

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA UNAN-LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**CARRERA BIOANÁLISIS CLÍNICO**



**TESIS**

**Para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico**

**IDENTIFICACIÓN DE COLIFORMES FECALES EN**  
**AGUA DE POZOS EN CUATRO COMUNIDADES DEL**  
**SECTOR SUR DE LA CIUDAD DE LEÓN**  
**AGOSTO- OCTUBRE 2011 /AGOSTO-OCTUBRE 2012**

**Autores: Melba Dinorah Rojas Leytón**  
**Nelson Antonio Rugama Quezada**

**Tutor: Dr. Daniel Reyes Navarrete. MD, MSc, PhD**  
**Profesor Titular Departamento de Microbiología y Parasitología**  
**UNAN- León.**

**León, Abril 2013**

*"A la libertad por la Universidad"*





## DEDICATORIA

Dedicamos nuestro trabajo a:

- Dios todopoderoso quien nos dió la fuerza, sabiduría y paciencia para concluir con éxito nuestro estudio.
- Nuestros padres y familiares quienes con su esfuerzo, ejemplo y amor nos dan el impulso para alcanzar nuestras metas y son ellos el motivo de inspiración para seguir adelante.



## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos de manera especial a:

- Dios por ser la luz que nos ilumina día a día y es quien nos dio la salud y las fuerzas necesarias para cumplir uno de nuestros sueños.
- Nuestro tutor Dr. Daniel Reyes Navarrete, por brindarnos su tiempo, apoyo, conocimientos y experiencias para que este trabajo se realizara exitosamente.
- Al personal del laboratorio de Microbiología y parasitología quienes nos proporcionaron las condiciones apropiadas para que el trabajo práctico se realizara con calidad.
- A los propietarios de los pozos, que nos proporcionaron las muestras de agua para que este trabajo se realizara.
- A todos nuestros amigos y compañeros de estudio que de una u otra forma nos han apoyado.

*Melba Rojas*

*Nelson Rugama*

Lo que llevamos de vida ha requerido sacrificios, voluntad y disciplina, pero los verdaderos pilares que sostuvieron con fuerza nuestra mirada hacia el horizonte, guías modelos, personas que se involucraron en nuestro porvenir, decisiones, aprendizaje y contribuyeron sin condiciones, ni precio, con nuestros logros... A ustedes queremos agradecer de manera muy personal:



Primero y antes que nada, dar gracias a **DIOS**, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

**A mi familia:** Por tener la paciencia que tantas veces he necesitado. Por velar por mí, por su esfuerzo desmedido que me demuestran día a día. **A mi mamá Ursula Leytón**, por apoyarme en todo momento. Por respetar mi persona y abrir paso a mis decisiones, por brindarme aspiraciones y modelos iniciales que me sirvieron para orientar mis habilidades, mis fortalezas y dirigirme cada vez con mayor claridad hacia el camino que he escogido. Por ser un modelo ejemplar de madre. Junto a ti aprendí que amar es suficiente. **A mi papá José Miguel Rojas**, por darme siempre el apoyo económico y un lugar importante a las cosas que quiero que para muchos otros no son prioridad. Por ser un ejemplo de fortaleza, valor y coraje. Junto a ti aprendí que la fortaleza te la da la intención. **A mis hermanos Alberto Rojas y Javier Rojas**. Por darle sentido a todas las experiencias que he vivido, malas y buenas. Junto a ustedes aprendí que en la vida todo es cuestión de actitud.

Por reflejar sus bondades sobre mí y permitirme guardar en mi interior lo mejor de ustedes, agradezco justo ahora y por siempre. Y finalizo expresando mi orgullo por haber llegado hasta aquí y por ser quién soy; eso es algo que nunca habría sido posible en mi vida sin ustedes. Gracias...

*MELBA DINORAH ROJAS LEYTÓN*



**De manera muy especial quiero agradecer a:**

- ✓ **Dios** por darme la vida, fuerza, aptitud, paciencia y perseverancia en todos mis años de estudio.
  
- ✓ **Mi madre Anselma Quezada** que con sus oraciones y paciencia me inspira a seguir adelante y luchar día a día en la búsqueda de mis sueños.
  
- ✓ **Mi padre Simón Rugama** que se fue de este mundo a finales de mi carrera pero que siempre está vivo en mi corazón, él me enseñó con su actitud que en la vida hay que ser fuerte y que se debe luchar hasta el final.
  
- ✓ **Mis hermanas Carmen Rugama y Rosa Rugama** y demás hermanos quienes me brindaron su apoyo incondicional en los momentos de dificultad.

***NELSON RUGAMA***



## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar indicadores bacterianos de contaminación fecal en muestras de aguas de 57 pozos de cuatro comunidades (Talchocote, Mercedes Varela, Eugenio Pérez y El Arbolito) del sector sur de ciudad de León. Dicho análisis se realizó utilizando el método del número más probable (NMP), y el reconocimiento de agentes bacterianos mediante cultivos y pruebas bioquímicas. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la UNAN-León, Agosto-Octubre 2011 /Agosto-Octubre 2012.

Según las condiciones de los pozos, se observó que el 98% presentaban brocal y el 56% contaban con adecuada protección (tapas). El 93% de los pozos se encontraron ubicados cercanos a letrinas, al igual que animales y charcas.

El análisis microbiológico del agua, reveló que un 93% de los pozos presentaron contaminación por coliformes (entre 9 a  $\geq 2,400$  bacterias/100ml); encontrándose en cada muestra de 1 a 3 tipos de bacterias, de las cuales *Escherichia coli* y *Enterobacter* fueron las más frecuentes (81% y 75%, respectivamente). Siendo la comunidad con mayor índice de contaminación bacteriana El Arbolito.

En términos generales, la mayoría de los pozos se encontraban en buenas condiciones de estructura; sin embargo, se observó condiciones ambientales desfavorables que podrían contribuir a la contaminación del agua. El agua de los pozos analizados de las comunidades en estudio ***no es apta*** para su consumo dado a que el número de unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas, superan el número permisible para este tipo de agua, según lo establecido por las normas CAPRE.

**Palabras claves:** Pozo, Indicadores bacterianos, NMP, Contaminación fecal



## ÍNDICE

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>I</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>II</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>V</b>
<b>INDICE</b> .....	<b>VI</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>VII</b>
1 Introducción.....	1
2 Antecedentes.....	2
3 Justificación.....	4
4 Planteamiento del Problema .....	5
5 Objetivos.....	6
5.1 General.....	6
5.2 Específicos.....	6
6 Marco Teórico .....	7
6.1 Generalidades .....	7
6.2 Agua subterránea .....	8
6.3 Contaminación de las aguas subterráneas.....	9
6.4 Microorganismos indicadores de contaminación fecal .....	10
6.5 Bacterias coliformes .....	12
6.6 Caracteres bioquímicos de los coliformes .....	12
6.7 Hábitat.....	13
6.8 Coliformes como indicadores .....	13
6.9 Coliformes fecales .....	13
6.10 Bacterias que integran el grupo coliforme .....	14
6.11 Otras bacterias presentes en agua contaminada.....	15
6.12 Pozos excavados: fuente de agua para consumo humano .....	17
6.13 Tasa relativa de bacterias contaminantes en agua .....	18
6.14 Análisis bacteriológico en aguas de consumo humano .....	19
7 Diseño Metodológico .....	21
7.1 Tipo y área de estudio .....	21
7.2 Muestra de estudio.....	21
7.3 Criterios para el análisis .....	21
7.4 Fuente de información.....	21
7.5 Recolección y transporte de las muestras .....	22
7.6 Análisis bacteriológico .....	22
7.7 Plan de análisis .....	24
7.8 Confidencialidad y aspectos éticos .....	24
8 Operacionalización de variables .....	25
9 Resultados.....	26
9.1 Características de los pozos y utilización .....	26
9.2 Análisis microbiológico y calidad del agua de pozos .....	28
9.3 Identificación bacteriana y su distribución en las comunidades .....	28
10 Discusión .....	30
11 Conclusiones.....	33
12 Recomendaciones.....	34
13 Referencias .....	35
14 Anexos .....	38



## ABREVIATURAS

<b><u>Abreviatura</u></b>	<b><u>Descripción</u></b>
<b>CF</b>	Coliforme fecal
<b>CT</b>	Coliforme total
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>NMP</b>	Número más probable
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la salud
<b>CAPRE</b>	Comité coordinador regional de la instituciones de agua potable y Saneamiento de Centroamérica, Panamá y República Dominicana





# 1 INTRODUCCION

El agua es el líquido universal para la materia viva y por tanto indispensable para satisfacer las necesidades básicas del ser humano; sin embargo, el crecimiento de la población a nivel mundial y el aumento de su uso para diferentes actividades, han incrementado los niveles de contaminación de este recurso natural, tanto superficial como profundo, constituyendo uno de los crecientes problemas de salud ambiental en todo el mundo. Entre los principales contaminantes podemos mencionar a diferentes microorganismos como bacterias, virus, parásitos que llegan procedente de las heces de personas y animales, ya sea por fecalismo, aguas residuales o por el uso de letrinas, que es una de las formas de contaminación de aguas subterráneas, afectando los pozos de consumo humano en ciertos sectores de la población <sup>(1)</sup>.

La contaminación fecal ha sido y sigue siendo el principal riesgo sanitario del agua, ya que supone la incorporación de microorganismos procedentes de enfermos y portadores sanos, que junto a la transmisión hídrica, generan altos porcentajes de morbi-mortalidad en la población susceptible. La presencia de estos microorganismos en el agua de consumo es un riesgo que se incrementa en zonas sin disponibilidad de agua potable <sup>(2)</sup>.

Los indicadores bacterianos de contaminación fecal más utilizados en diferentes países son los Coliformes totales (CT) y Coliformes fecales (CF). La OMS recomienda utilizar como indicadores de contaminación fecal para diferentes fuentes de agua a *E. coli*, debido a que es uno de los indicadores más sensibles del grado de contaminación fecal <sup>(3)</sup>.

Esta contaminación fecal del agua se convierte en un problema mayor cuando la presencia de dichas bacterias que aunque sean de la flora normal intestinal, en determinadas circunstancias pueden comportarse como patógenos y portadores de resistencia a determinados antibióticos <sup>(3)</sup>.

Es por estas razones que se hace necesario realizar un estudio que nos permita la identificación de coliformes fecales en agua de pozos en cuatro comunidades del sector sur de León, pudiendo así aportar a los estudios que se han realizado y de igual forma a la población en general en la toma de medidas sanitarias para evitar la contaminación de su fuente de agua.



## 2 ANTECEDENTES

Son muchos los estudios que se realizan en aguas en donde la mayoría de estos se concentran en las de uso humano ya que la contaminación por cualquier agente afecta directamente la salud de la población, ya sea a corto o a largo plazo, dentro de estos agentes podemos mencionar agentes tóxicos y microbianos, estos últimos se deben a la grave contaminación fecal producto del mal tratamiento de las aguas residuales, construcción de letrinas cerca de pozos de uso doméstico, fecalismo por parte de los individuos y de animales, afectándose así las fuentes de abastecimiento del agua <sup>(4)</sup>.

