

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA- Leon

Facultad De Ciencias Quimicas

Carrera De Farmacia



“A la libertad por la universidad”

Estudio microbiológico de agua de pozo del barrio El Calvarito, León Febrero 2013

Monografía para optar al título de Licenciada Químico-farmacéutico

Autores:

Br. Katia Magaly Osorio Martínez.

Br. Yudy Azucena Rayo Laguna.

Br. Alba Marina Rodríguez Escoto.

Tutora: Msc. Lissett Aráuz Molina.

ÍNDICE

	Pág.
Introducción.....	1
Planteamiento Del Problema.	3
Objetivos.....	4
Marco Teórico.	5
Material y Método.	18
Resultados y análisis.....	24
Conclusiones.....	26
Recomendaciones.....	27
Referencias Bibliográficas.....	28
Anexos.....	30

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a:

Dios, porque ilumino nuestras mentes, nos dio sabiduría e inteligencia para culminar esta investigación.

Nuestros padres: María Jesús Laguna, Francisco Rayo Laguna, Maritza Martínez Luna, Néstor Osorio Pérez y Alba Julia Escoto Moreno por su apoyo incondicional, tanto emocional como económico en todo el transcurso de este trabajo.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a todas las personas que con su colaboración y apoyo, hicieron posible la realización de esta investigación, en especial a:

- ✓ *Nuestra tutora MSC. Lissett Aráuz Molina por aportar parte de su tiempo y por permitirnos trabajar junto a ella en nuestro afán de fortalecer nuestros conocimientos.*
- ✓ *A las personas que colaboraron con nosotras y nos facilitaron el acceso para la toma de muestras.*
- ✓ *Al personal del laboratorio de microbiología por el apoyo brindado.*



INTRODUCCIÓN

El agua es un líquido vital para los seres vivos y está relacionada directa o indirectamente con las actividades que el hombre realiza en pro de su bienestar y sobrevivencia, por tal razón es un recurso natural imprescindible para la humanidad. El agua apta para el consumo humano es aquella que cumple con los parámetros de calidad entre ellos la salubridad, características organolépticas, ausencia de microorganismos patógenos y cualquier agente químico que sea capaz de alterarla, volviéndola nociva para la salud. El uso de agua expuesta a diversos contaminantes trae consigo la aparición de enfermedades convirtiéndose en un problema de salud pública que muchas veces se puede revertir implementando medidas sanitarias por parte de las autoridades competentes e involucrando a la población afectada.

En los países en desarrollo principalmente la población de las zonas periféricas y rurales enfrenta serias dificultades con el abastecimiento de agua potable y recurren a la perforación de pozos para suplir sus necesidades, aunque en la mayoría de los casos carecen de conocimientos sobre la ubicación adecuada del pozo y las condiciones de mantenimiento del mismo. Es importante conocer los requerimientos para la perforación de pozos y realizar control de la calidad del agua que asegure la inocuidad de esta, previniendo así ciertas enfermedades que se originan a través del agua contaminada y contribuir al mejoramiento de la calidad de vida de la población.¹⁵

En el barrio El Calvarito un sector carece de abastecimiento de agua potable por lo que utilizan agua de pozo a la cual no se le realiza control de calidad, lo cual representa un riesgo para la salud. Como investigadoras conscientes de la problemática que enfrentan los habitantes del El Calvarito se decidió realizar este estudio con el fin de determinar la calidad del agua que estos consumen. Pretendiendo de esta manera que el presente estudio sea una herramienta útil a las instituciones que rigen el bienestar social y sea tomado como un punto de referencia en el abordaje de esta problemática en todo el país.



Los beneficiarios directos de este estudio son los pobladores del barrio El Calvarito que consumen únicamente agua de pozo y carecen de agua potable, ya que podrán conocer la calidad del agua que están consumiendo, darle un tratamiento químico o térmico y demandar a las autoridades competentes el acceso al agua potable.

En el 2009 un estudio realizado por Quintero y Herrera de la Universidad Popular del Cesar en Colombia titulado microbiología de aguas subterráneas en la región sur del municipio de Valledupar-Cesar, dio como resultado que las muestras analizadas presentaban contaminación microbiológica por organismos coliformes fecales ya que se detecto la presencia de estas bacterias en todos los pozos , además las muestras de agua analizadas demostraron no ser aptas para el consumo humano debido a que en el segundo muestreo los resultados microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas fue de 2600UFC/ml.⁹

En Nicaragua recientemente se han realizado varios estudios relacionados con la calidad del agua de pozo entre estos:

En el año 2007, el Msc.Guevara y colaboradores realizaron un Diagnóstico de la calidad del agua de consumo en las comunidades del sector rural noreste del municipio de León, Nicaragua revelo que en el análisis microbiológico de las aguas de pozos se encontró que el 95.7% de las muestras analizadas no cumplen los requisitos establecidos según las normas CAPRE la principal fuente de contaminación microbiana que se ha encontrado es la inserción de materia fecal a través de los mecates y baldes sucios que se utilizan para la extracción del agua.⁴

En el año 2012 un estudio realizado por Ortega y colaboradoras titulado Control de calidad de agua de pozo, La Ceiba, León demostró que las muestras analizadas presentaban bacterias aerobias mesófilas en cantidades superiores a 300UFC/ml concluyendo que estas aguas eran inadecuada para el consumo humano, además encontraron presencia de coliformes totales en un número mayor al permisible en agua para consumo humano, al igual que presencia de coliformes fecales y pseudomona aeruginosa.¹⁵



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Es apta para el consumo humano el agua de pozo en estudio del barrio El Calvarito?



OBJETIVOS

General:

- ✓ Determinar la calidad microbiológica de agua de pozo del barrio El Calvarito.

Específicos:

- ✓ Cuantificar bacterias aerobias mesófilas y coliformes totales en la muestra de estudio.
- ✓ Identificar la presencia de coliformes fecales y *Pseudomonas aeruginosa* en el agua de pozo.



MARCO TEÓRICO.

El agua es uno de los recursos naturales más importantes e indispensables para todas las formas de vida, entre estas nosotros los seres humanos. Las culturas ancestrales de todo el mundo han reconocido y reconocen la relación que los seres humanos tenemos con la madre tierra, la responsabilidad y necesidad de proteger el agua.

Es el principal componente de nuestros cuerpos; tenemos entre un 65 -75% de agua, está presente en todas nuestras células, sangre y tejidos. Sin el agua nuestro cuerpo no funciona igualmente pasa con todas las plantas, animales y microorganismos.

Nuestro planeta está compuesto por un 97% de agua salada y un 3% de agua dulce. Este 3% está distribuido en ríos, acuíferos subterráneos y en la lluvia, pero la mayoría se encuentra congelada en los picos de las montañas muy altas y sus polos. Solamente el 1% de esta cantidad de agua dulce es útil para nuestro consumo. El agua útil para el consumo humano es aquella que es agradable al paladar, sin olor ni sabor, fresca, transparente y que no contiene microorganismos ni sustancias químicas, que pueden poner en peligro nuestra salud.

