pinzas de madera colocar la muestra encima de la llama del mechero de forma que el colorante humee durante 5 min.
3. Lavar con abundante agua el exceso de colorante.
4. Teñir con safranina 1 min.
5. Lavar con abundante agua el exceso de colorante.
6. Secar la preparación.

7. Observar la preparación al microscopio. Anotar la disposición y la morfología del genero *Bacillus*.

Nota: evitar que la muestra hierva. Añadir más colorante si este se evapora; es importante que la muestra no se seque.

4.6.3 Prueba de oxidasa

Está basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa. Esta reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromoxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular el que a su vez actúa como aceptor de electrones en la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones.

Todas las bacterias aeróbicas obtienen su energía por la respiración, proceso responsable de la oxidación de diversos sustratos. El oxígeno molecular oxida un sustrato con la intervención del sistema de transporte de electrones. El oxígeno es el aceptor del hidrógeno final, produciendo a partir del hidrógeno o peróxido de hidrógeno, según la especie bacteriana y su sistema enzimático.

El aspecto final de esta prueba es el color morado, obteniéndose esta reacción positiva cuando se pone en contacto una colonia con la reactiva oxidasa.

4.6.4 Prueba de la Catalasa

La determinación de la actividad catalítica debido a la presencia de catalasa, se determina sumergiendo la punta de un asa una pequeña cantidad de cultivo bacteriano de 24-48 horas de edad en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3%. La liberación de O_2 indica la presencia de catalasa.

La prueba de catalasa es positiva cuando al poner en contacto una colonia con el Peróxido de hidrógeno al 3% esta provoca la liberación de oxígeno lo que hace que la prueba sea positiva.

4.7 Análisis de los datos

De acuerdo a los antecedentes de las investigaciones realizadas por Acuña del Pino (1997) y Daren Mora (2001) para el análisis estadístico en la calidad de agua para consumo humano. Se describió el movimiento del NMP de coliformes totales y fecales por 100 ml de agua. En el análisis estadístico se aplicaron las pruebas de Correlación para determinar el grado de contaminación de coliformes fecales y totales con respecto al tipo de pozo utilizado por localidad.

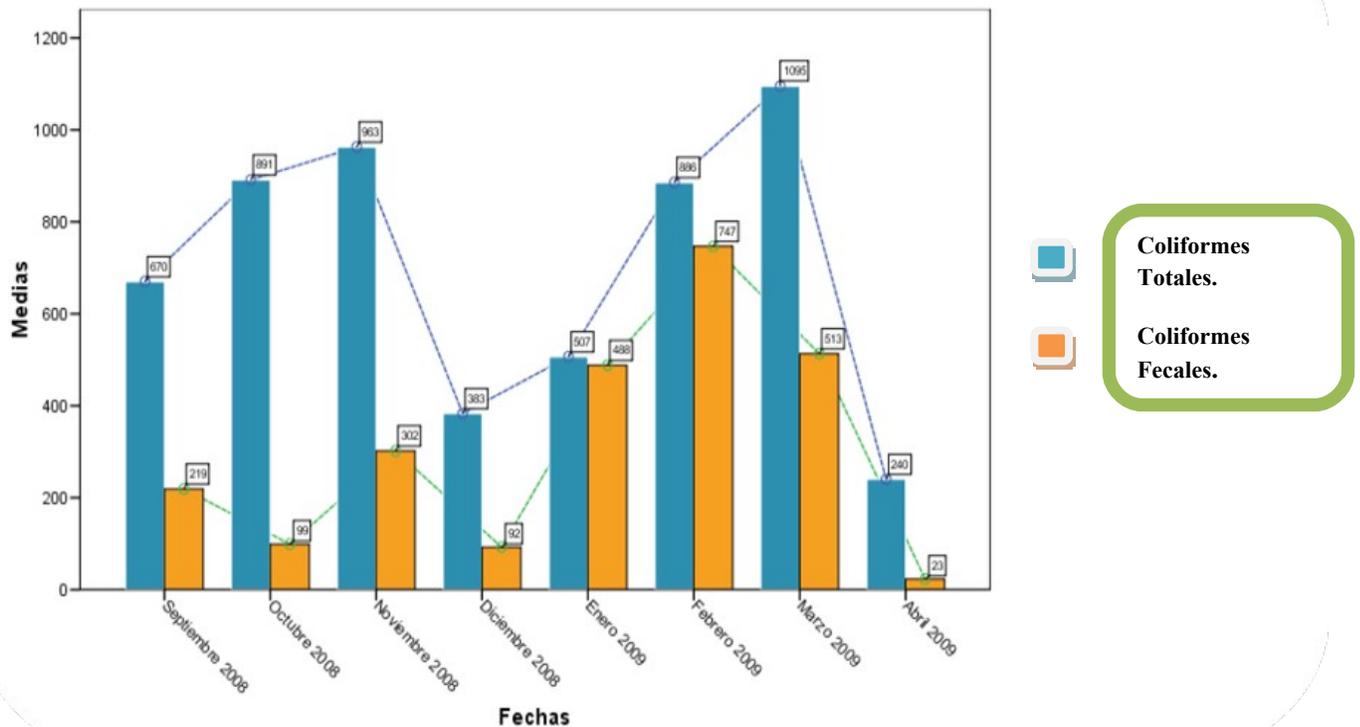
Además de las comparaciones de Medias de coliformes totales y fecales, entre las fechas de septiembre 2008 – Abril 2009. Análisis de la varianza de la variable de coliformes Fecales y totales en la subcuenca del río Aguas Calientes. Prueba de comparación de promedios Duncan para las localidades de la subcuenca del río Aguas Calientes. Promedio de coliformes totales por época. A un nivel de significancia $\alpha=0.05$.