Numerosas investigaciones revelan la grave contaminación hídrica tanto superficial como profunda donde se usan como indicadores bacterias de la flora intestinal normal que son eliminadas en las heces dentro de este grupo de bacterias tenemos coliformes totales y fecales, ejemplo de ello es uno realizado entre julio del 2005 y enero del 2006 en 8 playas costeras de Lima donde se utilizaron los coliformes totales(CT) y *E.coli*, se aplicó la norma peruana y de las 8 playas evaluadas en el mes de julio todas fueron aceptables para el baño tomando como referencia los CT; pero si se utiliza como indicador *E. coli* 2 son inaceptables. En el mes de enero 2006 aplicando la misma norma, 3 son inaceptables según CT; pero si se utiliza como indicador *E. coli*, las 8 son inaceptables <sup>(3)</sup>.

En Nicaragua un estudio realizado en la Laguna de Masaya por Mairena (2004), a través del Centro para la investigación en Recursos Acuáticos de Nicaragua, CIRA-UNAN-Managua, analizaron el grado de contaminación de esta laguna en cuatro puntos. Se tomaron 100 ml de agua en cada punto. La Bajada, Nindirí; fue el primer punto de estudio, donde se encontró 187 UFC/100 ml de coliformes fecales. El segundo punto fue donde la Laguna recibe las descargas de aguas servidas, aquí se detectó 18,972 UFC/100ml. El tercer punto fue el centro de la Laguna, aquí se aislaron 50 UFC/100ml y el cuarto fue Venecia en este sitio se encontraron 20 UFC/100 ml. El estudio concluyó que la laguna se encuentra contaminada en sus diferentes puntos <sup>(5)</sup>.

En el municipio de Chinandega en el primer semestre del 2006 se determinó la presencia y concentración de residuos de plaguicidas y contaminantes biológicos en agua de pozos para consumo humano en localidades de antiguas plantaciones bananeras con agua de quince pozos excavados a mano que abastecen a campesinos en ese municipio, se tomó



como indicador de contaminación fecal la *E. coli*, donde se pudo señalar que de los 15 solo 2 resultaron negativos para esta bacteria <sup>(6)</sup>.

En el municipio de León se realizó un estudio en el sector de Troilo (2003) en donde se determinó la calidad bacteriológica del agua de pozos domésticos durante la época seca y lluviosa, obteniéndose que el 100% de los pozos tuvo un nivel alto de contaminación de coliformes totales y un 90% de contaminación fecal. Un 10% de los pozos estaban medianamente contaminados de coliformes fecales. Estos valores están por encima de los valores establecidos en las normas CAPRE <sup>(7)</sup>.

El estudio más reciente fue realizado en el año 2007 este con el objetivo de determinar la calidad del agua de consumo en las comunidades del sector rural noreste del municipio de León, el estudio reveló que de 64 pozos analizados el 61% se aisló *E. coli* y en menor porcentaje otras enterobacterias. En general el 99% mostraron contaminación fecal y solo 1% no se aisló bacterias indicadoras de contaminación fecal <sup>(8)</sup>.



### 3 JUSTIFICACIÓN

Las comunidades rurales del sector sur de la ciudad de León presentan un acceso difícil para cubrir todas las necesidades de abastecimiento de agua potable entre la población, por lo que se abastecen de pozos autoconstruidos artesanalmente. Los cuales, debido a varias condiciones ambientales y topográficas que presentan, existe la posibilidad de que el agua esté contaminada por materias fecales y el tratamiento suministrado por los habitantes haya resultado ineficaz, representando así un riesgo de salud a la población, que constituye una carga financiera que obliga a gastos enormes para el control de brotes epidémicos y la atención médica.

Debido a que los coliformes son un parámetro importante como indicador de contaminación fecal, tanto humano como animal y que las normas CAPRE se basan en la presencia o no de estas bacterias en el agua, nos permite utilizarlas en el análisis bacteriológico de la misma.

Por lo antes descrito y considerando que la contaminación del agua de consumo humano pueden ser un vehículo importante en la causa de enfermedades, sobre todo gastrointestinales, nos motivó realizar el presente estudio con el propósito identificar coliformes fecales en agua de pozos que son utilizadas como fuentes de abastecimiento en las comunidades Eugenio Pérez, Mercedes Varela, Talchocote y El Arbolito, ubicadas en el sector sur del municipio de León.



## 4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando que la OMS y las normas CAPRE, establecen que un agua es apta para el consumo humano, cuando se encuentra exenta o tiene niveles permisibles de microorganismos patógenos entéricos; aún más en comunidades que se abastecen de pozos contruidos artesanalmente que no son cubiertos por la empresa ENACAL, tales como Eugenio Pérez, Mercedes Varela, Talchocote y El Arbolito, es por ello que nos hemos planteado investigar:

¿Cuál es la carga de bacterias indicadoras de contaminación fecal (coliformes) en agua de pozos utilizadas para el consumo en cuatro comunidades (Mercedes Varela, Eugenio Pérez, Talchocote y El Arbolito) del sector sur de la ciudad de León, Agosto–Octubre 2011 /Agosto-October 2012?



## 5 OBJETIVOS

### 5.1 General

Determinar la carga bacteriana e identificar la especies de Coliformes (totales y fecales) en agua de pozos de cuatro comunidades (Mercedes Varela, Eugenio Pérez, Talchocote y El Arbolito) del sector sur de la ciudad de León, Agosto-October 2011 /Agosto-October 2012.

### 5.2 Específicos

1. Describir algunas características ambientales de los sitios de colección de las muestras.
2. Estimar la carga bacteriana de coliformes fecales según su NMP, para considerar la potabilidad del agua de pozos, según parámetro microbiológicos contemplados en las normas CAPRE.
3. Identificar el tipo de coliformes aislados y su distribución en las comunidades en estudio.



## 6 MARCO TEÓRICO

### 6.1 Generalidades

El agua es el líquido esencial para todos los seres vivos incluido el hombre y el más importante en el desarrollo, por esta razón es el recurso que más elementos de contaminación y desechos tiene. El agua, considerada como un medio vivo, es un sistema ecológico en movimiento, la cantidad existente no varía en el mundo, sino que permanece constante, el 98% lo constituye el agua de mar y el 2% el agua dulce, la mayoría está en los casquetes polares y en el agua superficial de los ríos, lagos, aguas subterráneas y el agua suspendida en la atmósfera <sup>(7,9)</sup>.

A medida que la población mundial crece, la necesidad del agua se hace más importante para el hombre, la disponibilidad de agua es un factor fundamental para el desarrollo económico y la salud pública, los abastecimientos de agua son considerados inversiones básicas de interés general. La contaminación es un proceso que altera el equilibrio físico, químico o biológico del agua, y es responsable de su calidad haciéndola inadecuada para sus usos y aplicaciones <sup>(7)</sup>.

Una fuente de agua contaminada puede actuar como vehículo de transmisión de agentes, estos pueden ser microorganismos tanto patógenos como no patógenos, así como sustancias que pueden ser letales para el ser humano. La principal forma de contaminación por microorganismos es a través de la materia fecal de humanos o animales, ésta puede alcanzar accidentalmente una fuente de abastecimiento, siendo la forma más común el ingreso a través de los sistemas de pozo ciego a capas de agua profundas <sup>(9)</sup>.

El Código Alimentario Argentino (CAA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) en sus Guías para la calidad del agua potable, la Directiva 98/83/CE1 y otras normas internacionales, establecen o recomiendan requisitos de calidad para el agua de consumo humano. En general, la normativa establece que el agua es apta bacteriológicamente para consumo, si se encuentra exenta de microorganismos patógenos de origen entérico y parasitario intestinal <sup>(9)</sup>.



La presencia de microorganismos patógenos en el agua de bebida es un riesgo que se incrementa en las áreas marginales de mayor densidad poblacional o en zonas sin disponibilidad de agua potable, está relacionado con cambios dramáticos en el ambiente y en la población incrementados por los procesos de urbanización, la expansión de la pobreza, la ocupación de regiones no habitadas anteriormente, las migraciones no controladas con gran número de refugiados y desplazados, la facilidad y rapidez en los desplazamientos y el movimiento creciente de animales y de productos de origen animal <sup>(9,1)</sup>.

El riesgo de contaminación tanto a nivel humano como ambiental hace necesario el control de la presencia de microorganismos en el agua. Determinar el tipo de microorganismos presentes y su concentración proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad del agua y para la toma de decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de ecosistemas <sup>(1)</sup>.

Los controles rutinarios de la totalidad de los microorganismos hídricos potencialmente riesgosos para la salud, resultan difícil de realizarse debido a la gran variedad de bacterias patógenas cultivables, a la complejidad de los ensayos de aislamientos y a la presencia en baja concentración de varias especies altamente agresivas, sin que el orden detallado indique prioridad. Por esta razón, los análisis bacteriológicos apuntan a la búsqueda de microorganismos indicadores de contaminación fecal y se centralizan en la cuantificación de coliformes. Este grupo está integrado por enterobacterias, siendo *E. coli* el indicador universal de contaminación fecal <sup>(9)</sup>.

La OMS recomienda utilizar como indicadores de contaminación fecal para aguas a *E. coli* y *Enterococcus*, debido a que *E. coli* es uno de los indicadores más sensibles del grado de contaminación en las cercanías de los sitios donde son eliminadas las excretas y los *Enterococcus* sobreviven más tiempo en agua que los coliformes fecales, simulando mejor las características de sobrevivencia de Rotavirus, el cual es uno de los agentes etiológicos de gastroenteritis de mayor prevalencia <sup>(3)</sup>.

## 6.2 Agua subterránea

El agua subterránea se encuentra entre grietas y espacios que hay en la tierra, incluyendo arena y piedra. El espacio donde se acumula el agua en las grietas se llama zona saturada. La



parte de arriba de esta área se le conoce como el nivel freático. El agua subterránea se acumula en capa de tierra, arena y rocas conocidas como acuíferos, esta consiste típicamente en gravillas, arena, arenilla y piedra caliza. Estos materiales son permeables porque tienen poros grandes que permiten que el agua fluya con mayor rapidez <sup>(7)</sup>.

En algunas partes del mundo hay problema de falta de agua, porque la fuente subterránea se utilizó más rápido de lo que se recargó naturalmente. En otros lugares el agua no se puede usar porque se contaminó como resultado de actividades del ser humano, así como contaminantes que provienen de fábricas, productos agrícolas o químicos utilizados por las personas en sus hogares y patios, estos también pueden provenir de tanques de almacenamiento de agua, letrinas, pozos sépticos, lugares con desperdicios peligrosos y vertederos <sup>(7)</sup>.

### **6.3 Contaminación de las aguas subterráneas**

Uno de los problemas que más preocupa a la población mundial es la creciente contaminación del agua tanto de los mantos acuíferos superficiales como profundos, los principales contaminantes se encuentran en el agua por actividades domésticas como los jabones detergentes, suavizantes etc, y los contaminantes producidos en las actividades industriales como el mercurio, el cromo los metales pesados y los compuestos orgánicos derivados de los hidrocarburos como el arsénico el cianuro y el antimonio. Otra forma de contaminación del agua subterránea es la contaminación por microorganismos ya sean parásitos, virus y bacterias de origen fecal, que procede de los desperdicios de los pozos sépticos, letrinas, fecalismo y excretas de animales <sup>(7)</sup>.