La falta de agua potable ocasiona que la población deba obtenerla de diversas maneras. La más común es por medio de perforaciones precarias o poco profundas de pozos, provocando con el tiempo filtraciones y mezclas con los desechos cloacales. Esto último se vincula directamente con la ausencia de saneamiento básico, ocasionando graves efectos en la salud. La carencia de suministro de agua y de saneamiento básico facilita la propagación de todo tipo de enfermedades.

En el proceso de recolección, transporte, almacenamiento y manipulación el agua se puede contaminar presentando así graves riesgos para la salud. Debemos tener cuidado con el manejo que hacemos del agua, ya que la podemos contaminar con microorganismos (bacterias, virus y parásitos) que transmiten numerosas enfermedades como el cólera, fiebre tifoidea, paratifoidea, diarreas, hepatitis y disentería. Otra forma de contaminar el agua es con sustancias químicas que usamos regularmente como cloros, desinfectantes, detergentes, insecticidas, pinturas y gasolina.



Dada la importancia del agua para la vida de todos los seres vivos y debido al aumento de la demanda de ella por el crecimiento de la humanidad, estamos en la obligación de proteger este recurso y evitar toda contaminación sobre la fuente del vital líquido. Existen proyecciones que indican que si seguimos con los mismos patrones de uso, dentro de poco tiempo tendremos faltantes de agua potable en diferentes partes del mundo.

El acceso al agua para consumo es derecho humano, lo que significa que el gobierno tiene que proveernos de agua en condiciones de igualdad y equidad, además su suministro debe ser de calidad, cantidad y continuidad.¹

Características del agua:

- ✓ **Características físicas:** son las propiedades que se pueden ver, sentir u oler. Por ejemplo: la turbiedad, el color, la temperatura, el olor y el sabor. El agua para consumo humano debe ser transparente, incolora y sin sedimentos. Tampoco debe tener sabor ni olor y debe ser fresca al paladar.
- ✓ **Color:** es la tonalidad que adquiere el agua debido a la presencia de sustancias orgánicas naturales, producidas por la descomposición de material vegetal o de sustancias minerales como el hierro y el manganeso.
- ✓ **Turbiedad:** es la propiedad que tiene el agua de impedir el paso de la luz. Se debe a la presencia de partículas sólidas orgánicas e inorgánicas, tan pequeñas que no tienen el peso suficiente para sedimentar por acción de la gravedad, tales como arcillas, limos y colonias de bacterias. Estas partículas se denominan coloides y deben ser removidas del agua mediante la sedimentación, filtración y la desinfección, dado que pueden cubrir a las bacterias y otros microorganismos, impidiendo su destrucción.
- ✓ **Sólidos:** muchas sustancias sólidas pueden ser incorporadas al agua, disolviéndose o permaneciendo en suspensión y alterando sus características. Los sólidos suspendidos pueden ser sedimentables como las arenas o no sedimentables como las arcillas y los limos.



Características químicas: estas características se deben a las diversas sustancias químicas disueltas en el agua. La alcalinidad, la dureza y el pH son propiedades químicas del agua muy importantes para decidir el tratamiento más adecuado, las sustancias requeridas para tratarla y hacerla apta para el consumo humano. También deben controlarse para evitar corrosión e incrustaciones en las redes y accesorios.

Algunas sustancias químicas se presentan en el agua en forma natural como el arsénico, el flúor y el manganeso, o agregadas por actividades del hombre, como los nitratos, los metales pesados y los pesticidas, pueden ser nocivas para la salud humana y deben ser removidas antes de utilizar el agua para consumo humano.

Características bacteriológicas: estas características están dadas por los microorganismos presentes en el agua. El agua para consumo humano debe estar libre de los microorganismos y parásitos que pueden causar enfermedades como diarrea, cólera, gastroenteritis, amebiasis, entre otras.

Características organolépticas: las características organolépticas se refieren al olor, sabor y percepción visual de sustancias y materiales flotantes y/o suspendidos en el agua.

En su estado natural, es posible que el agua no tenga las características necesarias para ser consumida por el hombre, representando un riesgo para la salud.²

Tipos de agua

- ✓ Agua potable: es agua que puede ser consumida por personas y animales sin riesgo de contraer enfermedades.
- ✓ Agua Salada: Agua en la que la concentración de sales es relativamente alta (más de 10 000 mg/l).
- ✓ Agua dulce. Agua natural con una baja concentración de sales, generalmente considerada adecuada.
- ✓ Agua dura. Agua que contiene un gran número de iones positivos. La dureza está determinada por el número de átomos de calcio y magnesio presentes. El jabón generalmente se disuelve mal en las aguas duras.
- ✓ Agua blanda. Agua sin dureza significativa.



- ✓ Agua de suelo. Agua que se encuentra en la zona superior del suelo o en la zona de aireación cerca de la superficie, de forma que puede ser cedida a la atmósfera por evapotranspiración.
- ✓ Agua superficial. Toda agua natural abierta a la atmósfera, como la de ríos, lagos, reservorios, charcas, corrientes, océanos, mares, estuarios y humedales.
- ✓ Agua subterránea. Agua que puede ser encontrada en la zona saturada del suelo, zona formada principalmente por agua. Se mueve lentamente desde lugares con alta elevación y presión hacia lugares de baja elevación y presión, como los ríos y lagos.
- ✓ Aguas grises. Aguas domésticas residuales compuestas por agua de lavar procedente de la cocina, cuarto de baño, fregaderos y lavaderos.
- ✓ Aguas negras. Agua de abastecimiento de una comunidad después de haber sido contaminada por diversos usos. Puede ser una combinación de residuos, líquidos o en suspensión, de tipo doméstico, municipal e industrial, junto con las aguas subterráneas, superficiales y de lluvia que puedan estar presentes.³

Fuentes de agua de consumo humano.

Es ampliamente conocido que una de las principales fuentes de agua de consumo humano es el agua subterránea y actualmente está siendo receptora de las consecuencias provocadas por las diferentes actividades que lleva a cabo el ser humano haciendo de éste un recurso altamente vulnerable al acceso de la misma.⁴

Las diferentes fuentes de agua pueden ver mermada su calidad por dos tipos de contaminación según su origen:

- ✓ Contaminación natural o geoquímica.
- ✓ Contaminación antropogénica (causada por el hombre).

Por lo general, el agua subterránea extraída de los pozos de agua es buena para beber. A medida que el agua pasa por las diferentes capas del suelo se va purificando poco a poco.

Los organismos que causan enfermedades, como bacteria y virus, van siendo filtrados y digeridos por animalitos diminutos de los suelos. También muchas sustancias químicas



dañinas desaparecen antes de llegar al agua subterránea. Algunas excepciones ocurren cuando:

- ✓ Un pozo no ha sido construido o mantenido apropiadamente.
- ✓ Un pozo indirectamente permite la entrada de escurrimiento.
- ✓ Un pozo usa agua proveniente de áreas donde ha habido numerosos tanques sépticos, agricultura intensiva o desperdicios químicos.⁵

Calidad del agua de consumo humano.