El procesamiento de los datos se realizó con asistencia del programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Solutions) versión 15.0.1 para Windows, con el objetivo de determinar si hay diferencias estadísticas significativas, entre las variables coliformes totales y fecales. Así como las diferencias entre el tipo de pozo entre las comunidades.

RESULTADOS

5.1 Comparación de la contaminación de Coliformes en todo el periodo de estudio.

Fig.4. Comparación de la contaminación de Coliformes totales y fecales, entre las fechas de Septiembre 2008-Abril 2009.



Se observa una contaminación bacteriológica de las aguas, en todo el periodo de estudio, comprendido de Septiembre 2008- Abril 2009. (Fig.4).

5.2 Comparación de contaminación de Coliformes con respecto al tipo de pozo por localidad.

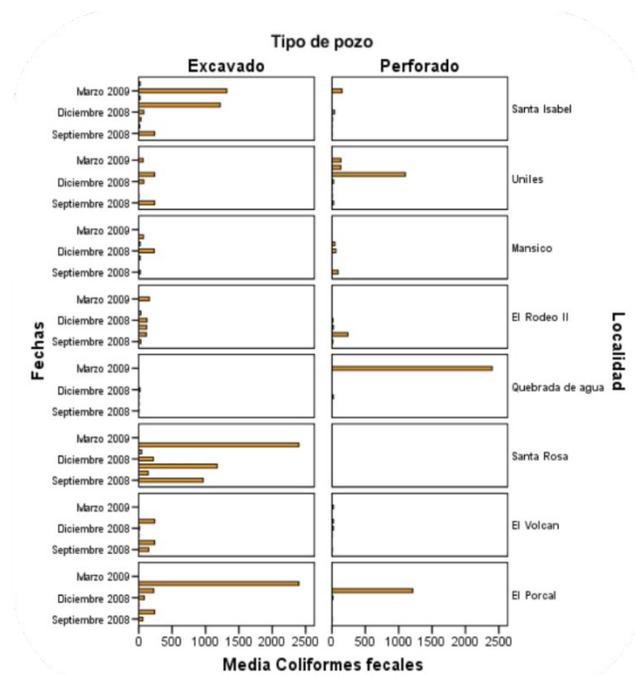
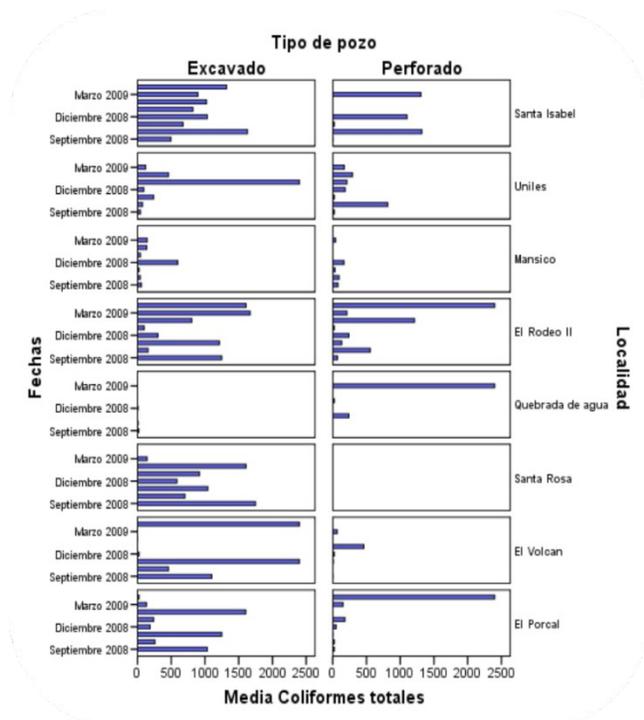


Fig.5. Comparación de la contaminación de Coliformes totales con respecto al tipo de pozo por localidad.

Fig.6. Comparación de la contaminación de Coliformes fecales con respecto al tipo de pozo por localidad.

Como se puede observar en las Figuras 5 y 6. La contaminación de Coliformes totales como fecales, presentan niveles considerados de contaminación en todas las localidades muestreadas, siendo de esta forma no apta para su consumo.

5.3 La contaminación con respecto a las épocas.

Se observa que para Coliformes totales (fig. 7), en época lluviosa, la comunidad de Mansico presenta el mínimo de contaminación con 51 ufc/100ml. mientras que la comunidad de Santa Rosa un máximo de 1195 ufc/100ml. En época seca la comunidad de Mansico presenta el mínimo de contaminación con 201 ufc/100ml. mientras que la comunidad de de Santa Isabel presenta un máximo con 1039 ufc/100ml.

Mientras que para Coliformes fecales (Fig. 8), en época lluviosa, la comunidad de Quebrada de agua presenta el mínimo de contaminación con 10 ufc/100ml. y la comunidad de Santa Rosa un máximo de 760 ufc/100ml. En época seca la comunidad El Volcán presenta el mínimo de contaminación con 64 ufc/100ml. mientras que la comunidad de Quebrada de agua presenta un máximo con 1210 ufc/100ml.

