

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
CARRERA DE FARMACIA**



**Evaluar la calidad microbiológica del agua de consumo en la Facultad de Ciencias  
Químicas de la UNAN - León (Campus Médico), Marzo ó Octubre 2016.**

**Monografía para optar al grado de Licenciado químico ó Farmacéutico**

**Autores: Jorge Luis Celiz Reyes  
Belkis Valeria Soto Mayorga**

**Tutor: MSc. Gloria María Herrera**

**Noviembre, 2016**

*A la Libertad por la Universidad*

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios:*

Por darnos las fuerzas espiritual, la fe, y los entendimientos para poder culminar nuestra carrera universitaria por ser el guía y la luz en el trayecto de nuestras vidas, por permitirnos llegar donde estamos y así poder culminar con éxitos.

*A Nuestros Padres:*

*Por el apoyo incondicional por sus consejos, amor y valores que nos regalaron día día para formarnos como excelentes estudiantes; por cada uno de los sacrificios que realizaron para poder formarnos como profesionales.*

*A MSc Gloria María Herrera:*

*Por su apoyo incondicional, por su colaboración y conocimientos científicos que nos brindos con mucho cariño para poder culminar nuestra tesis.*

*A personal Técnico del área de microbiología:*

*A Doña Gladys a Don David Por su aporte, disponibilidad y participación de sus conocimientos en el desarrollo de las prácticas de nuestras tesis.*

*Jorge Celiz*

*Belkis Soto*

**DEDICATORIA**

*A Dios por haberme dado la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que he dado en mi vida, por fortalecer mis conocimientos y por haber puesto en mi camino a todas aquellas personas que han sido mi pilar en mi vida.*

*A mis padres, Luis Soto y Bianca Mayorga, por darme sus consejos, su apoyo incondicional, su amor, por guiarme y jamás faltarme, por ser los mejores padres y los pilares más importantes en mi vida.*

*A mi esposo Frankdenis Reyes, por ser mi confidente, mi aliado, mi soporte, por apoyarme y brindarme su amor incondicional para poder culminar mi carrera.*

*A mi hija, Frania Reyes por ser mi motivación, mi fuerza para terminar mis estudios, por ser la luz en mi camino y el pilar en mi vida.*

*A mi hermano Luis Antonio soto, por siempre estar conmigo en mis logros y brindarme su amor.*

*A mi suegra Gloria Herrera, por brindarme su maravillosa ayuda incondicional, por sus consejos y sobre todo por su cariño brindado para culminar mis estudios.*

***Belkis Soto.***

### ***DEDICATORIA***

Dedico este trabajo principalmente a Dios nuestro creador por haberme regalado la vida, la salud, la fortaleza y el privilegio de poder culminar mi carrera, por ser el pilar fundamental y la columna vertebral de mi vida; por haberme iluminado a lo largo de mi experiencia universitaria y haberme bendecido de mil maneras inexplicables.

A mis padres por ser los guías y la luz que siempre han estado en cada momento de mi vida por ser ellos los promotores de mis logros y los acompañantes cuando más los he necesitado, por inculcarme valores pulcros y por haber dado todo su esfuerzo para formarme en un hombre de bien y poder servir a mi patria.

A mi hija por ser el motor que me impulsa todos los días a seguir luchando y crecer, por ser la garante de mis alegrías y de proponerme nuevas metas, por ser la luz y felicidad de mi vida.

A mi esposa por su amor, por acompañarme y apoyarme incondicionalmente en cada una de mis tomas de decisiones, por sus consejos y por su enorme comprensión en los momentos más difíciles de mi vida universitaria y personal.

A mi tutora MSc. Gloria María Herrera por su dedicación, su tiempo, su apoyo y disposición que siempre la ha caracterizado

***Jorge Celiz.***

**INDICE**

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>6</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>7</b>
<b>DISEÑO METODOLÓGICO</b>	<b>22</b>
<b>RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>31</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>32</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>33</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>37</b>

## **INTRODUCCION**

El agua es el componente más importante de nuestro planeta y ocupa el 70% de su superficie. Pero, a pesar de ello, menos del 3% es agua dulce y 66% de este porcentaje resulta de muy difícil acceso. Por lo que únicamente algo menos del 1% del volumen total es de fácil disponibilidad (WHO, 2006)

El agua de consumo humano ha sido definida en las Guías de Calidad del Agua de Bebida de la Organización Mundial de la Salud- OMS (OMS, 1985) como “adecuada para consumo humano y para todo uso doméstico habitual incluida la higiene personal”. El agua no debe presentar ningún tipo de riesgo que pueda causar irritación química, intoxicación o infección microbiológica que sea perjudicial a la salud humana (Vargas, 1996).