El sabor no es un buen indicador de la calidad del agua. Aunque el agua tenga un sabor muy bueno y sea muy cristalina, puede que tenga químicos tóxicos u organismos que pudieran traer enfermedades. A su vez, un agua que no sepa bien puede ser de buena calidad.

El agua apta para consumo humano puede contaminarse cuando entra al sistema de distribución, a través de conexiones cruzadas, rotura de las tuberías del sistema de distribución, tuberías de aguas negras ubicadas por encima de las tuberías de agua potable, conexiones domiciliarias inadecuadas, cisternas y reservorios defectuosos, grifos dañados y durante el tendido de nuevas tuberías o reparaciones realizadas sin las mínimas medidas de seguridad. De igual manera, la construcción defectuosa en las estructuras de pozos, depósitos y ausencia o irregular mantenimiento de estas instalaciones, son causas que predisponen el ingreso y multiplicación de microorganismos a partir de distintas fuentes.⁶

Para determinar la calidad de agua de pozo se somete a una serie de análisis microbiológicos y fisicoquímicos.

Las pruebas microbiológicas más importantes que se realizan son la detección de bacterias aerobias mesofilas, pseudomona aeruginosa, coliformes totales y fecales.



Coliformes

Las bacterias que se encuentran más frecuentemente en el agua son las bacterias entéricas que colonizan el tracto gastrointestinal del hombre y son eliminadas a través de la materia fecal. Cuando estos microorganismos se introducen en el agua, las condiciones ambientales son muy diferentes y por lo tanto su capacidad de reproducirse y de sobrevivir son limitadas. Debido a que su detección y recuento a nivel de laboratorio son lentos y laboriosos, se ha usado el grupo de las bacterias coliformes como indicadores, ya que su detección es más rápida y sencilla.

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana debido a que estos son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente, están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades, permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas y se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección.

Coliformes totales

Los microorganismos que conforman el grupo de los coliformes totales; *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Edwardsiella* y *Citrobacter*, viven como saprófitos independientes o como bacterias intestinales; los coliformes fecales (*Escherichia*) son de origen intestinal. Todos pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulantes, fermentadores de lactosa con producción de gas; constituyen aproximadamente el 10% de los microorganismos intestinales de los seres humanos y otros animales, las bacterias del tracto intestinal no suelen sobrevivir en el medio acuático, están sometidas a un estrés fisiológico y pierden gradualmente la capacidad de producir colonias en medios diferenciales y selectivos. Su velocidad de mortalidad depende de la temperatura del agua, los efectos de la luz solar, las poblaciones de otras bacterias presentes, y la composición química del agua. La presencia de coliformes en el agua indica la contaminación bacteriana reciente y constituye un indicador de degradación de los cuerpos de agua.



Los miembros del genero E. Coli son pobladores casi universales del tracto intestinal del hombre y animales hemeotermos, aunque no son en modo alguno los organismos dominantes de estos hábitat. Escherichia puede tener una función nutritiva en el tracto intestinal al sintetizar vitamina particularmente la vitamina K.⁷

El grupo coliforme de bacterias incluye a la Escherichia Coli, al igual que otras numerosas bacterias originadas en las descargas fecales o provenientes de otras muchas fuentes no fecales, se ha estimado que el número de bacterias coliformes en las descargas fecales llega hasta 200×10^9 organismos diarios por persona.⁸

Durante más de 70 años, se ha empleado el grupo coliforme para evaluar la calidad del agua. Debe enfatizarse que la lógica detrás de la utilización de este grupo de bacterias como indicadores no se basa en su potencialidad para causar enfermedades al hombre, aunque en determinadas circunstancias ciertas bacterias coliformes pueden causar infecciones. Ellas constituyen indicadores valiosos simplemente porque están presentes en gran número en las descargas fecales y su población está relacionada al grado de la contaminación ocasionada por estas descargas. La presencia del grupo coliforme no indica necesariamente que existen patógenos de algún tipo en el agua. Los resultados de la prueba deben interpretarse como una medida de la posibilidad de que existan patógenos en el agua en ese momento o quizás en algún momento posterior.

El grupo coliforme total es considerado como el indicador más confiable para evaluar si un tratamiento de agua es adecuado, prefiriéndosele para esta aplicación antes que al grupo coliforme fecal. Esto no se atribuye a deficiencia del grupo coliforme fecal como indicador de contaminación sino al valor observado del grupo coliforme general para evaluar el resultado de los sistemas de tratamiento.

Coliformes Fecales.

Los coliformes fecales se caracterizan por su capacidad de fermentar lactosa y producir gas, a una temperatura de 44.5°C . También puede determinarse su presencia mediante la técnica filtración por membrana si se realiza la prueba a una temperatura mayor.



Los coliformes fecales se denominan termotolerantes por su capacidad de soportar temperaturas más elevadas. Esta denominación está ganando más adeptos actualmente, pues sería una forma más apropiada de definir este subgrupo que se diferencia de los coliformes totales por la característica de crecer a una temperatura superior. La capacidad de reproducción de los coliformes fecales fuera del intestino de los animales homeotérmicos es favorecida por la existencia de condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, etc. Estas bacterias son de interés clínico, ya que pueden ser capaces de generar infecciones oportunistas en el tracto respiratorio superior e inferior, además de bacteremia, infecciones de piel y tejidos blandos, enfermedad diarreica aguda y otras enfermedades severas en el ser humano.

Bacterias Aerobias Mesófilas

Los microorganismos aerobios mesófilos son la flora total compuesta por bacterias aerobios estricto o facultativos que presentan unas características térmicas intermedias. Este grupo incluye a las bacterias que crecen en aerobios con temperatura de incubación entre 15 y 40°C, pudiendo detectar su presencia después de una incubación a 35°C +/- 2°C por 48 horas.⁹

Las bacterias aerobias necesitan O₂ para crecer, algunas de ellas requieren presiones de oxígeno inferiores a la atmosférica (2 a 10% de O₂, en lugar de 20%) y se conocen como microaerófilas.¹⁰

Pseudomonas aeruginosa

La *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria gram negativa que no se considera autóctona del agua, puede derivar de heces humanas y animales, su detección en agua se asocia con polución por descarga de aguas residuales, por lo tanto hay una estrecha correlación de su presencia en ambientes acuáticos con fenómenos de contaminación. Este microorganismo crece en muy baja concentración de nutrientes en medio ambiente acuoso y puede sobrevivir durante muchos meses en aguas a temperatura ambiente, es un importante patógeno oportunista y es causa de un amplio rango de infecciones, especialmente de oídos,



ojos, infección renal y piel, su control en aguas destinadas a la recreación es una obligación en varios países del mundo.¹¹

Pseudomonas aeruginosa es uno de los contaminantes más comunes en las fuentes de suministro de agua. Es capaz de multiplicarse en un rango de sustratos muy amplio ya que puede proliferar gracias a la gran variedad de compuestos orgánicos que utilizan como fuentes de carbono y energía

La importancia de *Pseudomonas* se tornó mayor cuando se comprobó su capacidad de inhibir los coliformes, siendo los indicadores de contaminación de agua más usados en el mundo, se corre un gran riesgo de consumir agua con índice de coliformes cero los cuales podrían estar inhibidos por *Pseudomonas*.¹²

Enfermedades asociadas a microorganismos presentes en agua contaminada.