El agua se contamina cuando estas sustancias tóxicas y microorganismos han estado en el suelo por un largo periodo de tiempo. Estos se filtran en el suelo y llegan a contaminar los acuíferos. El beber de esta agua contaminada podría causar problemas serios de salud; enfermedades como la hepatitis y disentería pueden ser causadas por la ingestión de ésta. <sup>(7)</sup>

La importancia de las infecciones hídricas es evidente. La calidad de agua es un factor fundamental para garantizar la salud pública. El agua contaminada se define como aquella que resulta inadecuada para su uso. El análisis microbiológico de ésta brinda información correcta de la calidad sanitaria que presenta <sup>(7)</sup>.



Algunas veces la contaminación ocurre de forma natural, pero usualmente es el resultado de las actividades humanas en la superficie de la tierra. El origen de algunos contaminantes presentes en el agua pueden ser microorganismos que afectan principalmente a las aguas superficiales, prácticamente se limita a bacterias que se eliminan por heces y orinas, estas pueden llegar a propagarse en cantidades suficientes y producir enfermedades diarreicas. Dentro de los agentes microbianos tenemos virus, parásitos y bacterias (coliformes totales y fecales), que pueden provenir de instalaciones de tratamientos de aguas negras, sistemas sépticos, operaciones agrícolas de ganadería y fauna <sup>(7)</sup>.

Debido a que el agua subterránea se mueve lentamente, puede pasar varios periodos en que un contaminante liberado a la superficie de la tierra del acuífero, sea detectado en el agua del mismo a cierta distancia del sitio de contaminación. Los tiraderos de basura como fuente de contaminación que al estar en el suelo, cuando la lluvia cae sobre éstos, el líquido contaminado se filtra y sigue su viaje hasta los mantos acuíferos, que son los depósitos naturales del agua <sup>(7)</sup>.

#### **6.4 Microorganismos indicadores de contaminación fecal**

Son aquellos cuya presencia significa que la fuente de agua estuvo o está siendo expuesta a condiciones que conllevan a la contaminación con excretas, permitiendo la llegada o acceso de microorganismos que pueden ser patógenos o no patógenos, se acepta de forma universal que un indicador debería cumplir los siguientes criterios <sup>(7,10)</sup>.

1. Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos.
2. Estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos.
3. Estar presente cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están.
4. Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación.
5. Debe ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos.
6. Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas (su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal).
7. Debe ser fácil de aislar y cuantificar.
8. No deben ser patógenos.



No existe ningún microorganismo que cumpla con todos estos requisitos de un indicador ideal, por lo que se toman los que más de estas características cumplen. Teniendo en cuenta estos criterios, los indicadores microbiológicos de contaminación fecal clásicos han sido aquellos microorganismos de la flora saprofita del intestino, que se encuentran en concentraciones muy abundantes y en el mayor número de individuos de la población <sup>(1)</sup>.

La mayor parte de ensayos utilizados para evaluar la calidad microbiológica del agua se han diseñado para la determinación de microorganismos indicadores más que para patógenos, ya que la presencia de dichos organismos también indica la existencia de materia fecal, o sea que existe la posibilidad de que estén presentes organismos patógenos intestinales. A la inversa, la ausencia de organismos asociados fecales indicará, asimismo, que con toda probabilidad no habrá organismos patógenos; por lo que la detección de estos indicadores es la manera más eficiente de asegurar la calidad higiénica del agua <sup>(10,11)</sup>.

También es importante vigilar la calidad bacteriana del agua natural, no solo con miras a evaluar el grado de contaminación, sino igualmente para la selección de la mejor fuente de abastecimiento y tratamiento requerido <sup>(10,11)</sup>.

Entre los microorganismos que se usan como indicadores bacterianos de contaminación fecal está todo el grupo de bacterias coliformes: *E. coli* y los organismos coliformes que han sido descritos como "coliformes fecales", *Enterococcus* y *Clostridios* reductores de sulfito, en especial el *Clostridium perfringens*. Las bacterias anaeróbicas, como las bifidobacterias y Bacteroides, son más abundantes que las bacterias coliformes en las heces; sin embargo, aún no se dispone de métodos sistemáticos que permitan su detección y enumeración <sup>(11)</sup>.

Así pues, los bacteriólogos que analizan el agua han ampliado las definiciones de especies y grupos que sirven de indicadores desde un punto de vista práctico más que taxonómico, y que principalmente se basa en su detección y enumeración en el agua <sup>(11)</sup>.

Los grupos de microorganismos más habituales de contaminación fecal provienen de la flora intestinal de humanos y diversos animales. Esto es importante, dado a los posibles riesgos sanitarios, que pueden dar lugar a brotes epidemiológicos. Entre los cuales encontramos coliformes totales y coliformes fecales (principalmente *E. coli*) y *Enterococcus* <sup>(1)</sup>.



## 6.5 Bacterias coliformes

Coliforme significa en forma de coli, refiriéndose a la bacteria principal del grupo, la *E. coli* descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor Von Escherich en 1860. Los géneros que componen este grupo son *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Edwardsiella*. Todas pueden existir como saprofitas independientemente, o como microorganismos intestinales, excepto el género *Escherichia* cuyo origen es sólo fecal. Esto ha llevado a distinguir entre coliformes totales (grupo que incluye a todos los coliformes de cualquier origen) y coliformes fecales (término que designa a los coliformes de origen exclusivamente intestinal) con capacidad de fermentar lactosa también a 44,°C <sup>(9)</sup>.

La existencia de una contaminación microbiológica de origen fecal se restringe a la presencia de coliformes fecales, mientras que la presencia de coliformes totales que desarrollan a 35°C, sólo indica existencia de contaminación, sin asegurar su origen <sup>(9)</sup>. Los *Enterococcus faecalis* cuyo desarrollo ocurre entre los 35 y 44°C, se usan como indicadores complementarios de contaminación fecal <sup>(9)</sup>.

## 6.6 Caracteres bioquímicos de los coliformes

Agrupar a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas:

- a. Ser bacilos Gram negativas,
- b. Oxidasa negativas
- c. No formar esporas.
- d. Ser aerobias o anaerobias facultativas
- e. Fermentar la lactosa de 35 a 37 °C, produciendo ácido, gas y aldehído en un periodo de 24 a 48 horas.

Por definición las bacterias coliformes presentan actividades de la betagalactosidasa. Entre ellos se encuentran los del género *Escherichia* y en menor grado, algunas cepas de *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella* <sup>(7)</sup>.



## 6.7 Hábitat

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino humano y de los animales de sangre caliente; aunque también se encuentran distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelo, semillas y vegetales <sup>(12)</sup>.

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los que se encuentran en el ambiente son de origen fecal sin embargo existen muchos coliformes de vida libre <sup>(12)</sup>.

## 6.8 Coliformes como indicadores

Tradicionalmente se le ha considerado como indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano en razón de que en los medios acuáticos los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y porque su origen es principalmente fecal. Por tanto, su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura. Así mismo su número en el agua es proporcional al grado de contaminación fecal; mientras más coliformes se aíslan mayor es la gravedad de la descarga de heces <sup>(12)</sup>.

Los coliformes no deberían ser detectados en sistemas de tratamiento de abastecimiento de agua y si así ocurriese, ello es indicio de que el tratamiento fue inadecuado o de que se produjo la contaminación posteriormente. En este sentido, la prueba de coliforme se usa como indicador de la eficiencia del tratamiento. La ausencia de estos últimos en agua de superficie que solamente ha sido desinfectada, no necesariamente significará que hay ausencia también de parásitos, virus y bacterias no coliformes que puede ser patógenas <sup>(10)</sup>.

## 6.9 Coliformes fecales

Es un subgrupo de bacterias termotolerantes que se diferencia de los coliformes totales por la característica de crecer a una temperatura superior. Las bacterias termotolerantes diferentes a *E. coli* pueden encontrarse en aguas con materia orgánica y vegetal, efluentes industriales y suelos, por tanto, no se denominan coliformes fecales <sup>(1, 10,11)</sup>. La concentración de coliformes termotolerantes y *E. coli* está directamente relacionada. Debido a que la presencia de coliformes termotolerantes puede ser detectada fácilmente y



en poco tiempo, éstas representan un papel secundario como indicadores de contaminación fecal y de eficiencia en los tratamientos de desinfección del agua <sup>(10)</sup>.

Es preciso tener en cuenta que las bacterias coliformes no provienen solo de las heces de los animales de sangre caliente, sino también de la vegetación y el suelo. Bajo ciertas condiciones, dichas bacterias pueden también persistir en nutrientes que provienen de materiales de construcción no metálicos. Por las razones expuestas, la presencia de algunos organismos coliformes (1-10 microorganismos por 100 ml), especialmente en aguas subterráneas que no hayan sido tratadas, puede tener poca importancia desde el punto de vista sanitario, siempre que haya ausencia de organismos coliformes fecales <sup>(1,11)</sup>.

## 6.10 Bacterias que integran el grupo coliforme

- *Escherichia coli*

Esta bacteria es un miembro de la familia *Enterobacteriaceae* y se caracteriza por poseer las enzimas galactosidasa y glucoronidasa. Crece a 44-45 °C en medios tensoactivos, fermenta la lactosa y el manitol con producción de ácido y gas, e indol a partir del triptófano. Algunas cepas crecen a 37 °C pero no a 44-45 °C y otras no producen gas <sup>(10)</sup>.

Tienen un origen específicamente fecal, pues está siempre presentes en grandes cantidades en las heces humanas, de los animales, y rara vez se encuentran en el agua o el suelo que no hayan sufrido algún tipo de contaminación fecal. Su concentración va desde 10 bacterias por gramo de heces y es considerada como el mejor indicador de contaminación fecal. Se encuentra en drenajes, aguas residuales y suelos susceptibles a contaminación. Debido a que las heces fecales de animales pueden transmitir microorganismos patógenos infectivos para el hombre, nunca debe menospreciarse la presencia de *E. coli* en una muestra de agua <sup>(10,11)</sup>.

Otra relevancia en la identificación de *E. coli* es su alto grado de poseer algún tipo de resistencia a varias familias de antimicrobianos, que representa un reto en la lucha contra esta bacteria en favorecer la selección de medicación adecuada para su tratamiento <sup>(13)</sup>.

Algunas cepas de *E. coli* son patógenas para el hombre y los animales. La patogenicidad depende si esta posee o no elementos genéticos que codifican para diferentes factores de virulencia. Si no lo poseen permanecen como comensales benignos, pero si adquieren estos factores por algún mecanismo de transferencia de material genético, producen enfermedades



gastrointestinales. En las personas adultas con un buen estado de salud, las enfermedades suelen ser leves y duran poco tiempo. En bebés, niños, ancianos y personas con sistema inmunológico deprimido la infección es más severa <sup>(14)</sup>.

- ***Klebsiella spp.***

Son bacilos inmóviles, capsulados, Gram negativos, anaerobias facultativa y fijadoras de nitrógeno. Las especies de este género bacteriano son un frecuente patógeno humano y pueden liderar un amplio rango de estados infecciosos, principalmente neumonía <sup>(15,16)</sup>.

- ***Enterobacter spp***

Es un género de bacterias Gram negativas, aerobias facultativas. Forma parte de la flora normal del intestino, rara vez es patógeno primario, excepto en infecciones nosocomiales, de las vías urinarias. Muchas de estas son causas de infecciones oportunistas, otras viven en la materia orgánica muerta o en el ser humano como microbiota normal del intestino <sup>(17)</sup>.