El agua es un factor que puede convertirse en un vehículo para la adquisición de diversas enfermedades en el ser humano. Actualmente, existen descritas más de 20 enfermedades en las que el agua actúa directa o indirectamente en su aparición, algunas de ellas con alto impacto en términos de morbilidad y mortalidad (Sánchez Pérez, et al. 2000).

Conocer la calidad microbiológica del agua resulta de gran relevancia, dado el riesgo asociado con la ingesta de agua contaminada con bacterias patógenas, virus, protozoarios y helmintos provenientes de las heces fecales de humanos y animales (WHO, 2003).

La calidad del agua se refiere a las condiciones en que se encuentra el agua respecto a características físicas, químicas y biológicas, en su estado natural o después de ser alteradas por el accionar humano. El concepto de calidad del agua ha sido asociado al uso del agua para consumo humano, entendiéndose que el agua es de calidad cuando puede ser usada sin causar daño (WHO, 2003).

En este contexto, se considera que el agua es de buena calidad cuando está exenta de sustancias y microorganismos que sean peligrosos para los consumidores y está exenta de sustancias que transmitan sensaciones sensoriales desagradables para el consumo, como el color, el olor, el sabor o turbiedad. La importancia de la calidad del agua radica en que el agua es uno de los principales medios para la transmisión de muchas enfermedades que afectan a los humanos (Rose y Grimes, 2001).

El monitoreo que se realiza para evaluar la calidad del agua desde el punto de vista microbiológico, en donde, es prácticamente imposible medir los organismos presentes; por ello se ha desarrollado un método en el que se consideran bacterias indicadoras. Este es un Grupo de bacterias cuya función es mostrar evidencia de contaminación fecal proveniente de animales de sangre caliente. Los criterios para considerar un organismo como indicador son: a) que el indicador esté presente cuando el patógeno también lo esté; b) que el indicador esté presente en grandes cantidades en materia fecal; c) que el indicador responda a condiciones ambientales o procesos de tratamiento de manera similar a los patógenos de interés; d) que el indicador sea fácil de aislar, identificar y enumerar; e) que exista una relación alta indicador-patógeno; f) que el indicador y el patógeno deben provenir de la misma fuente, esto es del tracto gastrointestinal (Gerba, 2000).

Así, el grupo de bacterias coliformes se aplica como prueba general de monitoreo de calidad del agua y se ha utilizado en todo el mundo a lo largo de los últimos 100 años para llevar a cabo estudios de agua potable, contaminación de sistemas acuáticos, fuentes de contaminación de aguas residuales crudas y sistemas de tratamiento de aguas residuales y aguas recreativas (Rose y Grimes, 2001). También se han propuesto otros microorganismos para ser usados como indicadores alternativos; tal es el caso del grupo Enterococos y *Escherichia coli*, entre otros (Scott et al., 2002).

Hay estudios en los que se evalúa la calidad del agua de consumo humano, entre estos podemos mencionar.

En el 2002, Marchand Pajares, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Mayor de San Marcos, realizó un estudio, en las que se investigó a los **Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana**, en esta investigación que se realizó entre Junio y Diciembre del 2000, se analizaron 224 muestras de agua del sistema de almacenamiento y distribución de agua en inmuebles y 56 muestras de agua provenientes de pozo. De estas el 17,86% de las muestras de agua de inmuebles y 73,68% de las muestras provenientes de pozos no cumplieron con las normas microbiológicas. Además de los indicadores tradicionales se encontró *Pseudomona aeruginosa* y *Streptococos fecales*, hallándose estos microorganismos en muchos de los

casos, en ausencia de coliformes. Concluyendo que estos dos microorganismos indicadores pueden ser utilizados como indicadores complementarios de la calidad del agua de uso humano (Marchand Pajares, 2002)

Zavalaga Talledo, de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann en el 2012, realizó un estudio con el título **Calidad Microbiológica y Físico ó Química del agua embotellada en la ciudad de Tacna, Perú**. En esta investigación se evaluaron 11 marcas de agua que fueron seleccionadas por ser las de mayor consumo y publicidad. Los parámetros analizados (E. coli, Coliformes totales, *Pseudomonas aeruginosa*, pH, turbidez, color, conductividad, sólidos totales disueltos, cloruros, sulfatos, dureza total, sodio, aluminio, arsénico, hierro, manganeso y boro) se compararon con los límites establecidos en la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008 (“Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano”) y el DS N° 031-2012-SA del 2011 (“Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano”). La recolección de las muestras se llevó a cabo en 4 distritos seleccionados (Distrito de Tacna, Distrito Cnel. Gregorio Albarracín Lanchipa, Distrito de Ciudad Nueva y Distrito de Pocollay) y en diferentes fechas a través de un muestreo al azar. Se analizó parámetros fisicoquímicos y microbiológicos relevantes para la salud humana y exigida por normas existentes (Zavalaga Talledo, 2012).