El agua hace posible un medio ambiente saludable pero, paradójicamente, también puede ser el principal vehículo de transmisión de enfermedades. Las enfermedades transmitidas por el agua son enfermedades producidas por el "agua sucia" las causadas por el agua que se ha contaminado con desechos humanos, animales o químicos. Mundialmente, la falta de servicios de evacuación sanitaria de desechos y de agua limpia para beber, cocinar y lavar es la causa de más de 12 millones de defunciones por año.

Las afecciones que se propagan por el agua se conocen como "enfermedades transmitidas por el agua". Sus agentes patógenos son biológicos, más que químicos y los males que provocan casi siempre son contagiosos. Por lo general, los agentes patógenos pertenecen al grupo de los microorganismos que se transmiten en las heces excretadas por individuos infectados o por ciertos animales. De forma que estas enfermedades se suelen contraer al ingerir agua o alimentos contaminados por heces fecales (vía fecal-oral).

Los patógenos humanos transmitidos por el agua incluyen muchos tipos de microorganismos tales como: bacterias, virus, protozoos y en ocasiones, helmintos (lombrices), todos ellos muy diferentes en tamaño, estructura y composición.



Generalmente las cepas de *Escherichia coli* que colonizan el intestino son comensales, sin embargo dentro de esta especie se encuentran bacterias patógenas causantes de una diversidad de enfermedades gastrointestinales. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* no son patogénicas, algunas pueden causar diarrea severa en humanos.

La presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en agua de consumo puede provocar algunas enfermedades infecciosas entre estas: infecciones del tracto urinario, digestivo, respiratorio, sistema nervioso central, infecciones hemáticas, otitis, oftálmicas y queratitis.¹³

Especificaciones Técnicas

Las normas CAPRE contienen los valores para los parámetros físico-químicos biológicos en sus aspectos estéticos, organolépticos y su significado para la salud.

Esta Norma establece tres etapas de Control de Calidad del Agua:

- ✓ La primera Corresponde al Programa de Análisis Básico, fácilmente ejecutable por cada laboratorio de control de calidad del agua autorizado. Los parámetros en esta etapa de control son: coliforme total o coliforme fecal, olor, sabor, color, turbiedad, temperatura, concentración de iones hidrógeno (pH), conductividad y cloro residual.
- ✓ La segunda Corresponde al Programa de Análisis Normal y comprende la ejecución de los parámetros de la primera etapa ampliado con: aluminio, cloruros, cobre, dureza, sulfatos, calcio, magnesio, sodio, potasio, nitratos, nitritos, amonio, hierro, manganeso, fluoruro, arsénico, cadmio, cianuro, cromo, mercurio, níquel, plomo, antimonio, selenio, sulfuro de hidrógeno y zinc.
- ✓ La tercera Corresponde a un Programa de Análisis Avanzado del agua potable. Comprende la ejecución de los parámetros de la segunda etapa, ampliado con sólidos totales disueltos, desinfectantes, subproductos de la desinfección y sustancias orgánicas (plaguicidas) de significado para la salud.



Particularmente existen Programas Ocasionales Ejecutados por situaciones Especiales o de Emergencia. La autoridad nacional competente determinará los parámetros de control requeridos.

Cuando se sobrepase un valor máximo permisible es indicativo de que es necesario:

- ✓ Intensificar las acciones de vigilancia sanitaria y tomar las acciones correctivas.
- ✓ Consultar a las autoridades nacionales responsables de los Programas de Control y Vigilancia de la Calidad del Agua para que proporcione asesoramiento sobre el Nivel de Riesgo y Acciones Correctivas.¹⁴

Parámetros bacteriológicos según las normas CAPRE

Origen	Parámetro	Valor recomendado	Valor máximo admisible	Observaciones
A. Todo tipo de agua de bebida	Coliforme fecal	Neg	Neg	
B. Agua que entra al 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 No debe ser detectado en el 95 % de las muestras anuales
	Coliforme fecal	Neg	Neg	

Métodos de análisis

Cuantificación de Coliformes

La Prueba Número Más Probable



La prueba NMP (número más probable) se basa en la inoculación de muestras de agua a probarse en tubos conteniendo caldo lactosado, observándolos después de 48 horas de incubación para determinar si se ha producido gas en la campana de Durham en cada uno de los tubos. La presencia de gas en un tubo se considera como evidencia de la presencia de organismos coliformes, cuya identidad se confirma posteriormente con pruebas adicionales. Según este procedimiento, el grupo coliforme es definido como el que incluye a todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, gram negativas, no esporogénicas, baciliformes que fermentan la lactosa formando gas en un periodo de 48 horas a 35°C. La mayoría de las *E. coli*, pero no todas y varios otros organismos son capaces de formar gas bajo estas condiciones y quienes no lo son, no son consideradas como miembro del grupo coliformes. Usando la información sobre la cantidad de muestra introducida en cada tubo, el número de tubos probados y el número de los que presentan formación de gas, muestran el número más probable de organismos coliformes en agua, utilizando tablas de probabilidad elaboradas para este método.

Número más probable (NMP) de bacterias			Tabla para tres tubos
10^{-1} 1/10	10^{-2} 1/100	10^{-3} 1/1000	NMP/ml
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	40
3	1	0	40
3	1	1	70
3	2	0	90
3	2	1	150
3	2	2	200
3	3	0	210
3	3	1	500
3	3	2	1100



Conteo total de microorganismos aerobios mesófilos

Método en placa

Tomar 1 ml de la solución madre transferir a una caja Petri estéril. Agregar de inmediato a la placa de 15- 20 ml de medio Agar Digerido de caseína-soja, previamente fundido y enfriado, aproximadamente a 45°C. Cubrir las placas petri, homogenizar la muestra rotando suavemente las placas y dejar que el contenido se solidifique a temperatura ambiente. Invertir las placas petri e incubar durante 48 horas a una temperatura de 35°C \pm 2°C.

Un vez finalizada la incubación, examinar las placas para verificar el crecimiento de microorganismos contar el número de colonias y expresar el promedio de las dos placas en términos UFC por ml de muestra. En caso de no recuperarse colonia microbiana de las placas que representen la dilución inicial 1:10 de la muestra, expresar los resultados como menos de 10 microorganismos por ml de la muestra.

Identificación de *Pseudomonas aeruginosa*

A partir de la solución madre agregar un ml en placas petri vacías y luego adicionar agar Cetrimide. Incubar a 32-35°C por un periodo de 24 horas.