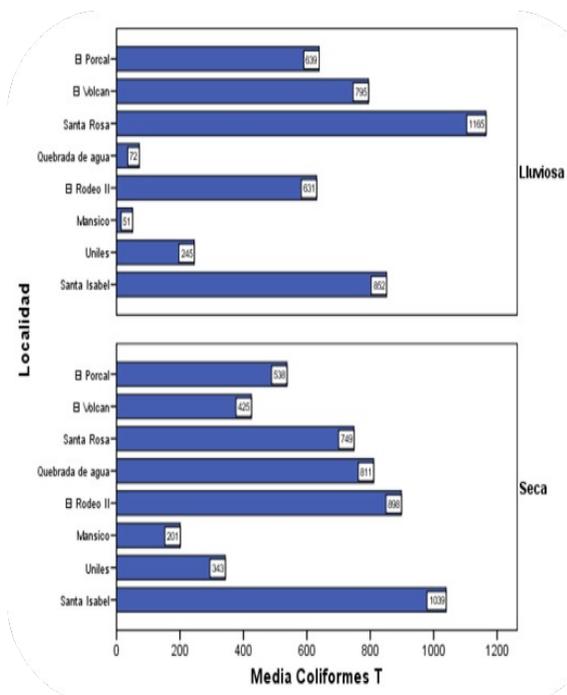


Fig. 7. Promedio de Coliformes T

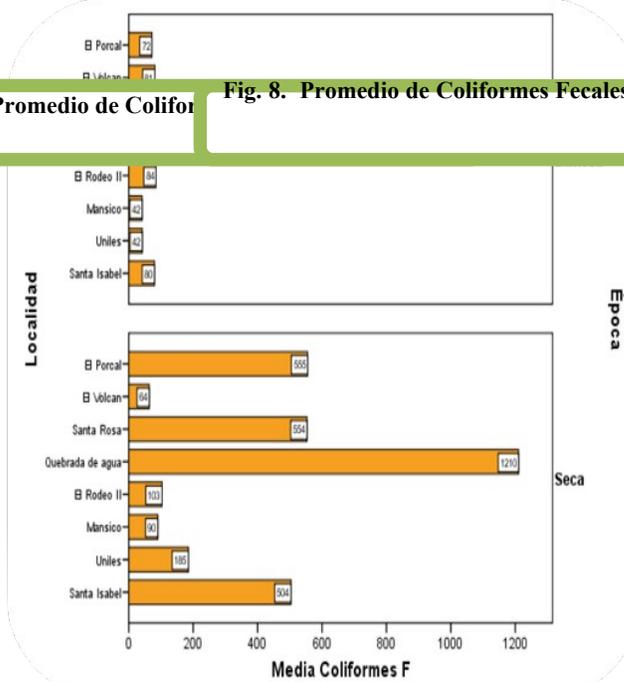


Fig. 8. Promedio de Coliformes Fecales por época.

5.4

Análisis de Varianza y prueba de Duncan

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Coliformes F

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	6450.485 ^a	9	716.165	2.236	.024
Intersección	5693.638	1	5693.6	20.521	.000
Tipodepozo	2515.068	1	2515.068	.039	.845
Epocas	1628.472	1	1628.5	3.612	.060
Localidad	4867.724	7	695.389	2.438	.023
Error	622274.2	116	5329.950		
Total	1010860.0	126			
Total corregido	148724.6	125			

a. R cuadrado = .148 (R cuadrado corregida = .082)

Tabla 5. Prueba de comparación de promedios Duncan para las localidades de la subcuenca del río Aguas Calientes

Duncan ^{a,b,c}	Localidad	N	Subconjunto	
			1	2
	El Volcan	10	72.30	
	Mansico	13	75.00	
	El Rodeo II	20	92.95	
	Uniles	20	127.80	
	Santa Isabel	22	291.59	291.59
	Quebrada de agua	7	351.29	351.29
	El Porcal	16	374.00	374.00
	Santa Rosa	18		691.39
	Significación		.240	.096

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 13.715

b. Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c. Alfa = .05.

Tabla 4. Análisis de la varianza de la variable de Coliformes Fecales en la subcuenca del río Aguas Calientes.

El análisis de la Varianza (tabla 4 y 6), así como la prueba de Duncan (tabla 5 y 7) de las variables coliformes fecales y totales, a un nivel de significancia $\alpha=0.05$, demuestran diferencias estadísticas significativas en el nivel de contaminación para las localidades estudiadas. No existiendo diferencias significativas en el grado de contaminación con respecto al tipo de pozo y a la época de estudio. Es importante señalar que todos los factores en estudio llegan a interrelacionarse de manera conjunta.