Los resultados indicaron que el 63,63% de las marcas analizadas no cumplen con la realidad requerida para este tipo de productos; por lo que se recomienda que el ministerio de salud no solo elabore y apruebe una norma de calidad para las aguas envasadas según la realidad actual, sino también amplíe los requisitos que se piden para el registro de estos productos como son los parámetros fisicoquímicos y así asegurar la calidad de agua embotellada que consume la población de Tacna (Zavalaga Talledo, 2012).

Otro estudio, realizado por Vanegas Urey y Rojas Hernández en el 2014, con el título **Evaluación de la calidad de agua de los grifos de la Facultad de Ciencias Químicas mediante Métodos Biológicos y Fisicoquímicos, Febrero - Mayo 2014**. En esta investigación se realizó el ensayo microbiológico del Número más probable y se comprobó la ausencia total de *Coliformes fecales y totales* en cada una de las muestras por lo tanto

están dentro de los límites permisibles según lo declarado por el reglamento de la calidad de agua para consumo humano en esta prueba, sin embargo se determinó la presencia de *Pseudomona aeruginosa* en la muestra 2 y 4, lo que implica que ambas muestras no son aptas para consumo humano por la alta patogenicidad de esta bacteria una vez que es ingerida y alojada en el cuerpo humano. (Vanegas Urey, Rojas Hernández, 2014)

El peligro más común y difundido, relativo al agua de consumo humano es el de su contaminación microbiana con aguas servidas y excretas del hombre y de los animales. Si dicha contaminación es reciente y se hallan microorganismos patógenos, es posible que dichos microorganismos se encuentren vivos y con capacidad de producir enfermedad. (VERGARAY y MENDEZ, 1994). Para controlar los peligros se aplican criterios (guías y estándares) para normar la calidad de las aguas; éstos establecen requisitos que deben satisfacer las aguas para que puedan ser destinadas al consumo humano sin que afecten su salud. El cumplimiento de los requisitos de calidad sanitaria debe reducir en forma significativa los riesgos de contraer enfermedades infectocontagiosas (INHEM, CUBA, 1992). Sin embargo, si los requisitos de calidad sanitaria no son los adecuados, carecerán de importancia para proteger y controlar la calidad del agua y su aplicación no cumplirá con los objetivos previstos.

El agua de consumo inocua, según se define, no ocasiona ningún riesgo significativo para la salud cuando se consume durante toda una vida, teniendo en cuenta que el personal docente y administrativo lleva años laborando en esta facultad y que los alumnos pasan la mayor parte del tiempo en estas áreas, sumado a eso, en este mismo año, se contaminaron las tuberías de agua potable, ya que hubo una mala manipulación de los sistemas de distribución del agua de consumo en el Campus médico, por lo tanto es de suma importancia conocer la calidad microbiológica en las que se encuentra esta agua que es ingerida día a día. Es por eso que este trabajo de investigación nos dará los datos exactos desde el punto de vista microbiológico en que se encuentran el agua de consumo, específicamente en el área de la Facultad de Ciencias Químicas.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La presencia de microorganismos en el agua potable y la formación de biopelículas en los sistemas de distribución producen la contaminación bacteriológica. Las biopelículas se forman en las tuberías de los sistemas de distribución cuando las células microbianas se adhieren a las superficies de las tuberías y se multiplican para formar una capa de limo, las cuales son microambientes dinámicos, con procesos tales como metabolismo, crecimiento y formación de productos. La tasa de formación de las biopelículas dependen de las propiedades fisicoquímicas de la interface, rugosidad de la superficie y los factores fisiológicos de los microorganismos fijados, como: bacterias heterotróficas (coliformes totales y fecales), oportunistas, resistentes a los antibióticos y a los desinfectantes, pigmentadas, hongos, protozoarios y otros invertebrados. (USEPA, 1992).

El conocer la calidad del agua de esta institución nos ayudará a determinar la potabilidad de la misma, basándonos en la falta de mantenimiento, a la mala manipulación de los Sistemas de distribución y que estas tuberías han sido usadas desde los años 70, se sospecha de una posible contaminación del vital líquido.

Por tal razón nuestro problema es: ¿El agua que consume la comunidad universitaria de la Facultad de Ciencias Químicas reúne las características de potable con base a la **Norma NTON 09 003-99** y las **Norma Regional Capre**, para Agua Potable?

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la calidad microbiológica del agua de grifos de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN - León (Campus Médico), mediante la **norma NTON 09 003-99** y las **Norma Regional Capre**, para Agua Potable. Marzo – Octubre 2016.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Determinar la presencia de Coliformes Fecales y Totales mediante el Método del Número más Probable en las muestras en estudio.
2. Detectar la presencia de Bacterias Aerobias Mesófilas, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*.
3. Comparar los resultados obtenidos con los límites especificados por la norma NTON 09 003-99 y las Norma Regional Capre, para Agua Potable.