Otra forma de determinar *Pseudomona aeruginosa* es realizando estrías a partir de la muestra sobre la superficie de Agar Cetrimide.



MATERIAL Y MÉTODO.

Tipo de estudio:

Experimental.

Área de estudio:

Barrio El Calvarito de la ciudad de León que limita al norte con los barrios Gustavo López y el Calvario, al sur con el Barrio Fundeci, al este con los repartos arrocera 1 y 2 y el Barrio Benito Mauricio Lacayo, al oeste con el Barrio Guadalupe y San Sebastián.

El ensayo de las muestras de agua se realizó en el Laboratorio de Microbiología Facultad de Ciencias Químicas, carrera de farmacia UNAN León

Unidad de análisis:

Cuatro muestras de 100 ml de Agua de pozos ubicados en el barrio el Calvarito.

Universo de estudio.

Cuatro pozos situados en el barrio el Calvarito.

Muestra:

Dos pozos situados en el barrio el Calvarito.

Procedimientos para la recolección de la información

Para obtener los datos demográficos del barrio el calvarito y conocer la ubicación de los pozos objeto de este estudio, se recurrió al área de urbanismo de la alcaldía municipal de la Ciudad de León.



Obtención de la muestra.

Una vez esterilizado el material de trabajo se procedió a tomar las muestras de los pozos en estudio y se realizó de la siguiente manera:

- ✓ Destapar el erlenmeyer y flamearlo.
- ✓ Tomar la cantidad de muestra.
- ✓ Flamear nuevamente el erlenmeyer y tapar con algodón y papel aluminio.
- ✓ Se guarda en un termo y es trasladada al laboratorio de forma inmediata para ser analizada.
- ✓ Se realizó la siembra en los medios de cultivos específicos para cada tipo de bacteria a determinar los cuales fueron preparados con anticipación.

Preparación de los medios de cultivo.

- ✓ De acuerdo al volumen a preparar y lo que nos indica la etiqueta de cada medio de cultivo se realizaron los cálculos para pesar la cantidad en gramos requeridos para el análisis.
- ✓ Los medios de cultivos líquidos se disolvieron en agua destilada a temperatura ambiente y los agares en agua destilada a ebullición.
- ✓ Se midió el pH de los medios preparados para verificar que fuera el mismo del pH óptimo que declara la etiqueta.
- ✓ Posteriormente se procedió a esterilizar los medios de cultivo en autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos.

Análisis microbiológico de agua de pozo:

Cuantificación de Coliformes

La Prueba Número Más Probable



Prueba presuntiva

- ✓ Inocular la muestra de agua a analizar en tubos conteniendo caldo lactosado. El erlenmeyer debe contener 100 ml de muestra.
- ✓ En una gradilla que contendrá 9 tubos de los cuales 3 tendrán 10 ml de medio lactosado a doble concentración (primera dilución), 3 tubos con 5 ml de medio lactosado a simple concentración (segunda dilución), 3 tubos con 5 ml de medio lactosado.
- ✓ Agregar 10 ml de agua a la primeros 3 tubos, 1ml a los siguientes 3 tubos y 0.1 ml a los últimos tubos.
- ✓ Dejar reposar y observar después de 48 horas de incubación.
- ✓ Determinar si se ha producido gas en la campana de Durham en cada uno de los tubos, lo cual se considera como evidencia de la presencia de organismos coliformes.
- ✓ Usando la información sobre la cantidad de muestra introducida en cada tubo, el número de tubos probados y el número de los que presentan formación de gas, determinar el número más probable de organismos coliformes en agua, utilizando tablas de probabilidad elaboradas para este método

Prueba confirmativa

- ✓ Del tubo positivo más representativo transferir con asa de inoculación a tubos que contienen medio líquido verde brillante. Incubar los medios por 24h a 37C.
- ✓ Si el tubo presenta turbidez se considera positiva

Coliformes fecales

- ✓ Del caldo lactosado positivo con asa de cultivo transferir a caldo E. coli y realizar estría en Agar verde brillante.
- ✓ Incubar a 44°C por 24 horas, la presencia de turbidez en el caldo E. coli y crecimiento de colonias verde tornasol en la superficie del Agar EMB, indica la presencia de la bacteria Escherichia coli.



Conteo total de microorganismos aerobios mesófilos

Método en placa

- ✓ Tomar de forma aséptica 1 ml de la muestra. Transferir a una placa petri.
- ✓ Agregar de inmediato a cada placa de 15- 20 ml de medio Agar Digerido de caseína-soja, previamente fundido y enfriado, aproximadamente a 45°C.
- ✓ Cubrir las placas petri, homogenizar la muestra rotando suavemente las placas y dejar que el contenido se solidifique a temperatura ambiente.
- ✓ Invertir las placas petri e incubar durante 48 horas a una temperatura de 35°C $\pm 2^{\circ}\text{C}$.
- ✓ Una vez finalizada la incubación, examinar las placas para verificar el crecimiento de microorganismos.
- ✓ Contar el número de colonias y expresar el promedio de las dos placas en términos UFC por ml de muestra.
- ✓ En caso de no recuperarse colonia microbiana de las placas que representen la dilución inicial 1:10 de la muestra, expresar los resultados como menos de 10 microorganismos por ml de la muestra.

Identificación de *Pseudomonas aeruginosa*

- ✓ Transferir de la muestra de agua 1 ml a una placa petri vacía y estéril
- ✓ Agregar de 15-18 ml de Agar Cetrimide, homogenizar y esperar que solidifique el Agar.
- ✓ Incubar a 32-35°C por un periodo de 24 horas.
- ✓ Observar si hay crecimiento de colonias verde fluorescente.

Este procedimiento se realizó con cada una de las muestras a analizar.

Los datos obtenidos en los resultados del análisis de las muestras de agua se escribieron en una ficha diseñada para este fin.



Variables

- ✓ Coliforme fecales.
- ✓ Coliformes totales.
- ✓ Bacterias aerobias mesofilas.
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa*

Operacionalización de las variables.

Variable	Concepto	Indicador	Escala
Coliformes Totales	Bacilo gramnegativos no esporulado, que puede desarrollarse en presencia de sales biliares u otros agentes tensoactivos con propiedades de inhibición de crecimiento, no tiene citocromooxidasa y fermenta la lactosa con producción de ácido, gas y aldehído a 35 ó 37°C, en un período de 24 a 48 horas.	Presencia de gas en la campana de Durham	NMP
Coliformes Fecales	Son microorganismos que fermentan la lactosa a una temperatura de 44 ó 44.5°C y producen gas. Se encuentran en las heces fecales y tienen propiedades similares a Coliformes totales. También se les asigna el nombre de Coliformes Termorresistentes o termotolerantes.	Presencia de gas en la campana de Durham	Presencia Ausencia
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	Es una bacteria gramnegativa puede derivar de heces humanas y animales. Este microorganismo crece en muy baja concentración de nutrientes en medio ambiente acuoso y puede sobrevivir durante muchos meses en aguas a temperatura ambiente.	Colonias de color verde Fluorescente	Presencia Ausencia
Bacterias Aerobias Mesofilas	Son la flora total compuesta por bacterias aerobios estricto o facultativos que presentan unas características térmicas intermedias. Este grupo de bacterias necesitan de O ₂ para crecer.	Crecimiento de colonias en superficie de Agar caseína soja.	UFC por ml

Plan de análisis

Los resultados obtenidos se presentan mediante tablas utilizando el programa Microsoft Office Word 2007.