Tabla 6. Análisis de la varianza de la variable de Coliformes Totales en la subcuenca del río Aguas Calientes.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Coliformes T

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	8012977.6 ^a	9	001442.0	2.710	.006
Intersección	0473304.0	1	40473304	54.795	.000
Tipo de pozo	14671.491	1	114671.5	2.863	.092
Epoocas	98908.895	1	8908.895	.134	.715
Localidad	1403339.3	7	629048.5	2.205	.036
Error	135169578	183	8631.573		
Total	228787082	193			
Total corregido	53182555	192			

a. R cuadrado = .118 (R cuadrado corregido = .074)

Tabla 7. Prueba de comparación de promedios Duncan para las localidades de la subcuenca del río Aguas Calientes

Coliformes T

Localidad	N	Subconjunto		
		1	2	3
Duncan ^{a,b,c}				
Mansico	22	125.68		
Uniles	29	302.45	302.45	
Quebrada de agua	7	388.43	388.43	388.43
El Volcan	12	579.08	579.08	579.08
El Porcal	29	579.41	579.41	579.41
El Rodeo II	38		778.55	778.55
Santa Rosa	26			940.96
Santa Isabel	30			957.97
Significación		.160	.140	.081

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 18.235

b. Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c. Alfa = .05.

5.5 Otros indicadores de contaminación de agua.

Tabla 8. Otros indicadores de contaminación.

Estos indicadores demuestran que hay presencia y ausencia de otros contaminantes en el agua de la Subcuenca Bimunicipal (Somoto y San Lucas).

Nº	Nombre del pozo	Comunidad	zona	Coliformes totales	Coliformes fecales	<i>Enterococcus sp.</i>	<i>Clostridium sp.</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	Mohos	Levaduras	Aerobios Mesofilos	<i>Pseudomonas sp.</i>
1	Eusebio Mercado	Volcán	Alta	p	a	a	p	p	a	a	a	p	p
2	Pablo Reyes	Volcán		a	a	a	a	p	a	a	a	p	p
3	Ángel Pérez	Porcal		a	a	P	a	a	a	a	a	a	a
4	Adrian Miranda	Porcal		p	a	a	p	a	a	a	a	p	a
5	La plancha	Porcal		a	a	a	a	p	a	a	a	p	P
6	Vertilia Mejía	Porcal		p	a	a	a	a	a	a	a	p	P
7	Iglesia católica	Rodeo II	Media	p	a	a	a	p	a	a	a	p	a
8	Francisca Guzmán	Rodeo II		p	a	a	a	p	a	a	a	p	P
9	Albertina Muños	Quebrada de agua		p	a	P	a	p	a	a	a	p	a
10	Pila de captación	St. Isabel		a	a	a	a	p	a	a	a	p	P
11	Lucio Gutiérrez	St. Isabel		p	P	P	a	a	p	a	a	a	P
12	Rosario Estrada	St. Isabel		p	a	a	a	p	a	a	a	p	P
13	Familia Moreno	Uniles	Baja	a	a	a	a	a	a	a	a	p	P
14	comedor infantil	St. Rosa		a	a	a	a	a	a	P	a	p	a
15	Felipa Díaz	St. Rosa		p	a	a	p	p	a	P	a	p	P

Elaboración propia.

a = ausencia.

p = positivo.

DISCUSIÓN

El análisis microbiológico realizado a 35 pozos (100 % de la muestra), muestran que el 100% de las fuentes de agua estudiadas no es apta para consumo humano, según los estándares de las normas CAPRE y normas internas que rigen el laboratorio de Microbiología de la UNAN-León.

6.1. Comparación de la contaminación de Coliformes en todo el periodo de estudio.

- Se observó que la contaminación de Coliformes fecales y totales se mantuvo en todo el periodo en estudio (fig.4). Este resultado se da de manera conjunta para las comunidades en estudio y se agrupan por periodos (septiembre 2008 – abril 2009).
- Comparando los promedios de contaminación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/100 ml. demuestran niveles considerados en Marzo del 2009 para Coliformes totales con 1095 ufc/100 ml. y Abril con el nivel más bajo 240 ufc/100 ml. Febrero alcanzó el mayor nivel de contaminación de Coliformes fecales con 747 ufc/100 ml. y Abril el nivel más bajo 23 ufc/100 ml.

6.2. Comparación de contaminación de Coliformes con respecto al tipo de pozo por localidad.

- Como se puede observar en las figuras 5 y 6, existe contaminación de la calidad de agua en todas las localidades tanto para Coliformes Totales y Fecales. La contaminación no depende del tipo de pozo utilizado, ya que el agua está expuesta en todas las comunidades de manera directa o indirectamente a contaminación por el mal manejo del agua y sus pozos. (contaminación de heces de animales (gallinas y perros), exposición a sustancias químicas (detergentes), arrastres de sedimentos, etc.).

- Sin embargo existen diferencias reales en la contaminación de los tipos de pozos (perforados y excavados). Esto se debe a que algunos de sus sistemas de extracción de agua se encuentran en mal estado (sin tapaderas, presentan fisuras, tuberías rotas, etc.), así como la presencia de niños jugando cerca de las fuentes de aguas.

6.3 La contaminación con respecto a las épocas.

- En este estudio no se encontró diferencias estadísticas significativas de contaminación bacteriológica con respecto a las épocas en estudio (lluviosa y seca.) (figuras 7 y 8), ya que en Nicaragua se estableció el fenómeno de El Niño, desde septiembre del 2008 hasta abril del 2009, reduciendo las precipitaciones en un 40 %, según pronósticos del Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales (Ineter), lo que se podría traducir en sequías severas para la zona en estudio. De este modo la contaminación se comporto de manera similar en ambas épocas.
- Sin embargo, se observo que los promedios de las unidades formadoras de colonias (Ufc) por comunidad se encuentran por encima de lo permisible según las normas CAPRE para considerar el agua como apta para el consumo humano, sobresaliendo de esta manera con mayor contaminación la comunidad de Santa Rosa en ambas épocas para coliformes totales y fecales. Mientras que la contaminación de coliformes fecales y totales en época seca se presento en las comunidades de Quebrada de Agua y Santa Isabel respectivamente.