## **MARCO TEÓRICO**

El agua es el componente más importante de nuestro planeta y ocupa el 70% de su superficie. Pero, a pesar de ello, menos del 3% es agua dulce y 66% de este porcentaje resulta de muy difícil acceso. Por lo que únicamente algo menos del 1% del volumen total es de fácil disponibilidad (WHO, 2006).

El agua es esencial para sustentar la vida y debe hacerse disponible a todos los seres humanos un abastecimiento seguro y accesible. El acceso mejorado del agua de bebida segura suele producir beneficios tangibles a la salud, por lo que los abastecedores deben hacer el esfuerzo de obtener una calidad de agua inocua a la salud de los consumidores (WHO, 2006).

El agua de bebida segura, no representa ningún riesgo significativo a la salud durante la expectativa de vida del ser humano, sin embargo, los recién nacidos, niños, personas debilitadas o aquellas que viven bajo condiciones antihigiénicas y ancianos, son los más susceptibles de ser afectadas por la calidad del agua (WHO, 2006).

La gran mayoría de los problemas de salud relacionados con el agua es resultado de la contaminación microbiana por bacterias, virus, protozoarios u otros agentes biológicos. No obstante, un número apreciable de consecuencias puede ocurrir como resultado de la contaminación química del agua de bebida (WHO, 2006).

La obtención y el mantenimiento de la calidad del agua y de los servicios de abastecimiento no solo es responsabilidad del abastecedor, ni del órgano de salud encargado de vigilancia, sino de una serie de instituciones comprometidas con la seguridad del agua, conduciendo que la calidad del agua sea una responsabilidad de toda la sociedad (WHO, 2006)

La gestión preventiva para asegurar la calidad del agua de bebida debe tomar en cuenta las características del suministro de agua desde la cuenca hasta el consumidor. A menudo, muchos aspectos de la gestión de la calidad del agua de bebida están fuera de la responsabilidad directa del proveedor y por ello es necesario tener un enfoque

multiinstitucional para asegurar que las agencias vinculados directa e indirectamente con el abastecimiento de agua participen en la gestión de su calidad, aunque estas desempeñen diferentes funciones (WHO, 2006).

El agua es un elemento vital para la existencia humana, de su uso adecuado depende nuestra salud, alimentación y producción agrícola (Gray, N.F. 1996). El utilizar agua contaminada en la preparación de alimentos u otras actividades nos podría producir un gran número de casos de infección (Fernández, E. 1981)

A nivel mundial alrededor de 1,8 millones de personas mueren cada año debido a enfermedades diarreicas (incluido el cólera); un 90% de esas personas son niños menores de cinco años, principalmente procedentes de países en desarrollo. Además se ha estimado que el 88% de las enfermedades diarreicas son producto de un abastecimiento de agua insalubre, de un saneamiento y una higiene deficientes (OMS, 2004).

## **CONTAMINANTES DEL AGUA**

Existe gran número de contaminantes del agua que pueden clasificarse en:

**Microorganismos patógenos.** Son bacterias, virus, protozoos y otros organismos que transmiten enfermedades, como cólera y tifoidea. Estos microorganismos llegan al agua en heces y otros restos orgánicos que producen las personas o animales infectados (Haas Mora, 2010).

**Desechos orgánicos.** Son el conjunto de residuos naturales producidos por los seres vivos. Incluyen heces fecales y otros materiales que pueden ser descompuestos por bacterias aeróbicas (bacterias que utilizan oxígeno en los procesos de descomposición). Cuando este tipo de desechos se encuentra en exceso, la proliferación de bacterias agota el oxígeno, y los organismos ya no pueden vivir en esta agua (Haas Mora, 2010).

**Substancias químicas inorgánicas.** En esta clasificación se agrupan ácidos, sales y metales pesados. Estos contaminantes, en cantidades altas, pueden causar graves daños a los organismos e incluso su muerte (Haas Mora, 2010).

**Nutrientes vegetales inorgánicos.** Este tipo de nutrientes, solubles en agua, son esenciales para el desarrollo de las plantas; sin embargo, su acumulación excesiva produce el crecimiento desmesurado de algas y otros organismos, provocando la eutrofización del agua. Cuando estos organismos y plantas mueren, los microorganismos los degradan, y consumen el oxígeno existente en el agua, lo que provoca que estas aguas se vuelvan anóxicas (pobres en oxígeno) y sea imposible la vida en ellas (Haas Mora, 2010).

**Compuestos orgánicos.** Son moléculas que poseen carbono como base de su estructura. Estos compuestos, sintéticos en su mayoría, son detergentes, disolventes, plaguicidas, aceites, gasolinas y otros productos derivados del petróleo. Estos compuestos poseen complejas estructuras moleculares, difíciles de degradar por los microorganismos (Haas Mora, 2010).