Fuente de obtención de información

Serán los resultados obtenidos a través del análisis microbiológico de agua, en el cual se aplicaron pruebas específicas para cada microorganismo en estudio.

Materiales

- ✓ Cajas Petri.
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Erlenmeyer.
- ✓ Asa de inoculación.
- ✓ Gradillas.
- ✓ Termo
- ✓ Algodón.
- ✓ Agua destilada.
- ✓ Beackers.
- ✓ Pipetas.
- ✓ Probeta.
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Medios de cultivo: Cetrimide, Digerido de caseína soya, Verde brillante, peptona en agua.
- ✓ Campana de Durham

Equipos:

- ✓ Incubadora doble 37°C, precisión scientific, modelo GM
- ✓ Autoclave 121°C, pelton & crane
- ✓ Cocina hot plate Corning, pc 100
- ✓ Phmetro Corning model 10
- ✓ Horno, precisión T° 180°C
- ✓ Mechero bunsen
- ✓ Contador de colonias, darkfield QUEBEC
- ✓ Agitador, bortet modelo K550C
- ✓ Balanza triple brazo OHAUS



RESULTADOS Y ANÁLISIS

Conteo de bacterias aerobias mesofilas

Diluciones	Muestra 1		Muestra 2	
	1.1	1.2	2.1	2.2
10^{-1}	116 UFC/ml	94UFC/ml	120 UFC/ml	136UFC/ml
10^{-2}	52UFC/ml	40UFC/ml	21UFC/ml	42UFC/ml
10^{-3}	40 UFC/ml	3 UFC/ml	5UFC/ml	7UFC/ml

Para la determinación de BAM se realizó la inoculación de las muestras en Agar DCS y se incubó durante 48 hrs a 35 ± 2 °C. Transcurrido el tiempo de incubación se observó el crecimiento de colonias de bacterias en las 4 muestras analizadas siendo la muestra 2.2 de la primera dilución con 136×10^1 UFC/ml la que presentó mayor crecimiento.

Coliformes Totales

Muestra	Numero de tubos positivos			
	Tres tubos con 10ml de muestra	Tres tubos con 1 ml de muestra	Tres tubos con 0.1 ml de muestra	Índice de NMP/ml
1.1	3	2	0	90
1.2	3	3	3	>1100
2.1	3	3	2	1100
2.2	3	3	3	>1100

Prueba Presuntiva

Para la determinación de este grupo de bacterias se realizó la prueba del número más probable (NMP) utilizando caldo rico en lactosa y se incubó por 48 horas a 37 °C siendo notoria la formación de turbidez y gas en la campana de Durham en los tubos de prueba lo cual es indicativo de la presencia de coliformes.



Prueba Confirmativa

A los tubos que presentaban turbidez y gas en la campana de Durham se le realizó una prueba confirmativa en caldo verde brillante por 24 horas a 37°C. Posterior a la incubación se observó la formación de turbidez y gas en la campana de Durham de los tubos en estudio confirmando de esta manera en las muestras la presencia de coliformes totales.

Coliformes Fecales

Muestra 1		Muestra 2	
1.1	1.2	2.1	2.2
presencia	presencia	presencia	presencia

De los medios positivos de caldo verde brillante se transfirió con un asa a caldo E. coli se incubo por 24 horas a 44°C obteniendo turbidez en todos los tubos. Lo que nos indica la presencia de E.coli, microorganismo indicador de contaminación fecal que tolera esta temperatura de incubación. Esto lo reafirmamos transfiriendo del caldo E.coli a Agar EMB (eosina azul de metileno) donde se obtuvo crecimiento en superficie de colonias verde tornasol con centro negro.

Pseudomona aeruginosa

Muestra 1		Muestra 2	
1.1	1.2	2.1	2.2
presencia	presencia	presencia	presencia

Para la identificación de *Pseudomona aeruginosa* se realizó la técnica de vertido en placa posteriormente se le agrega Agar Cetrimide que es un medio específico para este grupo de bacterias. La formación de colonias de color verde fluorescente nos indicó la presencia de *Pseudomona aeruginosa*.



CONCLUSIONES

- ✓ De las muestras analizadas se encontró que la que presenta mayor número de bacterias aerobias es la muestra 2(2.2) presentando 136×10^1 UFC/ ml.
- ✓ Se encontró coliformes totales en cantidades superiores a 1100NMP/ml excepto la muestra 1.1 (90NMP/ml) no cumpliendo con la normativa CAPRE indicando que esta agua deberá ser tratada para ser apta al consumo humano.
- ✓ Fue evidente la presencia de coliformes fecales y *Pseudomona aeruginosa* lo cual pone en riesgo la salud de las personas que consumen esta agua pudiendo ser un factor que predisponga a infección renal, gastrointestinales y problemas dermatológicos.
- ✓ Con los antecedentes encontrados y con los resultados de este estudio podríamos decir que el agua de pozo puede presentar alta probabilidad de contaminación microbiana siendo necesario el tratamiento químico (cloro el más usual) o térmico para hacerla apta al consumo humano.



RECOMENDACIONES

A la población:

- ✓ Construir el pozo en un lugar apropiado considerando que esté en un nivel más alto con respecto a su letrina y darle el debido mantenimiento.
- ✓ Evite que el agua se estanque en la superficie cerca del pozo.
- ✓ Para tratar el agua de pozo y que se apta para el consumo humano se debe agregar tres gotas de cloro por cada litro de agua, esperar 30 minutos para su consumo o hervir el agua por 3 minutos antes de su consumo.
- ✓ Es aconsejable la elaboración de brocal para el pozo así como una tapadera metálica o de madera u otro sistema que evite la entrada directa de contaminantes.