- ***Citrobacter spp***

Bacilos Gram negativos aerobios, móviles, fermentadores variables de la lactosa, pueden ser citrato positivos o negativos, algunos tienen antígenos somáticos O, flagelar H y de superficie K, lo que hace que den reacciones cruzadas con otras Enterobacterias <sup>(17)</sup>.

Se encuentran frecuentemente en el agua, suelo, comida y el tracto intestinal de animales y humanos como flora saprofita. Estos microorganismos pueden producir, especialmente en huéspedes inmunodeprimidos, infecciones urinarias, meningitis neonatal y abscesos cerebrales. Destruyen las microvellosidades, formando lesiones muy características denominadas de adherencia y eliminación <sup>(17)</sup>.

## **6.11 Otras bacterias presentes en agua contaminada**

Otras especies patógenas importantes para el hombre que se pueden encontrar en muestras de agua pertenecen a los géneros:

- ***Pseudomona***

Son bacilos rectos o ligeramente curvados, Gram negativos, oxidasa positiva, lactosa negativa, aeróbicas estrictas, aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor



de electrones, no forman esporas, son móviles. Algunas especies sintetizan una capsula de exopolisacáridos que facilita la adhesión celular, aumentando así su patogenicidad <sup>(14)</sup>.

Las cepas del género *Pseudomona* son capaces de procesar, integrar y reaccionar a una amplia variedad de condiciones cambiantes en el medio ambiente, lo cual le permite colonizar ambientes y nichos que difícilmente son colonizables por otros microorganismos. Por ello no es sorprendente que se considere a esta bacteria un microorganismo clave en la contaminación por materia orgánica (heces), jugando, por tanto, un papel esencial mantenimiento de la calidad del agua <sup>(9)</sup>.

La morfología y el hábitat de muchas *Pseudomonas* coinciden con el de bacterias entéricas como *E. coli*. La especie de mayor relevancia sanitaria es la *Pseudomona aeruginosa*, que es un patógeno oportunista por excelencia y el agente etiológico principal de infecciones en vías urinaria, intestino, oído y heridas. Por su relativa resistencia al cloro es considerada un indicador de eficiencia de la cloración del agua. Su presencia en sistemas de almacenamiento, tanque, y cisternas, responde a un estado deficiente de dichas instalaciones. El control de ésta bacteria, al igual que el de bacterias aeróbicas, debe intensificarse en redes expuestas a contaminación o cuando se comprueba cloración deficiente <sup>(9)</sup>.

- ***Proteus***

Es un género de bacterias gram negativas, pleomórficas, no esporuladas, ni capsuladas, no fermentan la lactosa. Algunas especies son móviles. Son oxidasa negativas y ureasa positivas. Con la excepción de *P. mirabilis*, todos los *Proteus* reaccionan positivos con la prueba del indol <sup>(14)</sup>.

Estas bacterias son residentes del tracto intestinal del hombre y algunos animales. Causan infecciones urinarias, enteritis (especialmente en niños), abscesos hepáticos, meningitis, otitis media y neumonía. Es un frecuente invasor secundario de quemaduras y heridas, así como infecciones nosocomiales <sup>(14)</sup>.

- ***Acinetobacter***

Constituido por cocobacilos gram negativos frecuentemente agrupados en pares, aerobios estrictos, inmóviles y no poseen enzimas para convertir los nitratos en nitritos <sup>(14)</sup>.



Están ampliamente distribuidos en la naturaleza y en el ambiente hospitalario. Son el segundo aislamiento más común luego de *Pseudomona aeruginosa*. Son capaces de sobrevivir en la mayoría de superficies secas y húmedas, pueden estar transitoriamente en la piel humana. Son generalmente considerados como no patogénicos pero pueden causar infecciones en individuos debilitados. La mayoría de las infecciones adquiridas en los hospitales afectan el tracto respiratorio, urinario y heridas, ya sea de estos sitios o por su crecimiento en dispositivos como catéteres, las infecciones pueden progresar al torrente sanguíneo <sup>(17)</sup>.

### **6.12 Pozos excavados: fuente de agua para consumo humano**

Constituyen una de las formas más comunes utilizadas en todo el mundo, pueden contaminarse con bastante facilidad por la presencia de basureros, con las sustancias provenientes de evacuaciones de excretas, tanto humanas como animales <sup>(18)</sup>.

Según el programa nacional de vigilancia sanitaria del agua para consumo humano, emitido por el MINSA, Mayo 2011, los pozos cavados a mano deben tener las siguientes características de construcción:

1. Deben ser ubicados en áreas que no sean inundadas por corrientes superficiales y agua de lluvia.
2. En un radio de 20 m como mínimo a partir del pozo, no deben exceder focos potenciales de contaminación como basurero, fosas sépticas, vertidos de aguas servidas, letrinas y charcas.
3. En un radio de 100 m a partir del pozo no debe existir ninguna explotación acuífera para uso de riego industrial.
4. Es recomendable que los pozos excavados estén ubicados en profundidades mayores que los focos contaminantes, tales como: letrinas y sumideros.
5. Los pozos deben tener paredes interiores impermeables construidas ya sea como piedra bolón, ladrillo cuarterón y otros materiales. Esta debe tener una profundidad mínima de 3 m a partir del nivel de la tierra.
6. La pared interior debe sobresalir a partir de la superficie del terreno como mínimo 0.40 m.
7. El diámetro mínimo de estos pozos excavados es de 1 m.



8. Los pozos excavados deben estar protegidos por medio de una tapa (loza de concreto reforzado), con un espesor máximo de 0.10 m. con su caja de registro correspondiente por la que puede pasar la persona. Los bordes de la caja de registro deben sobresalir como mínimo 0.08 m de la superficie de la zona de concreto y su tapa debe cubrir dicho reborde.
9. Alrededor del pozo tiene que estar protegido por medio de plancha de concreto, de 0.15 m de espesor, lo cual sirve de protección sanitaria del pozo, evitando así que se produzcan lodazales alrededor del mismo. Para evitar la entrada de animales a los pozos, estos deben estar protegidos con una cerca de alambre o de cualquier otro material <sup>(19)</sup>.

### 6.13 Tasa relativa de bacterias contaminantes en agua

El comité coordinador regional de las instituciones de agua potable y saneamiento de Centroamérica, Panamá y República Dominicana (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 consumo <sup>(20)</sup>.

En los análisis de calidad de agua los valores aceptados para parámetros microbiológicos esta en dependencia de las normas utilizadas por instituciones que protegen la salud. En el caso de Nicaragua, éstos análisis se rigen por las normas CAPRE aplicadas a nivel centroamericano <sup>(20)</sup>.

#### **CAPRE establece lo siguiente:**

**Valor recomendable:** corresponde a la concentración de sustancia o densidad de bacterias donde no hay riesgo para la salud de los consumidores <sup>(20)</sup>.

**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 <sup>(20)</sup>.

En cuanto al nivel de contaminación de las aguas, el número de unidades formadoras de colonias (UFC) para coliformes fecales según las normas CAPRE tienen que ser 0 y para



coliformes totales menor o igual a 4 UFC <sup>(20)</sup>. La presencia de coliformes totales debe interpretarse de acuerdo con el tipo de aguas: deben estar ausentes en 95% de las muestras de aguas potables tratadas. En caso de estar presentes, su número no puede ser superior a 2-4 coliformes. Esta contaminación a pesar de ser baja, no puede ocurrir en tres muestras recolectas en días consecutivos <sup>(1)</sup>.

El empleo de la relación CF/E (Coliformes Fecales/*Enterococcus*) puede ser de gran utilidad para la determinación del origen humano o animal de la contaminación. Cuando el cociente CF/E es mayor de 4 se trataría de una contaminación fecal de origen humano; cuando CF/E es menor de 0,7 la contaminación es de origen animal; y en el intervalo entre 4 y 0,7 no se puede interpretar el origen de la contaminación, e incluso puede tratarse de una contaminación mixta humana-animal <sup>(1)</sup>.

#### **6.14 Análisis bacteriológico en aguas de consumo humano**

Los exámenes bacteriológicos ofrecen la prueba más sensible para detectar la contaminación fecal reciente, y por ende potencialmente más peligroso; de ese modo, proporcionan una evaluación sanitaria de la calidad del agua, que tiene un grado de sensibilidad y especificidad que no se logra en los análisis químicos de rutina. Es imprescindible que el agua sea sometida a exámenes regulares y frecuentes por cuanto la contaminación puede ser intermitente y no haber sido detectada por el examen de una sola muestra. Por este motivo, es importante que el agua de pozo sea sometida con frecuencia a un examen simple y no que se le someta, de vez en cuando, a un examen más complicado o a toda una serie de pruebas. Siempre es prioritario garantizar que los exámenes bacterianos habituales se realicen de forma permanente aún cuando las instalaciones y los recursos humanos son limitados <sup>(1)</sup>.

Debe tenerse en cuenta, que todo lo que un análisis bacteriológico puede probar, es que en el momento del examen, se puede o no demostrar presencia de contaminación o de bacterias indicativas de contaminación fecal en una determinada muestra de agua utilizando determinados métodos de cultivo. Además, los resultados de los exámenes bacteriológicos de rutina siempre habrán de interpretarse a la luz de un conocimiento cabal de los sistemas de abastecimiento de agua, incluyendo su fuente, su tratamiento y su distribución <sup>(11)</sup>.

Toda vez que ocurran cambios en las condiciones establecidas, que conduzcan al deterioro de la calidad del agua distribuida aún en los casos en que sólo haya indicios de una mayor



posibilidad de contaminación, deberá intensificarse la frecuencia de los exámenes bacteriológicos, a fin de que con una serie de muestras tomadas de lugares bien escogidos, sea posible identificar el riesgo y adoptar las medidas correctivas del caso <sup>(11)</sup>.

Las veces en que se perciba, a través de inspecciones sanitarias incluidas las de tipo visual, que un sistema de abastecimiento de agua está obviamente expuesto a la contaminación, deberá emprenderse una acción de tipo correctivo independientemente de los resultados que aporten los exámenes bacteriológicos. En el caso de sistemas rurales que no distribuyen el agua por tuberías es probable que las inspecciones sanitarias sean la única forma de examen que pueda efectuarse a intervalos regulares <sup>(11)</sup>.



## 7 DISEÑO METODOLÓGICO

### 7.1 Tipo y área de estudio

El presente estudio es de tipo Descriptivo de corte transversal, realizado en cuatro comunidades localizadas en el sector sur de la ciudad de León (Mercedes Varela, Eugenio Pérez, Talchocote y El Arbolito); dado que en dichas comunidades se tiene como fuente principal de abastecimiento de agua los pozos (individuales y/o comunales), que en su mayoría es sustraída mediante la utilización de bombas artesanales o eléctricas. Gran parte de la población se dedica a la agricultura y crianza de animales que circulan libremente en el patio. Las deposiciones de excretas son realizadas en letrina y servicios con fosa séptica.