**Sedimentos y materiales suspendidos** (detritos). Pequeñas partículas del suelo son arrastradas al agua y provocan que se enturbie, es decir, disminuyen la visibilidad y el paso de la luz a través de ella, al aumentar la cantidad de materiales en suspensión. Con el tiempo, este proceso provoca el azolvamiento de cuerpos de agua (Haas Mora, 2010).

**Substancias radiactivas.** Son elementos radiactivos o isótopos, que pueden encontrarse de manera natural en los lugares o ser vertidas en ellos antropogénicamente. La acumulación de estas sustancias en los tejidos de los seres vivos provoca deformaciones, enfermedades y muerte (Haas Mora, 2010).

**Contaminación térmica.** Algunas fuentes de energía, como las termoeléctricas o las nucleoeeléctricas, y algunos procesos industriales liberan agua caliente en cuerpos de agua, lo que provoca la disminución de oxígeno en el agua y la afectación de los organismos que ahí habitan (Haas Mora, 2010).

#### **IMPORTANCIA SANITARIA DEL ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DEL AGUA.**

El agua para consumo humano puede estar contaminada por microorganismos patógenos de origen fecal como virus, bacterias, y parásitos. Muchas enfermedades importantes se asocian a contaminación del agua por desechos humanos. Algunas de éstas enfermedades,

como las gastrointestinales, ocupan lugares preponderantes como causa de mortalidad infantil en lugares donde la pobreza y la desnutrición son comunes, siendo los niños el grupo de la población más afectado. Las enfermedades parasitarias causan debilidad crónica llevando al individuo a un mayor riesgo de sufrir infecciones por otros microorganismos.

La materia fecal contiene una gran cantidad de bacterias, casi siempre inofensivas, algunas de éstas son utilizadas como indicadores de contaminación fecal. En la mayoría de infecciones por bacterias entéricas patógenas existe el estado de portador sano, por lo que en las comunidades donde estas infecciones son comunes, una proporción de individuos sanos serán foco de excreción de bacterias patógenas, este estado de portador puede variar de unas semanas hasta toda la vida del individuo.

#### **MICROORGANISMOS PATOGENOS TRANSMITIDOS POR EL AGUA**

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 las enfermedades transmitidas por el agua se suelen contraer al ingerirlos en forma de agua o de alimentos, contaminados por esas heces (vía fecal-oral) (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

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 (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

#### **Bacterias transmitidas por el agua (Véase Anexo N° 1).**

##### *Shigellae dysenteriae*

Causa la disentería (diarrea sangrante), una enfermedad que se manifiesta con fiebres altas, síntomas tóxicos, retortijones, pujos intensos e incluso convulsiones.( Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

*Salmonella typhi*

Es un bacilo que causa la fiebre tifoidea, una enfermedad sistémica grave que puede dar lugar a hemorragia o perforación intestinal. Aunque el agente de la fiebre tifoidea puede transmitirse también por alimentos contaminados y por contacto directo con personas infectadas, la forma más común de transmisión es a través del agua.( Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

La fiebre tifoidea ha sido prácticamente eliminada de muchas partes del mundo, principalmente como resultado del desarrollo de métodos efectivos para tratar el agua (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001).

*Salmonella spp.*

Agente de salmonelosis, enfermedad más frecuente que la fiebre tifoidea, pero generalmente menos severa. ( Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

*Vibrio cholerae*

Agente etiológico del cólera, se transmite habitualmente a través del agua. Sin embargo, también puede transmitirse por consumo de mariscos u hortalizas crudas. La enfermedad ha sido prácticamente eliminada en los países desarrollados gracias a la eficaz potabilización del agua. (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

*Escherichia coli*

Generalmente las cepas de *E. coli* que colonizan el intestino son comensales, sin embargo dentro de esta especie se encuentran bacterias patógenas causantes de una diversidad de enfermedades gastrointestinales. (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

Dentro de los *E. coli* patógenos se incluyen: *E. coli enteropatógeno*, *E. coli enterotoxigénico*, *E. coli enteroinvasivo*, *E. coli enterohemorrágico*, *E. coli enteroadherente*, *E. coli enteroagregativo*. (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

## **ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL AGUA**

Los riesgos vinculados al deterioro y escasez de agua pueden clasificarse en las siguientes categorías: (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

- Los transmitidos por el agua (Véase Anexo N° 2)
- Con base en el agua
- Vectoriales relacionadas con el agua

A causa de las enfermedades de origen hídrico y el interés de controlarlas, los estudios bacteriológicos del agua se han orientado, en su mayor parte, hacia sus aspectos sanitarios. Uno de los criterios, utilizado para determinar la calidad sanitaria del agua, es la clase y número de bacterias que se encuentran presentes. En general, los métodos utilizados están diseñados para detectar el grado de contaminación del agua con desechos de origen humano y/o animal. (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