Al MINSA:

- ✓ Establecer coordinación con la universidad para fomentar la realización de este tipo de estudio y darle seguimiento una vez finalizado el mismo.
- ✓ Orientar a la población a través de programas radiales y televisivos sobre la ubicación adecuada de un pozo y mantenimiento de los mismos a fin de evitar la contaminación del agua.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acepesa. *El agua y su importancia para la vida humana.*(junio,2011). Recuperado en noviembre 2012 en http://www.acepesa.org/media/documentos/Folleto1_Final_nov.pdf
2. Reyes Eugenio; Quezada Gustavo. “operación y mantenimiento de sistemas de agua potable” Disponible: <http://aguatuya.org/wp-content/uploads/2012/04/Calidad-del-Agua.pdf>
3. Centro del agua del trópico húmedo para la América Latina. *Tipos de agua.* (2002) Disponible en: http://www.agua.org.mx/h2o/index.php?option=com_content&view=category&id=16&Itemid=300016.
4. Guevara Octavio. *Diagnóstico de la calidad del agua de comunidades del sector rural noreste del municipio de León, Nic.* (2007). (tesis institucional). Unan-León. Disponible: <http://www.unanleon.edu.ni/universitas/pdf/1ro/ArtoIV011.pdf>
5. Andrews Glick G. *Agua limpia en su pozo.* (2007). Recuperado de: <http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/bitstream/handle/1957/20138/em8752-s-e.pdf>
6. Arcas Mireya; Ávila Sara *Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua.* (2005). (tesis institucional). UCMC. Disponible en: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTREVIS2_4.pdf
7. Brock Thomas, (1978). *Microbiología de los microorganismos.* Barcelona: Edición En Omega S.A
8. Mcjunkin, F. *Agua y salud humana.* Lima Perú: Editorial lumusa. 1982.



9. *Quintero Diana; Herrera Indira. Microbiología de agua subterránea en la región sur del municipio del Valledupar-cesar (2009) (tesis de grado para optar al título de microbióloga). Disponible en: <http://www.corpocesar.gov.co/files/MICROB%20SUR%20VUP.PDF>*
10. *Aphel María; Arujo Paula. Microbiología del agua conceptos básicos. (1998). Recuperado: Julio 2004, de http://www.psa.es/webesp/projects/solarsafewater/.../02_Capitulo_02.pdf*
11. *Villegas Maikel; Prado Irina. Microorganismos indicadores de pseudomona aeruginosa empleando el método de NMP. (2012). Revista peruana de epidemiología, volumen 16. Disponible en: http://rpe.epiredperu.net/rpe_ediciones/2012_V16_N02/11CC_Vol16_No2_2012_Identificacion_Pseudomona.pdf*
12. *Pajares Marchand; Orlando Edgar. Microorganismos Indicadores de la calidad del agua de consumo humano. (2002) Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/marchand_p_e/tesis_completo.pdf*
13. *Moncada María; Campos Víctor. Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales. Agua potable para comunidades rurales. (2009) Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd57/riesgo.pdf>*
14. *Capre. Normas de calidad de agua para consumo humano. (1994) Disponible en: http://biblioteca.enacal.com.ni/bibliotec/Libros/pdf/CAPRE_Normas_Regional.pdf*
15. *Ortega Belkis. Control de calidad de agua de pozo La Ceiba León (Tesis para optar al título de Licenciado químico farmacéutico.)(Junio 2012).*