### 7.2 Muestra de estudio

Constituida por un total de 57 muestras de aguas de pozos, representando las cuatro comunidades, escogidos de manera aleatoria y por conveniencia, aprovechando la factibilidad del acceso y la distancia para su recolección. Las muestras fueron recolectadas durante los meses de Agosto a Octubre 2011 [comunidades Mercedes Varela (n=10), Eugenio Pérez (n=10), Talchocote (n=10)] y Agosto a Octubre 2012 [comunidades Mercedes Varela (n=7) y El Arbolito(n=20)].

### 7.3 Criterios para el análisis

#### Criterio de inclusión

- Que el agua de los pozos sea utilizada para el uso doméstico por los pobladores de dichas comunidades.
- Sea de fácil accesibilidad para su recolección.
- Que el propietario del pozo diera su consentimiento para la toma de muestras (anexo1).

#### Criterios de exclusión

- Todos aquellos pozos que no cumplan con los requisitos anteriores.

### 7.4 Fuente de información

A través de una ficha que contenía preguntas sobre los datos generales del suministro de agua, consultada con habitantes de la comunidad en estudio, y resultados obtenidos en los análisis realizados en el laboratorio (anexo 2).



## 7.5 Recolección y transporte de las muestras

Para la recolección de las muestras de agua se visitaron las cuatro comunidades seleccionadas; se les solicitó el consentimiento verbal y escrito a los dueños de pozo, así como a los usuarios de agua de pozos comunales para la recolección de las muestras. Debido a la profundidad que presentaban los pozos, las muestras fueron extraídas siguiendo la misma forma de obtención de los pobladores, la cual se realiza manual (baldes-mecates) o bomba (eléctrica y de presión) con tubería. Para el caso donde se utiliza bomba, se dejó correr entre 4 ó 5 minutos cierta cantidad de agua (previa limpieza con alcohol sobre la punta de la canilla de pase), evitando todo contacto con los dedos sobre la boca del frasco. Las muestras fueron recogidas en frascos estériles con capacidad de 500 ml, sin preservantes. Se identificó debidamente, de preferencia fijando una etiqueta rotulada al recipiente. Las muestras se transportaron al departamento de Microbiología y Parasitología de la UNAN, León en termo conteniendo refrigerante para brindarle las condiciones de una temperatura entre 4-8°C.

## 7.6 Análisis bacteriológico

Una vez en el laboratorio todas las muestras fueron procesadas para la detección de coliformes totales y fecales utilizando la técnica de tubos múltiples (NMP), que nos permitió determinar la carga bacteriana, y realización de cultivos y pruebas bioquímicas para la identificación de la especie bacteriana presente. Dicho análisis fue realizado en tres pasos:

- Prueba presuntiva
- Prueba confirmativa
- Prueba completa

### • Prueba presuntiva

Se realizó por la técnica del número más probable (NMP). Para los cual se utilizó caldo MacConkey con púrpura de bromocresol, para aprovechar la capacidad de estos microorganismos de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas. El método consistió en preparar 9 tubos con dicho caldo por cada muestra y divididos en grupos de tres (anexo3):

- 3 tubos de caldo (10ml) MacConkey+ 10ml del agua en estudio.
- 3 tubos de caldo (10ml) MacConkey + 1ml del agua en estudio.
- 3 tubos de caldo (10ml) MacConkey+ 0.1ml del agua en estudio.



Todos estos tubos contenían en su interior campanas de Durham, con el objetivo de presenciar gas, producto de la fermentación. Luego del periodo de incubación (37°C durante 24 horas) se procedió a la lectura. Se consideraron positivos los tubos que tras la incubación produjeron turbidez, gas en la campana de Durham y viraje en el color del caldo: la producción de ácido se visualizó al virar el medio de púrpura a amarillo, la ausencia de estos parámetros se consideró como prueba negativa (Anexo 3).

- **Prueba confirmativa: Determinación y recuento de coliformes fecales**

A todos los tubos que mostraron producción de ácido y gas al final de las 24 horas de incubación en la prueba presuntiva, se les realizó la prueba confirmativa para evidenciar la presencia de *E. coli* en base a la característica diferencial de resistir temperaturas más altas que otros coliformes totales, por lo que a partir de los tubos positivos se transfirieron los volúmenes correspondientes (10, 1, 0.1 ml) a nuevos tubos del medio caldo MacConkey con púrpura de bromocresol, se incubaron por 24 horas de 44°C y se determinó el NMP de coliformes fecales/100 ml de agua (Anexo 3).

Se determinó el NMP, el cual se basa en ciertas fórmulas de probabilidad para obtener una estimación del número aproximado de bacterias coliformes totales/100 ml de agua a partir de los tubos positivos (Anexo 4).

**Prueba completa:** Dentro del grupo coliformes se investigó la presencia principalmente de *E. coli*, por ser el coliforme más estrechamente ligado a contaminación fecal <sup>(10)</sup>. Sin embargo la presencia de otros posibles contaminantes fue también identificada.

De los tubos positivos del caldo MacConkey incubados a 37°C (descrito antes), se realizó siembras (volumen de 10µl) en platos de agar Cromogénico, que permitió diferenciar entre colonias de *E. Coli* y otros microorganismos, dado a la presencia de las enzimas D-Galactosidasa y D-Glucoronidasa que se torna en una coloración azul-púrpura característica y rosado (presencias solo de D-Galactosidasa) en el medio luego de un periodo de incubación a 37°C por 24 horas (Anexo 5).

Posteriormente se realizó recultivos de colonias aisladas (2 a 3) en medio de agar MacConkey para su purificación, para realizar pruebas bioquímicas (TSI, CITRATO, LIA, SIM y UREA) que permitió la identificación de bacterias (anexo 5).



## 7.7 Plan de análisis

Para conocer la calidad de agua de cada muestra se compararon los valores obtenidos con los valores máximos permisibles que estipulan las normas CAPRE <sup>(14)</sup>. Los datos obtenidos fueron almacenados y procesados con el programa estadístico SPSS versión 17.0, aplicando un análisis descriptivos (valor máximo, mínimo y media) y presentados en tablas y gráficos en valores absolutos y porcentuales, según objetivos del estudio.

## 7.8 Confidencialidad y aspectos éticos

La información obtenida a través de la ficha de recolección de datos y los resultados producto de las pruebas de laboratorio, fueron manejados bajo confidencialidad. Para lograr este propósito se visitó a los dueños de los pozos involucrados en el estudio y se les solicitó su autorización verbal y escrita, así como también se les entregó personalmente el resultado obtenido; que fueron realizados gratuitamente, con el fin de brindar un apoyo al mejoramiento de calidad de vida de los pobladores, así como también se orientó del valor de la calidad del agua que está siendo consumida en las comunidades participantes.

Deseamos reconocer el apoyo brindado por el Centro de Investigación de enfermedades Infecciosas (CEI), por el soporte logístico y metodológico para llevar adelante este proceso que da hoy como fruto el desarrollo de este trabajo de tesis.



## 8 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Concepto	Indicador	Resultado esperado
Nombre de la comunidad	Nombre que caracteriza a los sitios de toma de muestra	Ficha recolectora de datos	Mercedes Varela, Eugenio Pérez, Talchocote El Arbolito
Condiciones del pozo	Se refiere a la infraestructura con la que cuenta el pozo.	Ficha recolectora de datos	Brocal Tapa
Profundidad del pozo	Distancia existente entre la superficie del terreno hasta el fondo.	Ficha recolectora de datos	Cálculo aproximado en Varas de profundidad
Método de obtención del agua	Forma en que es adquirida el agua para su uso.	Ficha recolectora de datos	Manual Bomba de mecate Bomba eléctrica ,otros
Tratamiento del agua	Operaciones realizadas para eliminar o reducir características no deseables de las aguas.	Ficha recolectora de datos	Cloro Hervir Filtrar
Consumo del agua	Agua utilizada para la ingesta.	Ficha recolectora de datos	Si No
Eliminación de excretas	Sitio donde los individuos hacen sus necesidades fisiológicas.	Ficha recolectora de datos	Aire libre Letrina , Fosa séptica
Profundidad de la letrina	Distancia existente entre la superficie del terreno hasta el fondo.	Ficha recolectora de datos	Cálculo aproximado en Varas de profundidad
Focos de contaminación	Descripción del lugar que rodea el suministro de agua.	Ficha recolectora de datos	Charcos Lavaderos
NMP	Número aproximado de coliformes expresados en concentraciones.	Prueba de laboratorio(prueba en tubos)	Expresión numérica de bacterias/100 ml
Indicador Bacteriano de contaminación	Géneros bacterianos utilizados para medir la contaminación del agua.	Pruebas del laboratorio (cultivos y pruebas bioquímicas)	<i>E.coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Pseudomona</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>Acinetobacter</i>



## 9 RESULTADOS

Un total de 57 muestras de agua de pozo fueron recolectadas aleatoriamente y de acuerdo a la factibilidad de acceso a las comunidades incluidas en el estudio, para determinar la carga bacteriana (coliformes totales y fecales) e identificar el agente contaminante presente.

### 9.1 Características de los pozos y utilización

Para este propósito se realizó una entrevista (llenado de encuesta) al dueño o habitante del lugar donde se encontraba el pozo. Los principales puntos fueron basados en conocer sobre la profundidad del pozo, consumo del agua, tratamiento posterior a su extracción y número de personas que se abastecen. Además, se observó *in situ* las características y/o condiciones de los pozos (existencia de brocal, tapa, etc.), ubicación de las letrinas en relación al pozo, formas de obtención del agua y presencia de charcos o basura cerca de la fuente. Resultando en lo siguiente:

Del total de pozos analizados (n=57), un 70% (40/57) tenían bomba eléctrica para la extracción del agua, 19% (11/57) con malacates (manual) y 11% (6/57) con bomba de presión (manual). Un 98% (56/57) presentaban brocal de concreto o ladrillo, los que tenían hasta un metro de altura por encima de la superficie de la tierra y solo en un 2% (1/57) estuvo ausente. Un 56% (32/57) se encontraron tapados. Los pozos tienen una profundidad promedio de 22 varas (rango de 16-30 varas) (Tabla 1).

Estos pozos están rodeados por lavaderos que van entre 2 a 7 varas de distancia. Además, se observó que los pozos presentan en sus alrededores acúmulos de basura, corrales de cerdo, aves y ganado bovino. Un 39% (22/57) de los pozos presentaron en su alrededor charcos de agua procedentes de baños y lavaderos (Tabla 1).

En relación a la presencia de letrinas, un 93% (53/57) de las casas visitadas la poseen y un 7% (4/57) presentaban inodoro con pozo séptico. En relación a la profundidad de dichas letrinas y pozos sépticos se obtuvo el dato que un 93% (53/57) presentaron una profundidad promedio entre 5-8 varas (rango 3-8 varas) (Tabla 1). La distancia promedio entre los pozos y letrinas fue de 16 varas (rango 5-30 varas) (Tabla 1). Un total de 52 pozos son utilizados para el consumo, abasteciendo a 493 habitantes de las diferentes comunidades. Un 65% del agua de estos pozos son cloradas (Tabla 1).