## **MICROORGANISMOS INDICADORES**

Tradicionalmente se han usado ensayos para la determinación de microorganismos indicadores más que para la determinación de patógenos. Los métodos usados para el aislamiento y el recuento de los microorganismos patógenos en agua, alimentos, etc. pueden no ser eficaces debido a que dichos microorganismos se encuentran en muy baja cantidad, sobre todo en presencia de números altos de otros microorganismos, o tienen una distribución irregular en el producto. (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

Aun cuando se cuenta con métodos sensibles, en general son largos y costosos; además, hay patógenos que no pueden determinarse en laboratorios no especializados, como por ejemplo, el virus de la hepatitis A. Estas dificultades han hecho que se utilicen grupos de microorganismos de detección y cuantificación más fáciles y cuya presencia en cierto número se considera como una indicación de que la muestra estuvo expuesta a condiciones que pudieron determinar la llegada a la misma de microorganismos peligrosos y/o permitir la proliferación de especies patógenas. (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001)

Estos grupos de microorganismos se denominan “indicadores” (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001).

Éstos son organismos habitualmente asociados al tracto intestinal (Mondaca J.A, Campos A.V. 2001), cuya presencia en el agua indica que el agua ha recibido una contaminación de origen intestinal.

### **Bacterias aerobias**

Las bacterias aerobias son todas las bacterias heterótrofas, aerobias o anaerobias facultativas, mesófilas y psicotróficas capaces de crecer en un medio de agar nutritivo. (APHA. 1998)

Este recuento de colonias es útil para evaluar el estado de los recursos de agua en su origen y la eficacia del proceso de tratamiento de las aguas destinadas al consumo humano e indica la limpieza y el estado de los sistemas de distribución. De igual modo, permite detectar cambios anómalos en el número de microorganismos en la red de distribución. Así, todo aumento repentino del número obtenido puede advertir de la existencia de un foco de contaminación y requeriría su inmediata investigación. (APHA. 1998)

## **COLIFORMES TOTALES Y FECALES**

### **Coliformes**

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua, alimentos y superficies

Caracteres bioquímicos (Bell, Chris y Kyriakides, Alec. 1998)

El grupo coliforme agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas:

- Ser aerobios o anaerobias facultativas.
- Ser bacilos Gram negativos.
- Ser oxidasa negativa.
- No ser esporógenas.
- Fermentar la lactosa a 35°C en 48 horas, produciendo ácido láctico y gas.

### **Hábitat del grupo coliformes**

No todos los coliformes son de origen fecal, por lo que se hará necesario desarrollar pruebas para diferenciar los a efecto de emplearlo como indicadores de contaminación. Se distinguen por lo tanto los coliformes totales que comprende la totalidad del grupo y los coliformes fecales, aquellos de origen intestinal (Bell, Chris y Kyriakides, Alec. 1998).

Desde el punto de vista de la salud pública esta diferenciación es importante puesto que permite asegurar con cierta certeza que la contaminación que presenta el agua es de origen fecal (Bell, Chris y Kyriakides, Alec. 1998).

El grupo de microorganismos es adecuado como indicador de contaminación bacteriana ya que los coliformes:

- Son contaminantes comunes del tracto intestinal tanto de los hombres como de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos.
- Permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas.
- Se comportan de igual manera que los patógenos en la manera de desinfección.
- Son ampliamente distribuidos en la naturaleza, especialmente en el suelo, semillas y vegetales.

### **COLIFORMES TOTALES**

#### **Definición.**

Son bacterias de morfología bacilar, gran aerobias o anaerobias facultativa no formadores de endosporas, oxidasa negativa y que fermenta la lactosa con producción de ácido y gas en 24-48 horas a 35 °C. (APHA. 1998)

### **COLIFORMES FECALES**

#### **Definición.**

Son bacterias coliformes, aerobias o facultativas anaerobias, Gram negativas, no formadoras de esporas, forma bacilar y crece con lactosa y la fermentan a 44.5 °C ± 0.5 °C con la producción de ácido y gas en 48 horas de incubación. (Jawetz, E, 2010)

Los miembros de este grupo se comportan como *E. coli* en relación con las reacciones bioquímicas y la morfología de las colonias. Se diferencian de otros grupos de microorganismos por la facultad que tienen de crecer en medios que contienen sales biliares que actúan como agentes selectivos sólo frente a microorganismos no entéricos. Los coliformes comprenden al menos tres géneros: *E. coli*, *Klebsiella* *Enterobacter*. Como los coliformes son habitantes comunes del tracto intestinal, su presencia en el agua puede indicar una contaminación fecal. Por ello, a los coliformes se les considera microorganismos “indicadores” (Jawetz, E, 2010).