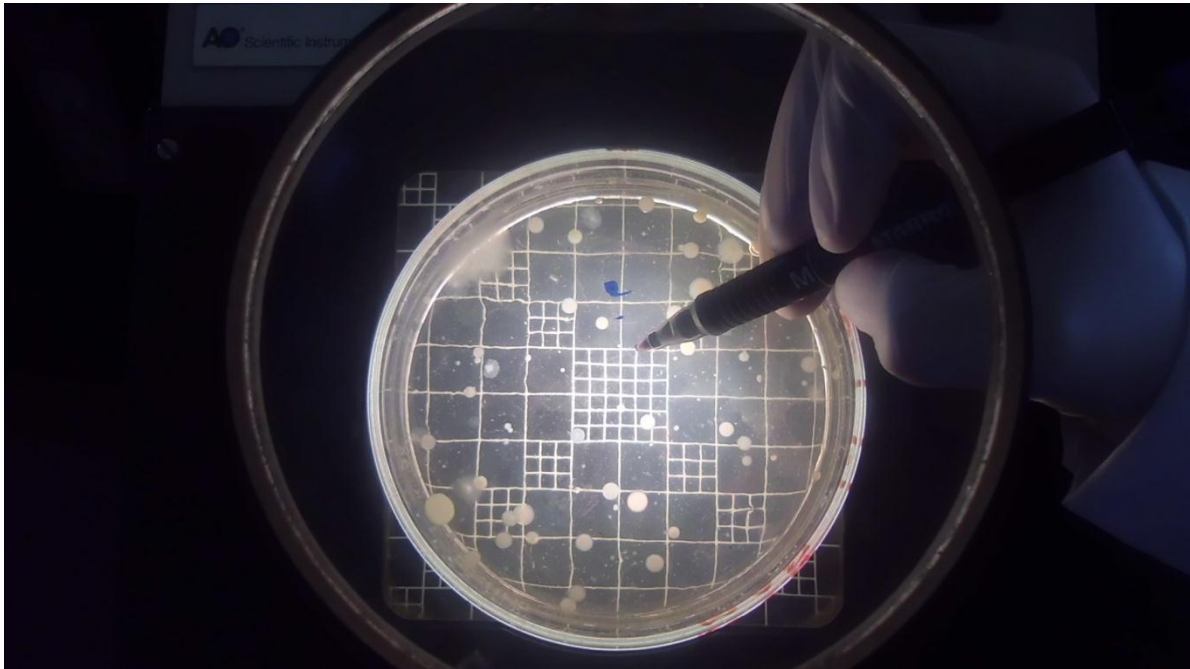


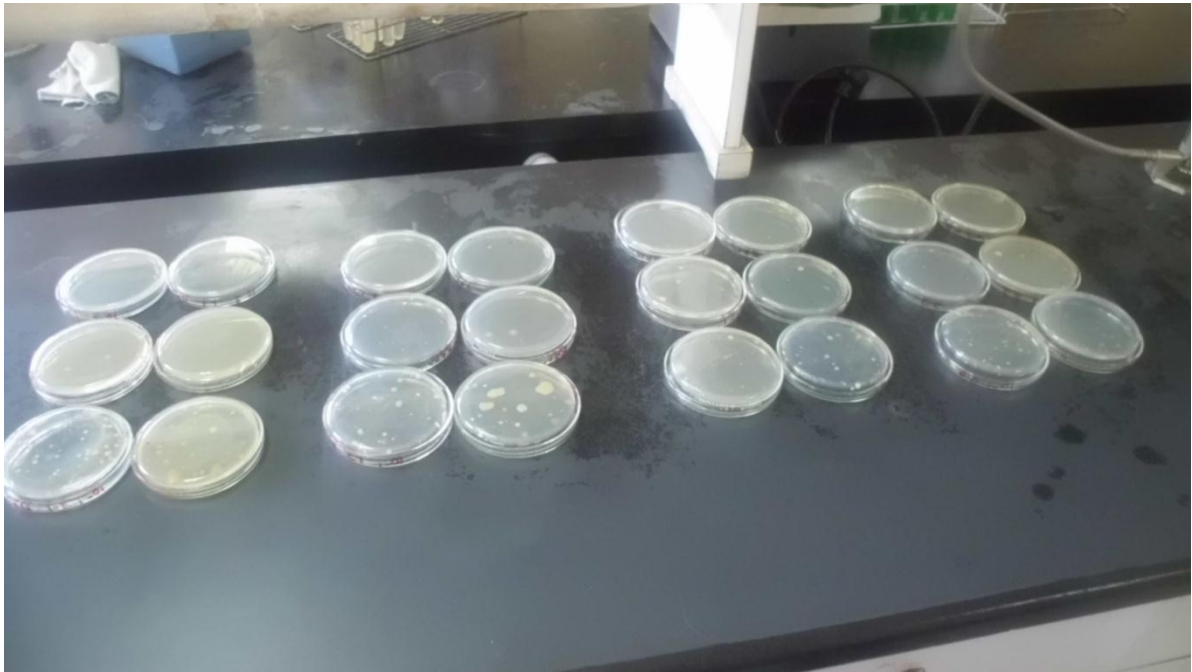
ANEXOS

FICHA PARA RECOLECCION DE INFORMACION

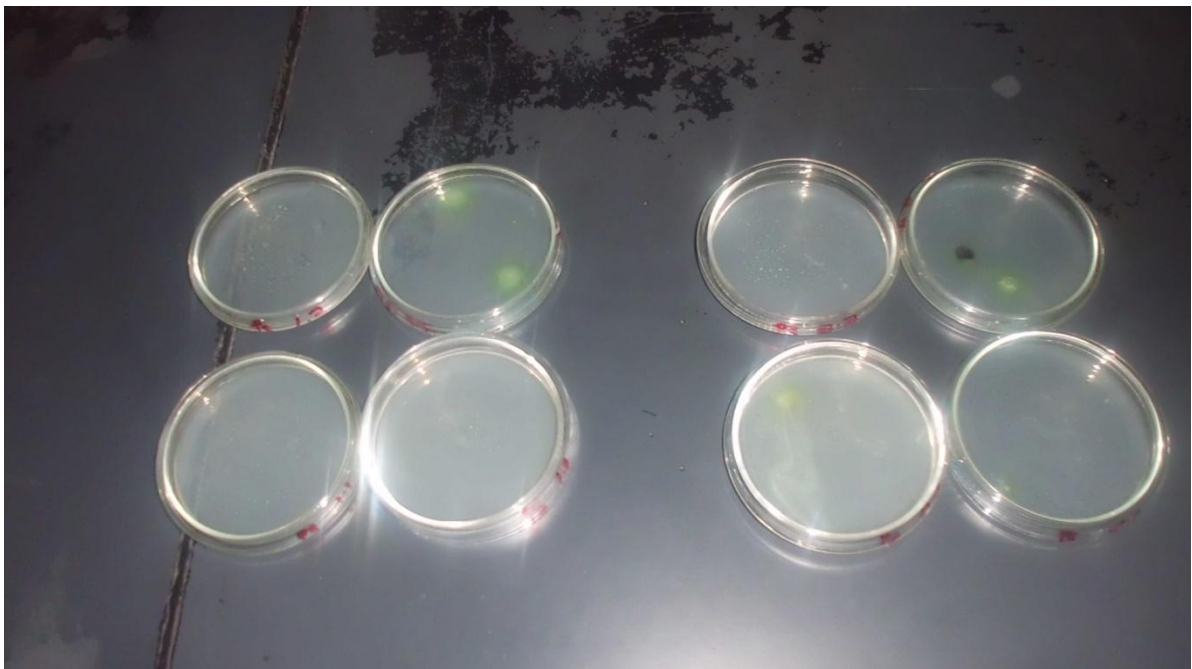
Ubicación de los pozos	N° de muestras	N° de repetición	Cantidad de muestra
.			
Cuantificación de:		Identificación de:	
<p>Coliformes totales Prueba presuntiva: Positiva <input type="checkbox"/> Negativa <input type="checkbox"/></p> <p>Prueba confirmativa: Positiva <input type="checkbox"/> Negativa <input type="checkbox"/></p> <p>Bacterias aerobias mesofilas: _____</p>		<p>Pseudomona aeruginosa: Presencia <input type="checkbox"/> Ausencia <input type="checkbox"/></p> <p>Coliformes fecales (E. coli): Presencia <input type="checkbox"/> Ausencia <input type="checkbox"/></p>	
Observacion:			

CONTEO DE BACTERIAS AEROBIAS MESOFILAS

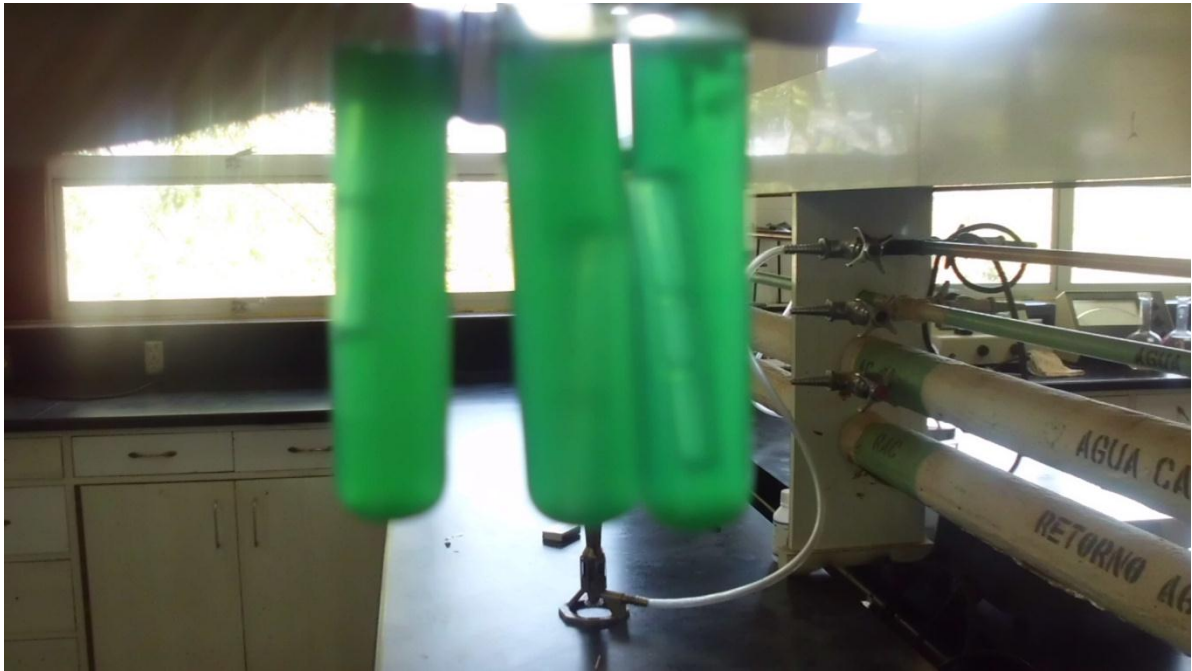




IDENTIFICACION DE *PSEUDOMONA AERUGINOSA*



COLIFORMES TOTALES



COLIFORMES FECALES