6.4 Análisis de Varianza y prueba de Duncan.

- Según el análisis de Varianza (tablas 4 y 5), a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$, no se encontró diferencias significativas entre las variables de los Coliformes totales y Coliformes fecales en todo el periodo en estudio (septiembre 2008 hasta abril 2009) en la subcuenca del rio de Aguas Calientes. Las pruebas inter-sujeto del análisis demuestran que la contaminación varía con respecto a las localidades, no para el tipo de pozo (excavado y perforado) y las épocas (lluviosa y seca). Sin

embargo, en algún momento todas las variables llegan a inter-relacionarse de manera conjunta.

- La prueba de Duncan (tablas 5 y 7) agrupan a las localidades por sus diferencias mínimas significativas de contaminación tanto en coliformes totales y fecales. Y nos evidencia lo ya mencionado en el análisis de varianza. Que para coliformes fecales el subconjunto 1 de las localidades de El Volcán, Mansico, Rodeo II y Uniles difieren significativamente en la contaminación del subconjunto 2 en las localidades de Santa Isabel, Quebrada de Agua, El Porcal y Santa Rosa. Mientras que para Coliformes totales, todos los subconjuntos difieren entre sí, subconjunto 1 (Mansico), subconjunto 2 (Uniles, Quebrada de Agua, El Volcán y El Porcal) y subconjunto 3 (Rodeo II, Santa Rosa y Santa Isabel).

6.5 Otros indicadores de contaminación de agua.

- Estos parámetros no están establecidos dentro de las normas CAPRE, pero son importantes de conocer cuando se requiere consumir agua segura (tabla 8). Los indicadores que se analizaron en este estudio fueron: *Enterococos sp*, *Clostridium sp*, *E. coli* y *Pseudomonas sp*.
- De acuerdo al análisis bacteriológico completo 11 (31.42%) de los 35 pozos (100 % muestra), presentan al menos un tipo de microorganismo patógeno no perteneciente al grupo de los coliformes (*Clostridium sp* y *Pseudomonas sp*). Donde el mayor porcentaje de contaminación se encuentra en la zona alta con 14.28 %, la zona media presento 11.42 % y la zona baja con 5.71 %.
- Estos indicadores demuestran que hay presencia y ausencia de otros contaminantes en el agua de la Subcuenca Bimunicipal del rio Aguas Calientes (Somoto y San Lucas).

CONCLUSIONES

- El análisis Microbiológico evidencia que las aguas de los 35 pozos muestreados, durante todo el periodo en estudio presenta contaminación microbiológica, siendo no aptas para el consumo humano, según las normas CAPRE.
- El análisis estadístico demuestra, que a un nivel de significancia $\alpha=0.05$, existen diferencias significativas de las variables coliformes totales y fecales por localidad. No existiendo diferencias significativas en el grado de contaminación con respecto al tipo de pozo y a la época de estudio. Es importante señalar que todos los factores en estudio llegan a interrelacionarse de manera conjunta.
- La comunidad de Santa Rosa presenta el máximo de contaminación por coliformes totales con 1165 ufc/100 mL y la comunidad de Mansico el mínimo con 51 ufc/100 ml.
- Mientras la contaminación de coliformes fecales, en la comunidad de Quebrada de Agua presento un máximo de contaminación de 1210 ufc/100 mL y la comunidad El Volcán mínimo de contaminación de 64 ufc/100 mL.
- De acuerdo al análisis complementario, 11 de los 35 pozos en estudio, presentan al menos un tipo de microorganismo patógeno no pertenecientes al grupo de los coliformes (*Pseudomona sp*, *Clostridium sp.*)
- No se encontraron diferencias significativas en el grado de contaminación microbiológica en las 2 estaciones de tiempo muestreado (estación seca y lluviosa).
- Todos los pozos donde se encontro contaminación bacteriológica se caracterizaron por tener brocal abierto y/o estar ubicado cerca letrinas. Es importante mantener las distancias mínimas recomendadas (anexo 1).

RECOMENDACIONES

- Es necesario tomar medidas preventivas y correctivas para el consumo de agua domestico en la zona.
- Es recomendable realizar análisis completo (físico químico, microbiológico y de contaminantes) de la calidad agua de la subcuenca del rio Aguas Calientes.
- Es conveniente construir mayas de seguridad, para proteger las fuentes de agua de animales que puedan contaminar el agua. Mantener el pozo tapado, para evitar la entrada de animales portadores de patógenos.
- Es recomendable una distancia mínima de 23 a 30 metros entre las letrinas y las fuentes de agua.
- Mejorar el sistema de extracción de agua, impidiendo así la contaminación fecal directa por medio del mecate.
- Realizar un estudio epidemiológico que evidencie el impacto sobre la salud en la población de la subcuenca del rio de Aguas Calientes por la ingesta de esta agua.
- El tipo de contaminación encontrada en las fuentes de agua evaluadas puede ser minimizada siempre y cuando la Comunidad adopte medidas higiénicas sanitarias en cuanto a la manipulación del agua extraída, de la fuente de agua y sus alrededores.