Hay tres niveles (fases) para el análisis de coliformes en el agua

**Prueba Presuntiva:** esta prueba estima el recuento presuntivo de coliformes porque se enumeran también las colonias que son similares a las de coliformes (por ejemplo, las que producen ácido o gas de la lactosa). Si un recuento presuntivo de coliformes es bajo, el analista puede considerar que el producto es captable en relación con esta prueba y puede decidir no realizar análisis adicionales. En caso de elevados recuentos presuntivos de coliformes, el analista puede guiarse por los resultados y optar para el segundo nivel analítico (es decir, el de confirmación) (Yousef, A. E., Carlstrom, C., 2006)

**Prueba Confirmativa:** esta prueba se realiza para confirmar el recuento obtenido en el test presuntivo. La confirmación se realiza cuando se someten a los coliformes presuntivos a otras pruebas y los resultados son positivos. Por ejemplo, si la prueba presuntiva se basó en la detección del gas producido por las bacterias fermentadoras de lactosa, la prueba confirmatoria puede implicar la detección de la formación de ácido en condiciones más selectivas. La confirmación del recuento de coliformes en agua puede llegar hasta el tercer nivel (es decir, una prueba concluyente) (Yousef, A. E., Carlstrom, C., 2006)

**Prueba concluyente:** cuando se llega a esta fase, es necesario analizar al menos el 10 % de los tubos que se confirmaron como positivos. La prueba concluyente se hace con diferentes intenciones. Puede estar destinada a comprobar si los coliformes encontrados son, o no, de origen fecal o para comprobar que *E. coli* está representado entre los microorganismos del recuento confirmado de coliformes. (Yousef, A. E., Carlstrom, C., 2006)

### *Escherichia coli*

#### **Generalidades**

Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de gram negativo, es anaeróbico facultativo, móvil por flagelos periticos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa, catalasa positiva y oxidasa negativa, produce de manera típica pruebas positivas la indol, produce hemólisis en agar sangre. El agar EMB se utiliza para el aislamiento de enterobacterias gram negativas. La presencia del azul de metileno inhibe a las bacterias gram positivas. Las colonias de *Escherichia coli* pueden exhibir un brillo verde metálico característico debido a la rápida fermentación de la lactosa. Reducen los nitratos a nitritos. El crecimiento a partir de pequeños inóculos (100 células por mililitro) se inicia a un intervalo de pH entre 4.4 y 8.8 a un rango biocinético de 9-44°C y en gradientes salinos de 0-6.5% fermenta gran variedad de azúcares, tales como la arabinosa, el manitol, la glucosa y la xilosa, produciendo una mezcla de ácidos, etanol, CO<sub>2</sub> e hidrógeno. No produce acetiltilcarbinol diacetilo. A pesar de que la beta-galactosidasa se encuentra habitualmente presente, la lactosa solamente puede ser fermentada después de mucho tiempo. La descarboxilación y desaminación de aminoácidos se realiza de formas muy variables dependiendo de las cepas. Debido al escaso número de reacciones positivas características, la diferenciación entre cepas recientemente aisladas de *E. coli* y cepas de los géneros Citrobacter, Enterobacter, Yersinia y Shigella, puede precisar de otras reacciones, además de la fermentación de la lactosa, las pruebas IMViC y la tinción de Gram (ICMSF 2000).

#### **Patogenia**

La importancia de *E. coli* como patógeno humano ha sido reconocida prácticamente desde su descubrimiento y el organismo ha sido relacionado con la diarrea (especialmente en niños), con la colitis hemorrágica (HC), con la disentería, con infecciones de la vejiga urinaria y de los riñones, con la infección quirúrgica de las heridas, con la septicemia, con el síndrome urémico hemolítico (HUS), con la neumonía y con la meningitis; algunas de estas enfermedades acaban en muerte. Por lo general, cepas diferentes de *E. coli* están relacionadas con enfermedades clínicas diferentes. *E. coli* es habitualmente un representante inofensivo de la micro flora comensal normal de la porción distal (fina o terminal) del tracto intestinal de las personas y de los animales de sangre caliente que, en las personas, incluye a menos del 1% de esta población en cantidades que varían desde 10<sup>8</sup>

por gramo de heces. Aunque la mayor parte de las cepas de *E. coli* no son patógenas, la especie contiene cepas que son capaces de causar varios tipos de enfermedades, algunos mortales, y se sabe que algunas de estas cepas son transmitidas por aguas. Las infecciones de *E. coli* se transmiten por tres vías principales: directamente de los animales, que incluyen los animales de granja y los animales domésticos de compañía, mediante propagación persona a persona y por medio de alimentos o aguas contaminadas (ICMSF 2000).

### **Tratamiento**

El uso de antibióticos es poco eficaz y casi no se prescribe. Para la diarrea se sugiere el consumo de abundante líquido y evitar la deshidratación. Cuando una persona presenta diarrea no debe ir a trabajar o asistir a lugares públicos para evitar el contagio masivo. Sin embargo en algunas patologías como la pielonefritis hay que considerar el uso de alguna cefalosporina endovenosa.