**Tabla 1. Características generales de 57 pozos y su ambiente en cuatro comunidades del sector sur de la ciudad de León, Agosto-October 2011/Agosto-October 2012.**

VARIABLE	COMUNIDAD*				Total N (%)
	TC N (%)	MV N (%)	EP N (%)	ARB N (%)	
<b>Extracción de agua</b>					
Malacate	1(2)	5(9)	-	5(9)	11(19)
Bomba eléctrica	7(12)	11(19)	9(16)	13(23)	40(70)
Bomba de presión	2(4)	1(2)	1(2)	2(4)	6(11)
<b>Brocal</b>					
Si	10(18)	17(30)	9(16)	20(35)	56(98)
No	-	-	1(2)	-	1(2)
<b>Tapa</b>					
Si	10(18)	9(16)	9(16)	4(7)	32(56)
No	-	8(14)	1(2)	16(28)	25(44)
<b>Profundidad de pozos (varas)**</b>					
16-20	6(11)	11(19)	6(11)	9(16)	32(56)
21-25	4(7)	5(9)	2(4)	9(16)	20(35)
26-30	-	1(2)	2(4)	2(4)	5(9)
<b>Charcos</b>					
Si	6(11)	6(11)	7(12)	3(5)	22(39)
No	4(7)	11(19)	3(5)	17(30)	35(61)
letrina	9(16)	16(28)	9(16)	19(33)	53(93)
Fosa séptica	1(2)	1(2)	1(2)	1(2)	4(7)
<b>Profundidad de letrina (varas)**</b>					
3-5	4(7)	7(12)	2(4)	11(19)	24(42)
6-8	6(11)	10(17)	8(14)	9(16)	33(58)
<b>Consumo de agua</b>					
si	10(18)	16(28)	10(18)	16(28)	52(91)
no	-	1(2)	-	4(7)	5(9)
<b>Tratamiento del agua</b>					
Cloración	8(14)	11(19)	5(9)	13(23)	34(65)
Ningún tratamiento	2(4)	6(11)	5(9)	7(12)	18(35)

\*Comunidades; TC: Talchocote; MV: Mercedes Varela; EP: Eugenio Pérez; ARB: El Arbolito.

\*\* Mediciones aproximadas, según referido por habitantes-propietarios



## 9.2 Análisis microbiológico y calidad del agua de pozos

En los resultados microbiológicos se observó que del total de pozos analizados el 93% (53/57) tuvieron presencia de coliformes totales, donde un 35% (20/57) presentó más de 2400 UFC/100 ml. Un 89% (47/53) de los pozos con presencia de bacterias, mostraron crecimiento de coliformes fecales. Un total de 26 pozos presentaron entre 23 y 28 UFC/100 ml, (rango 9-93 UFC/100 ml) (Tabla 2). El 93%(53/57) de los pozos, sobrepasan los límites de UFC/100 ml de agua, establecidos en las normas CAPRE (Tabla 2).

**Tabla 2. Determinación del NMP de bacterias coliformes encontradas en agua de pozos de cuatro comunidades del sector sur de la ciudad de León, Agosto-Octubre 2011/Agosto-Octubre 2012.**

NMP 37°C (N=57)	
UFC (Coliformes Totales)	N (%)
0	4 (7)
9	1(2)
23	3(5)
43	3(5)
93	6(11)
150	1(2)
210	2(4)
240	5(9)
460	9(16)
1100	3(5)
>2400	20(35)
NMP 44°C (N=53)	
UFC (Coliformes Fecales)	N (%)
0	6(11)
9	1(2)
20	5(9)
21	9(17)
23	13(25)
28	13(25)
93	6(11)

## 9.3 Identificación bacteriana y su distribución en las comunidades

En relación a la identificación bacteriana, se encontró que *E. coli* y *Enterobacter* representan la mayor frecuencia de bacterias contaminantes [81%(43) y 75%(40), respectivamente], seguidos de *Pseudomona* [19%(10)], *Klebsiella* [13% (7)], *Citrobacter* y *Proteus* [6% (3), respectivamente], y *Acinetobacter* [4% (2)] (Gráfico 1).

La comunidad El arbolito obtuvo el mayor número de pozos contaminados (16 pozos) con *E. coli*, seguido de Mercedes Varela (13 pozos), Eugenio Pérez y Talchocote (7 pozos cada una). El predominio de *Enterobacter* fue observado en la comunidad El Arbolito (14 pozos), seguido de Mercedes Varela (10 pozos), Eugenio Pérez (9 pozos) y Talchocote (7 pozos).

Los pozos contaminados con *Pseudomona* se encontraron en Talchocote (5 pozos), Mercedes Varela (3 pozos) y Eugenio Pérez (2 pozos). La presencia de *Klebsiella* fue observada en Talchocote y El Arbolito (3 pozos, respectivamente) y Mercedes Varela (1 pozo). *Citrobacter*, se aisló en 2 pozos de Talchocote y en 1 pozo de Eugenio Pérez. Los únicos pozos que contenían *Proteus* estaban ubicados en las comunidades Eugenio Pérez (1 pozo) y El Arbolito (2 pozos). *Acinetobacter* fue aislado en 2 pozos de esta última comunidad (Gráfico 2).

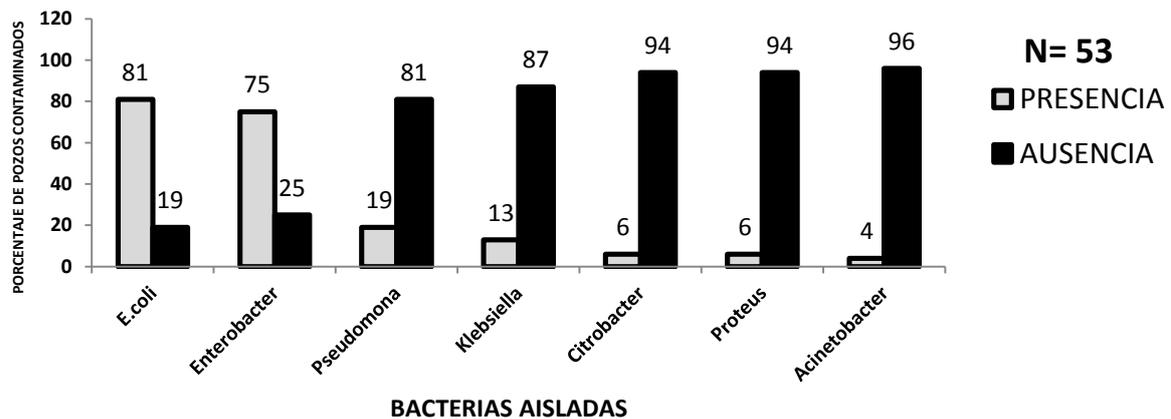


Gráfico 1. Distribución porcentual de bacterias aisladas en muestras de agua de pozo de cuatro comunidades del sector sur de la ciudad de León. Agosto-October 2011/Agosto-October 2012.

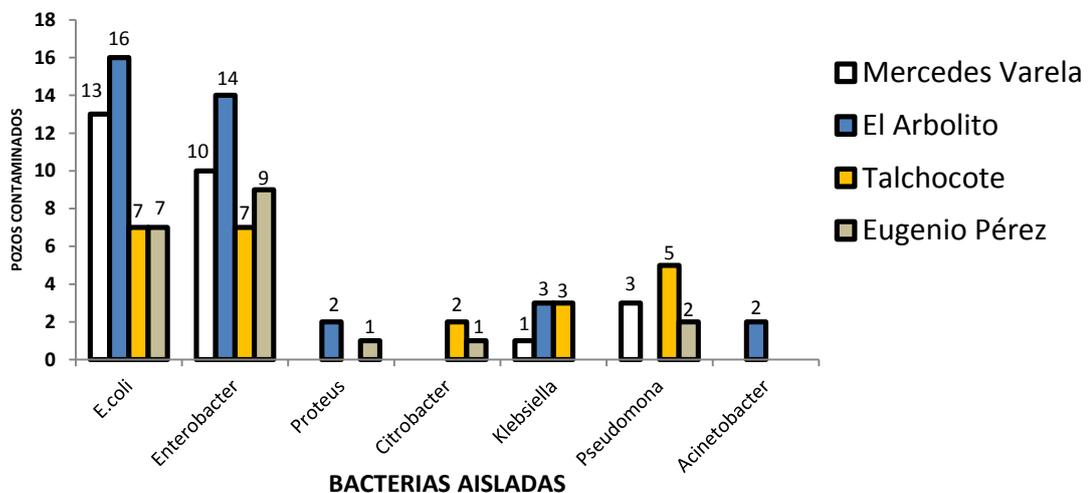


Gráfico 2. Distribución numérica de bacterias aisladas en muestras de agua de pozo en cuatro comunidades del sector sur de la ciudad de León. Agosto-October 2011/Agosto- October 2012.



## 10 DISCUSIÓN

Las enfermedades producidas por bacterias de origen hídrico siguen representando un riesgo para la salud, con una gran inequidad entre zonas urbanas y rurales, debido a diferente acceso a servicios sanitarios básicos como agua potable y disposición de agua residual; así como la presencia de letrinas y fosas sépticas cerca de las fuentes de agua (pozos)<sup>(21)</sup>. Además, de la presencia de animales de crianza doméstica.

El presente estudio muestra un análisis de las características microbiológicas para identificar la calidad de agua de los pozos de consumo en cuatro comunidades (Mercedes Varela, Eugenio Pérez, Talchocote y El arbolito) del sector sur de la ciudad de León.

De acuerdo a las características y sitios de ubicación del pozo, se pudo observar que la mayoría de los mismos presentan condiciones adecuadas de protección (brocales de concretos y tapas). Sin embargo, están demasiado bajo y de poca altura sobre la superficie del suelo. Condiciones que pueden facilitar que se vierta materia orgánica e inorgánica, que contaminan la fuente de agua de manera directa, lo cual perjudica la calidad de ésta <sup>(8)</sup>.

La profundidad de los pozos, juega un papel importante que influye en la contaminación del agua de los mismos. Según se describe por Aráuz y Martínez, que a mayor profundidad más libres de bacterias se encuentra el agua <sup>(7)</sup>. Sin embargo, este estudio muestra un factor diferente (Tabla 1), dado que muchos de los pozos presentaron algún tipo de contaminación aun considerando la profundidad de los mismos (16-30 varas). Lo cual podría atribuirse al tipo de suelo que presentan las comunidades estudiadas, análisis que no fue considerado en este estudio, pero que ha sido propuesto como un factor de riesgo en otras investigaciones <sup>(8)</sup>, dado a la capacidad del grado de porosidad que pueda tener y a la percolación del agua que pasa con gran facilidad al acuífero sin que se hayan retenido en sus capas sustancias y/o microorganismos que pueden influir en la calidad del agua <sup>(8)</sup>. Esto podría estar en relación a la profundidad de las letrinas y cercanía de estas a los pozos pudiendo facilitarse la infiltración del material fecal a los mismos. Por otro lado la posible contaminación directa al acuífero, facilitado en su mayoría por que los pozos no son sellados y en algunos casos el uso de baldes-mecates para su extracción. Resultados similares son reportados por otros investigadores donde demuestran que las condiciones en que se encuentra ubicados los pozos puede permitir el acceso a contaminantes ambientales <sup>(7, 22)</sup>.