BIBLIOGRAFÍA

- **ACUÑA** del Pino, NB; et al. 1997. *Contaminación bacteriana en aguas recreacionales, factores intermitentes*. AR. 7p.
- **ADSA-MICROBIOLOGIA** 1981. *Medios de cultivos para microbiología*. Editorial Barcelona. Pág. 86-230.
- **ALMANSA** Sánchez, L; Gil Borjabad, D, 2008. *Aplicación a la subcuenca de Aguas Calientes, Madriz- Nicaragua*. (Agua y medio ambiente en la cooperación al medio ambiente) Tesis para optar al título de Lic. en Ciencias Ambientales. Universidad de Alcalá – España. 28p.
- **ARAÚZ** Martínez, J; Araúz, I. 2003. *Calidad Bacteriológica del agua de Pozos en la Comunidad de Troilo (Sutiava)*. León, NI. Tesis para optar al título de Lic. en Biología. UNAN-León. 57 p.
- **BENAVIDES**, D López, N; Laguna, R. 2005. *Plan de Cogestión de la Subcuenca del Río Aguas Calientes, en los municipios de Somoto y San Lucas*. Madriz. Somoto, NI. 120p.
- **CALIDAD** del agua del estero el Picudo (Talca, VIII Región): *Un analisis basado em la data existente*. 2003. CL. Theoria, Vol. 12: 43- 54. ISSN 0717-196X.
- **CAPRE**. 1993. *Normas de calidad de agua para consumo humano. Comité coordinador regional de instituciones de Agua Potable y Saneamiento de Centro America, Panama y Republica Dominicana*. 27 p.
- **DOMINGUEZ** Del Aguila, S. 2008. *Zonificación ambiental para el ordenamiento territorial de la subcuenca Bimunicipal del río Aguas Calientes, Madriz*. Somoto, NI. Tesis M. Sc. CATIE, Somoto. 177pp.p
- **FOCUENCAS II**. 2004 (*Proyecto de Fortalecimiento de la Capacidad Local Para el Manejo de Cuencas y la Prevención de Desastres Naturales*). Innovación, aprendizaje y comunicación para la cogestión adaptativa de cuencas. Propuesta para la segunda fase Presentada a la Agencia Sueca para el Desarrollo Internacional (ASDI). Turrialba, CR. 85p.
- **GARCIA**, V; et al. 2006. *Calidad bacteriológica y desechos solidos en cinco ambientes costeros de Costa Rica*. CR. (Rev. Biol. Trop. Vol. 54 (Suppl. 1): 35-48p).
- **GIBSÓN**, UP y Singer, RD. 1971. *Manual de los pozos pequeños: Localización, diseño, construcción, uso y conservación*. 1ª Eds en español..Mexico. (publicidad artística litográfica, S.A.) Centro Regional de ayuda técnica. Agencia para el desarrolllo Internacional (AID). 177p.

- **GÓMEZ**, S. 2003. *Análisis de Vulnerabilidad con Énfasis en Sequía en la Subcuenca del Río Aguas Calientes, Somoto-Nicaragua*. Tesis M.Sc. Turrialba, CR, CATIE. 78p.
- **GRAY**, N. F. 1997. *Calidad del agua potable: problemas y soluciones*. Trinity College, University of Dublin, Ireland. ISBN: 9788420008219. Primera edición en castellano. 338p.
- **HANS**, G. Shlegel; Christiane Zaborosch. 1997. *Microbiología General*. Ediciones OMEGA, S.A., ES, Barcelona. 625p.
- **INGRAHAN**, Cathirine A.; Ingrahan, Jhon L. 1998. *Introducción a la Microbiología*. Editorial Reverté, S.A. Tomo I y II, Barcelona.
- **LAZANEO**, Eduardo. 2004. *Situación de la Calidad Microbiológica del Agua en Establecimientos Agropecuarios del Uruguay*. UY. 7P. (Salud Pública, Fac. Veterinaria, Uruguay).
- **MADIGAN**, M.T.; Martinko G.M.; Porker J. Brock, 2004. *Biología de los Microorganismo*. Ed. Pretice Hall. 10ª edición. 1008p.
- **MONTAÑO**, M., Robadue, D. (1995). *Monitoreo y manejo de la calidad del agua costera*. En Ochoa, M., editor. Manejo Costero Integrado en Ecuador. Fundación Pedro Vicente Maldonado. Guayaquil, Ecuador: Programa de Manejo de Recursos Costeros. (This document is posted to the web site of the Coastal Resources Center, Graduate School of Oceanography, University of Rhode Island 220 South Ferry Road Narragansett, Rhode Island, USA 02882).
- **MORA** Alvarado, D. 1997. *Beneficio del programa Bandera Azul Ecológica para las playas de excelencia en los aspectos higiénicos sanitarios Costa Rica – Períodos 1996 – 1997*. (Rev. Costarric. Salud pública v. 6 n. 11 San José dic. 1997). 13p.
- **MORA** Alvarado, D. 1998. *Calidad sanitaria de la aguas de playa en Costa Rica: comparación entre los períodos 1986 – 1987 y 1996 – 1997*. (Rev. Costarric. Salud pública v. 7 n. 13 San José dic. 1998). 13p.
- **MORA** Alvarado, D. 2002. *Evolución de la calidad de las aguas de playa de la ciudad de Puntarenas 1961-2001*. (Rev. Costarric. Salud pública v. 11 n.20 San José jul. 2002) ISSN 1409-1429. 10P.
- **OBANDO** Soriano, F O. 2005. *Situación del recurso hídrico subterráneo de la subcuenca del río Aguas Calientes, Nicaragua*. Tesis M. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 111p.
- **PERDOMO** C. H. et al. 2001. *Contaminación de aguas subterráneas con Nitratos y Coliformes en el litoral sudoeste de Uruguay*. UY. Agrocienca. Vol. 5 n. . Pag. 10-22.
- **OMS/UNICEF (JMP/2006)**, Programa de Monitoréo Conjunto. *Datos de [agua](#) y [saneamiento](#) basados en Encuesta de Salud y Demografía en Nicaragua* (Nicaragua