A pesar de la poca cantidad de los pozos estudiados, se pudo observar que un gran número de persona hacen uso de estas aguas (Tabla 1), utilizando el cloro como tratamiento de la misma. Desde este punto de vista, la cloración juega un papel importante en la reducción y/o proliferación bacteriana. Sin embargo, no se observó diferencias en cuanto al aislamiento de coliformes entre aguas cloradas y no cloradas (Tabla 1). Lo que puede atribuirse a los deficientes métodos de desinfección del agua, ya que la misma solo es tratada al momento de su consumo, datos que han sido demostrados por otros estudios <sup>(21)</sup>.

Los análisis bacteriológicos del agua son fundamentales desde el punto de vista sanitario. La norma bacteriológica de calidad (CAPRE), establece que el agua debe estar exenta de patógenos de origen entérico <sup>(9)</sup>. El análisis bacteriológico (NMP) realizado en este estudio, demostró la presencia de coliformes con un alto índice de contaminación (Tabla 2), lo que podría significar que esta contaminación es proveniente de materia fecal (fuentes de los propios habitantes y/o animales), dado a la cercanía y posición de las letrinas y el deambular libre de los animales por el patio. Las heces humanas pueden contener hasta cuatro tipos de microorganismos, entre ellos bacterias que pueden, en este caso, estar siendo excretadas y filtradas hasta llegar a contaminar el acuífero <sup>(7, 8, 22)</sup>. Las muestras de agua en las que no hubo crecimiento bacteriano, fueron de pozos con ausencia de letrinas, charcos, y corrales a su alrededor. Sugiriendo la no exposición de posibles contaminantes bacterianos en estos sitios. Datos que coinciden con previos estudios realizados en otras comunidades de León con similares características a las incluidas en este estudio <sup>(7, 8, 22)</sup>.

Los resultados encontrados en este estudio, según los valores establecidos en las normas CAPRE, muestran que solo 7% de las fuentes de agua en estas comunidades son aptas para el consumo humano. Sin embargo, hay que destacar que analizando otros indicadores microbiológicos (bacterianos) de contaminación, que las normas CAPRE no reflejan, tales como *Clostridium perfringes*, *Enterococcus spp*, como los contemplados en la guía para la calidad del agua potable de la OPS, nos indicarían que el número de agua aptas para consumo humano, considerando estos otros parámetros bacteriológicos, podrían ser aún menor a las encontradas en el estudio <sup>(11)</sup>.

Por otra parte la importancia de conocer las especies presentes en los sistemas acuíferos naturales y el comportamiento en su ambiente, radica en la posibilidad de desarrollar nuevas tecnologías que logren su eliminación y/o la manera controlar enfermedades de origen hídrico <sup>(9)</sup>.



Al realizar la identificación del grupo de coliformes presentes en las aguas de los pozos, se encontró que *E. coli* (principal indicador de contaminación fecal) y *Enterobacter* (coliforme total), fueron los de mayor predominio (81% y 75%, respectivamente). La existencia de este dato confirma que la contaminación microbiológica de origen fecal se restringe a la presencia de coliformes fecales (*E. coli*), mientras que la presencia de coliformes totales, sólo indica existencia de contaminación, sin asegurar su origen<sup>(9)</sup>.

En cuanto a la distribución de estos agentes coliformes (*E. coli* y *Enterobacter*) se encontró una prevalencia (en menor o mayor grado) en todas las comunidades, y predominio específico de otros grupos (*Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomona* y *Acinetobacter*) para ciertas comunidades (grafico 2). El hecho que una bacteria se encuentre en mayor o menor frecuencia en una comunidad podría deberse primeramente a que la cantidad de pozos analizados fue de manera aleatorio y por consideración a la accesibilidad de las mismas; además, que las condiciones ambientales y sanitarias de dichas fuentes no son iguales según la comunidad, por ejemplo la cercanía de la letrinas a los pozos, tratamiento del agua, profundidad de los pozos , profundidad y distancia de la letrinas, presencia de charcos y estructura del pozo; factores que permiten la presencia de mayor cantidad de contaminantes con diferentes tipos de coliformes. Datos demostrados por otros investigadores en un estudio realizado en las comunidades del sector rural noreste del municipio de León<sup>(8)</sup>. Según el programa nacional de vigilancia sanitaria del agua MINSA, los pozos excavados a mano deben tener ciertas características, que los pozos de estas comunidades no las cumplen en su totalidad, para tener un agua de calidad, y exenta de microorganismos que pueden causar enfermedades en quienes la consumen.



## 11 CONCLUSIONES

- La presencia de animales y charcos cerca del pozo; así como mala ubicación de letrinas y características de los pozos pudo contribuir a la contaminación de dichas aguas.
- El análisis bacteriológico de las aguas de pozos en estas comunidades, demostró un alto índice de contaminación por diferentes grupos bacterianos, principalmente de *Escherichia coli* y *Enterobacter*. Siendo la comunidad más afectada El Arbolito.
- Según las normas CAPRE para los parámetros microbiológicos, estas aguas **No son aptas** para su consumo. Lo que podría posibilitar la aparición de algún tipo de manifestación patológica (ej. Diarrea) que implicaría en gastos económicos al sistema de salud y la misma población.



## 12 RECOMENDACIONES

1. Instruir a las personas usuarias de estos pozos, sobre las medidas que deben tomar en la eliminación de excretas, construcción de letrinas y la cloración del agua que consumen; así como también, realizar exámenes bacteriológicos posteriores a la desinfección a fin de determinar la inocuidad del agua.
2. Tratar de realizar una ampliación de este tipo de estudios a otras comunidades con similares o iguales condiciones, donde se consideren otros agentes emergentes como indicadores de contaminación fecal, así como involucrar a los pobladores que puedan padecer síntomas sugestivos de infección hídrica. Esto con el propósito de valorar la inocuidad completa de las aguas y obtener datos que permitan determinar y/o comparar con mayor certeza los factores que pudieran estar involucrados en su contaminación y evidenciar el impacto que tiene sobre la salud de la población.
3. Presentar estos resultados a las autoridades competentes con la finalidad de brindarles información que pueda ser considerada para la toma de decisiones que tengan a bien realizarse, en la medida de las posibilidades, en la población de estos sectores como parte la mejora en la calidad de agua.



## 13 REFERENCIAS

1. Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua [Internet]. Programa Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Indicadores de contaminación fecal en aguas.[Citado 1 de junio 2011] Disponible en:[http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/pdfs/Capítulo\\_20.pdf](http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/pdfs/Capítulo_20.pdf)
2. Campos CP, Cárdenas M, Guerrero A. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en diferente tipo de aguas de la sabana de Bogotá (Colombia).[Internet] 2008[Citado 1 de junio de 2011]. Disponible en: [www.javeriana.edu.co/universitas\\_scientiarum](http://www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum).
3. Vergaray G, Méndez CR, Morante HY, Heredia VI, Béjar VR. Rev. del Instituto de investigaciones FIGMMG [Internet].[Lima, Perú].2007;Vol 10 (Nº20) *Enterococcus* y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima.[Citado 1 de junio de 2011]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/iigeo/v10.pdf>
4. Suematsu GL, Navarrete JC. Aspectos sanitarios del uso de aguas residuales[Internet].[Mérida Colombia];OPS/CEPIS;1995[Citado 7 de junio de 2011].Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaar/fulltext/trata.pdf>
5. Laguna de Masaya agoniza .Rev. ACUGRA Consumidores y usuarios de Nicaragua[Internet].20 de octubre de 2009[Citado 2 de junio de 2011].Disponible en: <http://acugragranada.codigosur.net/leer.php/4938558>
6. Guillén MS, Jiménez M. Presencia y concentración de residuos de plaguicidas y contaminantes biológicos en el agua de pozos para consumo humano en localidades de antiguas plantaciones bananeras en el Occidente de Nicaragua.[Internet].[Managua-Nic.].CIRA UNAN-Managua;2007[Citado 23 de Junio de 2011] .Disponible en:[http://http://www.elparquedelashamacas.org/PDF/DBCP\\_en\\_pozos\\_Nicaragua.pdf](http://http://www.elparquedelashamacas.org/PDF/DBCP_en_pozos_Nicaragua.pdf)
7. Aráuz JE, Martínez I. Calidad bacteriológica del agua de pozos en la comunidad de Troilo. Tesis para optar al título de licenciatura en Biología. UNAN-LEÓN, 2003.



8. Equipo del laboratorio de Microbiología de aguas, Departamento de Biología Facultad de Ciencias UNAN-León. Informe del diagnóstico preliminar de la calidad del agua de consumo en las comunidades del sector rural noreste del municipio de León. [Internet].[León Nic].ECODES; 2007.[Citado 3 de Junio 2011] Disponible en: <http://www.cisas.org.ni/>
9. Apella MC, Araujo PZ. Microbiología de aguas. Conceptos básicos.[Internet]. [citado 7 de junio de 2011]. Disponible en:[http://www.psa.es/webesp/projects/solarsafewater/documents/libro/02\\_Capitul](http://www.psa.es/webesp/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitul)
10. Méndez R A. Desarrollo y validación de una prueba de fácil aplicación para determinación de *Enterococcus* en agua de consumo humano [Internet].Ciudad de Guatemala; 2004.[Citado 7 de junio de 2011]. Disponible en: <http://www.docstoc.com/docs/68399737/ENTEROCOCOS-PRUEBA-RAPIDA-PARA-ANALISIS-AGUA>
11. Organización Panamericana de la salud [Internet].Washington D.C: "Guías para la Calidad del Agua Potable. Vol.2; 1987 [Citado 1 de junio de 2011].Disponible en: <http://WWW.E:/bib%204.htm>.
12. Camacho A, Giles A. Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. 2<sup>da</sup>.Edición. Facultad de Ciencias Químicas UNAM-México, 2009.
13. Sánchez JM. Evolución de la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en muestras de orina [Internet].[León, España].[Citado 1 de junio de 2011]. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/urol/v61n7/02.pdf>
14. López S. Calderón V. Manual de procedimientos de bacteriología médica. Edición 2004. Republica de Nicaragua MINSA-CNDR.
15. Enterobacterias actualización diagnóstico. Rev. Argentina de microbiología. [Internet].[Buenos Aires,Argentina].2000[Citado 23 de Junio de 2011].Disponible en:[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032575412005000100008&scrip=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032575412005000100008&scrip=sci_arttext).



16. Pods C, Ullman R. *Klebsiella spp* as nosocomial pathogens epidemiology, taxonomy typing methods and pathogenicity factors. Clin microbial. editors 2004.
17. Volk A, Wesluz B. Microbiología médica. 3<sup>er</sup> edición. Editorial interamericana McGraw-Hill. 1988
18. Organización Panamericana de la salud [Internet]. Washington D.C: "Guías para la Calidad del Agua Potable. Vol.3; 1988 [Citado 2 de junio de 2011]. Disponible en: <http://WWW.E:/bib%204.htm>.
19. Manual para la vigilancia sanitaria del agua para consumo humano. Normativa 066, Dirección Superior del MINSA. [Managua-Nic]. Mayo 2011.
20. Normas Jurídicas de Nicaragua CAPRE [Internet]. [Managua, Nic.]: Norma técnica obligatoria nicaragüense para la clasificación de los recursos hídricos [Citado 7 de Junio de 2011]. Disponible en: <http://legislacion.asamblea.gob.ni/Normaweb.nsf/9e314815a08d4a6206257265005d21f9/1a3a99b77290b980062573df00594022?OpenDocument>.
21. Hiriart M, López Y, Ponce S y col. Calidad del agua para uso y consumo humano en la ciudad de México. [Internet]. [Cancún, México]. 2002 [Citado 7 de junio de 2011]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico26/i-032.pdf>
22. Quiroz NL, Gómez TE. Análisis bacteriológico en agua de pozos en la comunidad de Goyena Sur. Tesis de pregrado, Bioanálisis Clínico. León, Nicaragua 2003.



## 14 ANEXOS

### ANEXO 1.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
BIOANÁLISIS CLÍNICO**

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Identificación de coliformes fecales en agua de pozos en cuatro comunidades del sector Sur de la ciudad de León, Agosto-octubre 2011 /Agosto- octubre 2012.**

En base a todo lo que se me ha dicho y lo que ha escrito, Yo, \_\_\_\_\_ en calidad de dueño de pozo y en mi carácter de mayor de edad, autorizo personalmente al investigador del estudio de “**Identificación de coliformes fecales en agua de pozos Del Sector SUR de León**”, a utilizar la muestra de agua en su trabajo de investigación para que se le realicen la determinación que se me ha ofertado gratuitamente y he otorgado libremente esta entrevista. Se me ha notificado que es totalmente voluntaria y que mis respuestas o preguntas no serán reveladas a nadie y que en ningún informe de estudio se me identificara en forma alguna.

\_\_\_\_\_  
Firma del dueño del pozo

\_\_\_\_\_  
Firma del investigador

Fecha: \_\_\_\_\_



## ANEXO 2.

### UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS BIOANÁLISIS CLÍNICO

#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

#### Identificación de coliformes fecales en agua de pozos en cuatro comunidades del sector Sur de la ciudad de León, Agosto-octubre 2011 /Agosto- octubre 2012.

Ficha Nº \_\_\_\_\_

Fecha toma de muestra: \_\_\_\_\_

#### DATOS GENERALES, CARACTERÍSTICAS DEL POZO Y SU MEDIO AMBIENTE

1. Nombre de la comunidad: \_\_\_\_\_
2. Nombre del dueño del pozo: \_\_\_\_\_
3. ¿Cuántas personas se abastecen del pozo? \_\_\_\_
4. Se usa para consumo humano: Si\_\_\_ No\_\_\_
5. ¿Trata de alguna manera el agua que consumo: Si\_\_\_ No\_\_\_
6. Qué tipo de tratamiento utiliza? Cloro\_\_\_ Hervir\_\_\_ Filtro\_\_\_
7. Profundidad del pozo: \_\_\_\_
8. Técnica para extracción del agua de pozo: Bomba eléctrica\_\_\_  
Mecate y balde\_\_\_  
Otros\_\_\_\_\_
9. Estado en que se encuentra el pozo: Brocal: Si \_\_\_ No\_\_\_ Tapa: Si\_ No\_
10. Charcos en los predios cercanos al pozo: Si \_\_\_ No\_\_\_
11. ¿Dónde hacen sus necesidades fisiológicas? Letrina \_\_\_  
Fosa séptica\_\_\_  
Defecación al aire libre\_\_\_
12. Profundidad de la letrina \_\_\_\_\_ (varas aproximadas)
13. Distancia entre la letrina y el pozo \_\_\_\_\_ (varas aproximadas)
14. Ubicación de Lavadero con respecto al pozo \_\_\_\_\_ (varas aproximadas)
15. Ubicación de Corrales con respecto al pozo \_\_\_\_\_ (varas aproximadas)

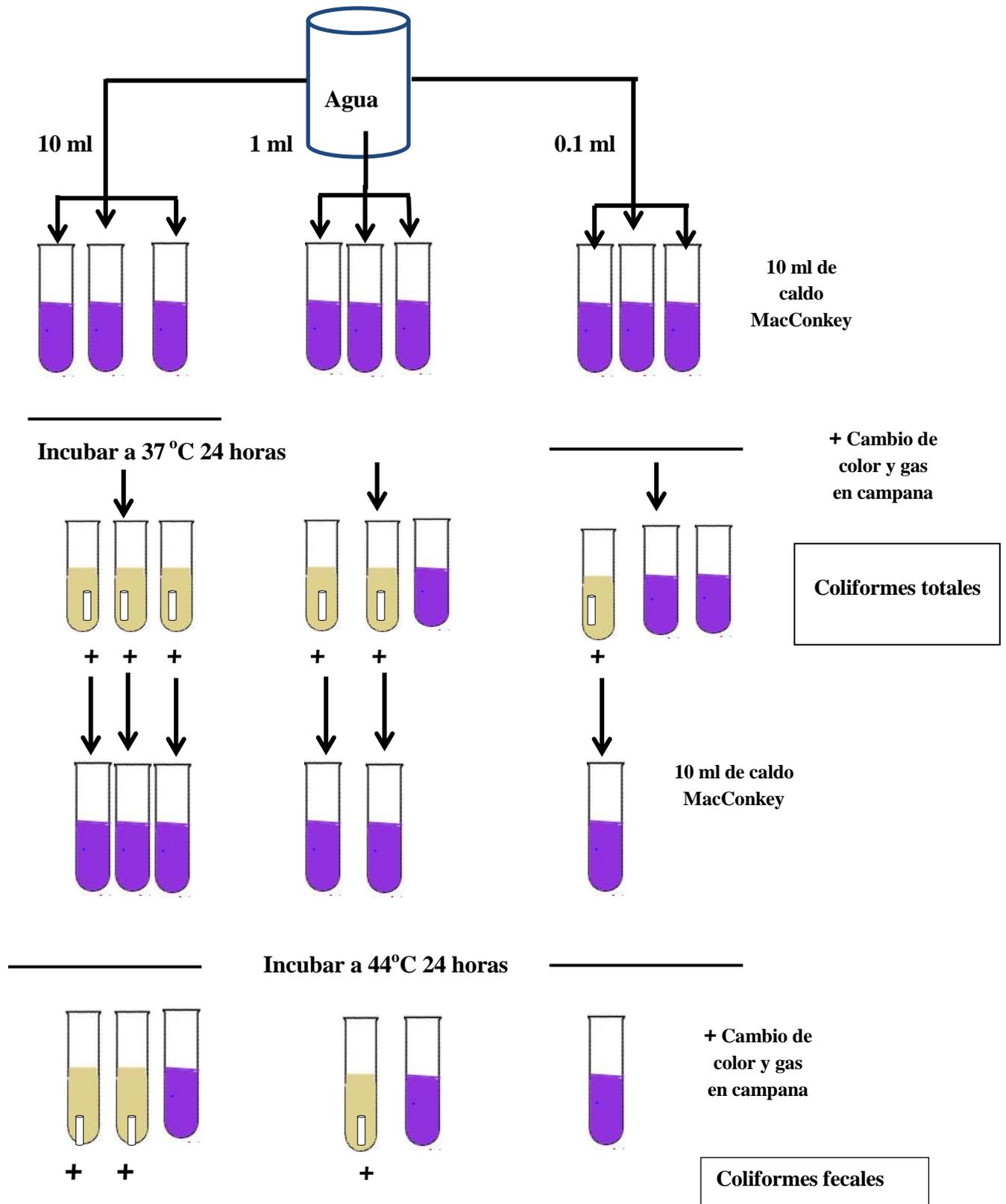


## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DEL AGUA DE POZO

Determinación del NMP	Concepto y Método	Resultados	Valores esperados
Prueba presuntiva 37°C (Coliforme total)	Concentración de coliformes (NMP)	+ cambio de coloración del medio y gas en la campana	4 (según CAPRE)
Prueba confirmativa 44°C (coliforme fecal)		+ cambio de coloración del medio y gas en la campana	0 (según CAPRE)
Prueba completa	Identificación bacteriana (Cultivos y pruebas bioquímicas)	+ crecimiento en el cultivo y cambio de coloración en las pruebas bioquímicas	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter</i> <i>Pseudomona</i> <i>Proteus</i> <i>Acinetobacter</i> (según tabla de enterobacterias)

### ANEXO 3.

### MÉTODO PARA EL AISLAMIENTO DE BACTERIAS INDICADORAS





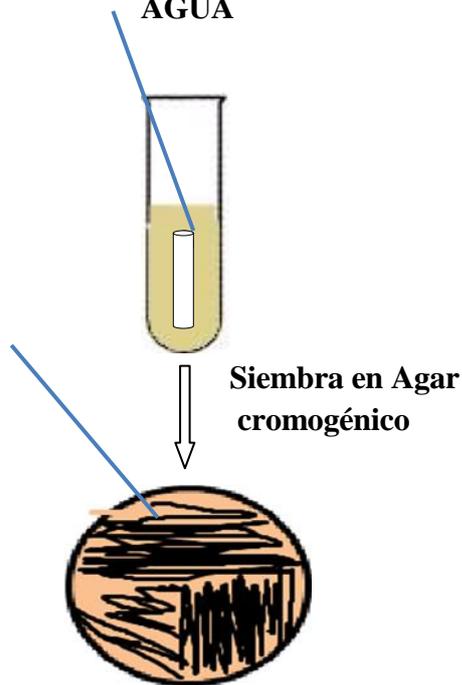
## ANEXO 4.

TABLA PARA LA DETERMINACIÓN DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP)

Número de tubos que dan reacción positiva			NMP	LÍMITE DE CONFIANZA DEL 95%	
3 tubos de 10 ml	3 tubos de 1 ml	3 tubos de 0,1 ml		Límite inferior superior	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	36
2	1	0	15	3	37
2	1	1	20	7	44
2	2	0	21	4	89
2	2	1	28	10	47
3	0	0	23	4	149
3	0	1	39	7	120
3	0	2	64	15	130
3	1	0	43	7	379
3	1	1	75	14	210
3	1	2	120	30	230
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
3	3	3	≥2400	—	—

Adaptación de *Standard Methods for the Examination of water and wastewater*. 13<sup>a</sup> edición, American PublicHealth.

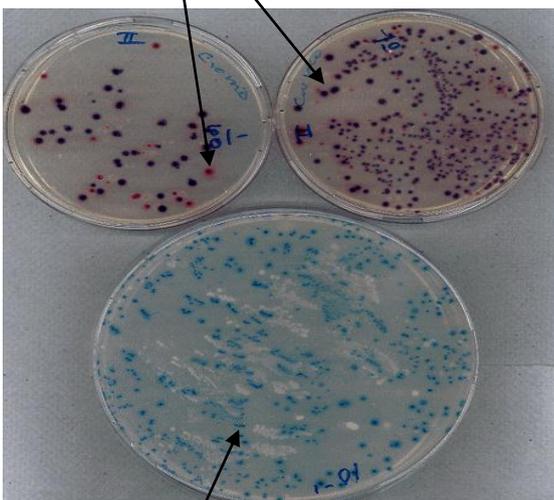
## ANEXO 5. DETERMINACIÓN DEL GÉNERO BACTERIANO EN LAS MUESTRAS DE AGUA



Siembra en Agar cromogénico

Incubar a 37 ° C 24 horas

Sugestiva de *E.coli*



Sugesivas del grupo KESC (*Klebsiella*, *Enerobacter*, *Serratia* y *Citrobacter*)

Incubar a 37 ° C 24 horas



PRUEBAS BIOQUÍMICAS:  
TSI, CITRATO, LIA SIM, Y  
UREA