Demographic and Health Survey) del 2001 y la Encuesta de Medidias del Nivel de Vida (Living Standard Measurement Survey) del 2001.

- **PALACIOS** Sánchez, K M. 2005. *Evaluación de la eficiencia del filtro de cerámica utilizado para la depuración del agua de consumo en la comunidad de Chacaraseca-sector rural cabezas del municipio de León*. León,NI. Tesis para optar al título de Lic. en Biología. UNAN-León. 46 pp.
- **PEREZ** Urguyo, L M. 2006. *Calidad Microbiologica del agua de pozos depurada con filtros de arena en la comunidad de Troilo-Subtiava León*. Tesis para optar a título de Lic. en Biología. León,NI. Unan-León. 44 pp.
- **ENACAL** 2008-2012. Plan de desarrollo Institucional. *Estrategia Sectorial de Agua*. Propuesta por ENACAL.
- **PLAN** *Rector de Producción y Conservación de la subcuenca Coco- Somoto. 2001*. Informe del estudio. Somoto, NI. Alcaldía Municipal de Somoto. 36 p.
- **REBOLLO** Ferreiro, L F y Loeches Garrido, MM., 2008. *Obras Colectivas: Agua y Sanamiento ambiental en proyectos de emergencia y de cooperación al desarrollo*. Eds.. Alcalá,ES. Editado por la Universidad de Alcalá con la colaboración del Canal de Isabel II. 310 p.
- **UMAÑA**, E. 2000. *Caracterización biofísica de la subcuenca Coco - Somoto*. Documento informe final del estudio. Alcaldía municipal de Somoto. 69 p.
- **WILLEY**, Joane M.; Sherwood, Linda M.; Woolverton, Cristopher J., 2007. (out) *Prestcott – Microbiologia, 7° edc*. Mcgrow – Hill / interamericana de España, S. A. 1° impresión.

ANEXOS

Anexo 1. Distancia mínimas recomendadas.

Fuentes de contaminación	Distancias mínimas recomendadas
Alcantarilla de hierro fundido con juntas mecánicas o emplomadas	10 pies (3 m)
Fosa séptica o alcantarilla de losa fuertemente unida	50 pies (15 m)
Retrete de fosa de tierra, fosa de filtración o campo de drenaje	75 pies (23 m)
Resumidero que recibe aguas negras sin tratar	100 pies (30 m)

Es recomendable una distancia mínima de 23 a 30 metros entre las letrinas y las fuentes de agua.

Anexo 2. Tabla2. Reacciones del IMVIC para diferenciar *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*.

	Formación de indol	Prueba del rojo de metilo	Formación de acetoina	Citrato
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+

Tomado: Hans et al (1997).

Anexo 3. Métodos de Siembra.

Fig. 9. Dos métodos de realizar una determinación de células sembrar viables (recuento en placa).

Tomado: Madigan et al 2004.

El recuento de las viables se expresa a menudo como unidades formadores de colonias (UFC) obtenidas, más que como número de células viables (ya que una unidad formadora de colonias pudo originarse a partir de una o más células iniciales).

Anexo 4. Parámetros Bacteriológicos (a)

Origen	Parámetro (b)	Valor Recomendado	Valor Máximo Admisible	Observaciones
A. Todo tipo de agua de bebida	Coliforme fecal	Neg	Neg	
B. Agua que entra en el sistema de distribución	Coliforme fecal	Neg	Neg	
	Coliforme total	Neg	≤ 4	En muestras no consecutivas
C. Agua en el sistema de distribución	Coliforme total	Neg	≤ 4	En muestras puntuales
	Coliforme fecal	Neg	Neg	No debe ser detectado en el 95 % de las muestras anuales (c)

- (a) NMP/100 ml, en caso de análisis por tubos múltiples o colonias/100 ml en el caso de análisis por el método de membrana filtrantes. El indicador bacteriológico más preciso de contaminación fecal es la *Escherichia coli*. La bacteria Coliforme Total no es un indicador aceptable de la sanitaria de acueductos rurales, particularmente en áreas tropicales donde muchas bacterias sin significado sanitario se encuentran en la mayoría de acueductos sin tratamientos.
- (b) En los análisis de control de calidad se determina la presencia de Coliformes totales. En caso de detectarse una muestra positiva se procede al remuestreo y se investiga la presencia de Coliformes fecal. Si el remuestreo da resultados negativos, no se toma en consideración la muestra positiva, para la valoración de calidad anual. Si el remuestreo da positivo se intensifica las actividades del programa de vigilancia sanitaria que se establezca en cada país. Las muestras adicionales, recolectadas cuando se intensifican las actividades de inspección sanitaria, no deben ser consideradas para la valoración anual de calidad.
- (c) En los sistemas donde se recolectan menos de 20 muestras, al año, el porcentaje de negatividad debe ser $\geq 90\%$.

Anexo 5. Encuesta por vivienda.

Datos Generales

Ficha N° _____

Responsable de familia: _____

Edad: _____ Sexo _____ Nivel de escolaridad _____

Tiempo de vivir en la comunidad _____

N°	Edad	Sexo	Nivel Escolar	Ocupación	Lugar de Estudio/Trabajo

Control de pozos

- 1.- Esta la zona inmediata libre de desechos líquidos y letrinas?
- 2.- Existe una plataforma impermeable que impida la entrada de las aguas superficiales?
- 3.- El revestimiento del pozo se extiende 30 cms. por encima de la plataforma?
- 4.- Presenta fisuras?
- 5.- El área circundante al pozo drena de modo que se impida el ingreso de aguas de drenaje?
- 6.- Están impermeabilizadas las paredes del pozo hasta 3 metros bajo el nivel del terreno?
- 7.- Que sistema utiliza para extraer el agua de pozo?

8.- Clora el agua del pozo? Cuando lo hizo por última vez?

Anexo 6. Tabla 3. Del número más probable.

TABLA N° 3					
Tubos con reacción positiva entre:			Indice MPN/100 mL	Límite de Confianza 95 %	
3 tubos de 10 mL	3 tubos de 1 mL	3 tubos de 0,1 mL		Límite Inferior	Límite Superior
0	0	1	3	≥ 0,5	9
0	1	0	3	≥ 0,5	13
1	0	0	4	≥ 0,5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800

Anexo 7. Fotografía de la Zona de estudio.

Sectores altitudinales de la subcuenca. La división de los sectores tomando en cuenta las altitudes de la subcuenca (Figura 10).

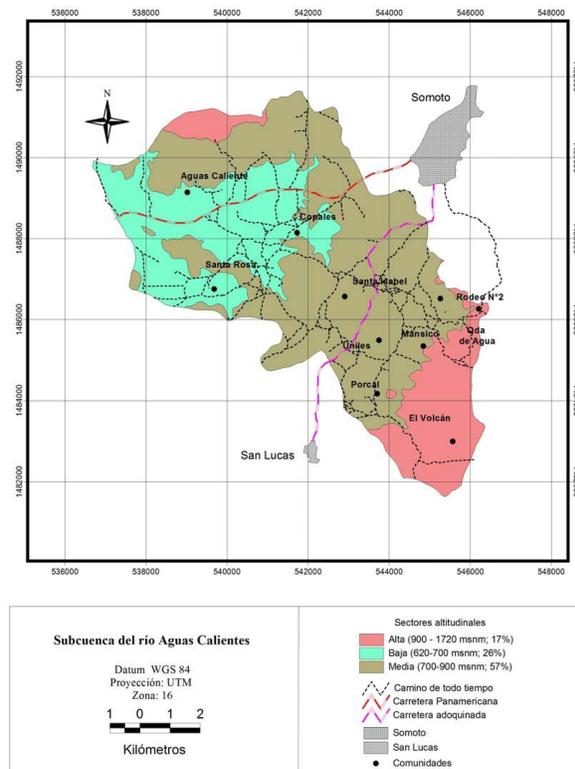


Fig. 10. División de la subcuenca por sectores altitudinales.

Tomado de Domínguez 2008.

Fuente: Reelaborado de MAGFOR (2000).

La subcuenca se divide en tres partes según la topografía (**Fig.10**):

- Alta: hay plantaciones de café y bosque. Hay problemas de deforestación.
- Media: bosque caducifolio, cultivos de pita de henequén. Es la zona más afectada por los problemas de agua, a ella pertenece el 50% de la población de la subcuenca. Es la zona donde más presión sufren los acuíferos.
- Baja: Hay cultivos, frutales y viveros. Es la zona con mayor disponibilidad de agua.
- El área protegida Tepexomothl – La Patasta ocupa el 14,16% de la subcuenca Aguas Calientes. (Benavides, 2006).

Anexo 8. Fotografías de Pozos de la Subcuenca.



Fig. 11. Pozo con bomba de mecate rota. La extracción tiene que hacerse manualmente con riesgo de introducir contaminantes en el pozo.



Fig. 12. Pozo desprotegido recibiendo todo tipo de contaminantes.

Anexo 9. Sistemas de Extracción de agua.



Fig. 13. Bomba Marck

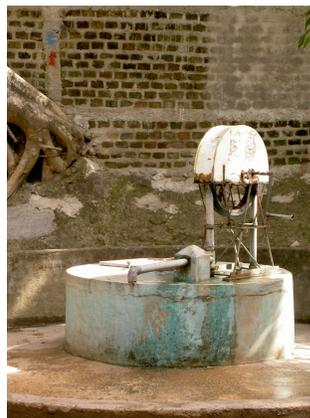


Fig. 14. Bomba de Mecate



Fig. 15. Extracción a través de Balde.