### *Pseudomona aeruginosa*

#### **Generalidades**

Están constituidos por bastoncillos aerobios gramnegativo motiles, algunos de los cuales producen pigmentos solubles en agua. Las *Pseudomonas* se encuentran distribuidas con amplitud en el suelo, el agua, las plantas y los animales. La *Pseudomona aeruginosa* se encuentra a menudo en números pequeños en la flora intestinal normal y en la piel del ser humano. Otras especies de *Pseudomonas* producen enfermedad con muy poca frecuencia.

La *Pseudomona aeruginosa* se encuentra distribuida con amplitud en la naturaleza, y es frecuente descubrirla en los ambientes húmedos de los hospitales. Pueden colonizar al ser humano normal, en el cual es un microorganismo saprófito. Produce enfermedad en la persona que tiene defensas anormales (Jawetz, E, 2010).

#### **Morfología e identificación**

**Microorganismo típico:** La *Pseudomona aeruginosa* es motil y tiene forma de bastoncillo, mide aproximadamente 0.6 x 2  $\mu\text{m}$ . Es una bacteria gramnegativo y se encuentra de manera aislada, en parejas y, ocasionalmente, en cadenas cortas (Jawetz, E, 2010).

**Cultivo:** La *Pseudomona aeruginosa* es un aerobio obligado que crece con facilidad en muchos tipos de medios de cultivo, y produce en ocasiones un olor dulzón o de uvas. Algunas cepas hemolizan la sangre (Jawetz, E, 2010).

La *Pseudomona aeruginosa* forma colonias redondas lisas con color verdoso fluorescente. Con frecuencia produce el pigmento azulado no fluorescente piocianina, que se difunde en agar. Otras especies de *Pseudomonas* no producen piocianina. Muchas cepas de *Pseudomonas Aeruginosa* elaboran también el pigmento florescente pioverdina (Jawetz, E, 2010).

**Característica del crecimiento:** La *Pseudomona aeruginosa* crece bien a una temperatura que oscila entre 37 a 42°C su crecimiento a 42°C ayuda a distinguirla de otra especie de *Pseudonomas* (Jawetz, E, 2010).

### **Patogenia**

La *Pseudomona aeruginosa* es patógena solo cuando se introduce en zonas desprovistas de defensas normales (Jawetz, E, 2010).

La bacteria se fija a las mucosas o a la piel y las coloniza, las invade de manera local y produce enfermedad general (Jawetz, E, 2010).

## **METODOS DE ANALISIS**

### **Número más probable (NMP)**

El método se basa en la inoculación de alícuotas de la muestra sin diluir que pueden ser volúmenes de 50, 10 y 1 mL, ó de 10, 1 y 0.1 mL, o diluida en caso necesario, en una serie de tubos por triplicado o quintuplicado con un medio que contiene lactosa (caldo lactosado o caldo lauril triptosa) (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

La valoración del contenido microbiano de una muestra de agua por el método del NMP supone la utilización de tablas numéricas que tienen en cuenta los volúmenes de agua y las

cantidades de tubos sembrados en una o más series (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

Realmente consiste en tratar estadísticamente el número de tubos de cada serie sembrada que resulten positivos después de su incubación (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009). La técnica del NMP comprende siempre una prueba presuntiva y otra confirmativa.

Esto es así porque una positividad en un tubo de la prueba presuntiva no indica necesariamente la presencia del grupo bacteriano a determinar (coliformes totales, Coliformes fecales o *Streptococos Fecales*), sino tan solo es una presunción, que habrá de confirmarse posteriormente (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

Sin embargo, una negatividad en la prueba presuntiva permite dictaminar la ausencia de dicho grupo bacteriano en el agua examinada. La denominada prueba presuntiva consiste en una metodología de tipo general para cualquier grupo de bacterias, mientras que la prueba confirmativa es específica (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

### **Recuento de bacterias heterotróficas totales**

Consiste en un método estandarizado para determinar la densidad de bacterias heterótrofas, mesófilas aerobias y anaerobias facultativas en el agua. Así se obtiene información útil que se estudia junto con el índice de coliformes; también se usa para controlar un determinado proceso en el tratamiento de agua o para verificar la calidad del agua tratada, luego de recorrer toda la red de distribución (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

Este método se basa en contar el número de colonias desarrolladas en una placa de medio de cultivo sólido, en el que se ha sembrado un volumen conocido de agua muestra, transcurrido un tiempo y una temperatura de incubación determinados (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

### **Prueba de sustrato enzimático**

Para la detección simultánea de coliformes totales y *Escherichia coli* se puede utilizar la prueba de sustrato enzimático (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

En este caso, el grupo de coliformes totales incluye todas las bacterias que presentan la enzima beta-D-galactosidasa, que hidroliza un sustrato cromogénico (por ejemplo, ONPG) liberando el cromógeno. Como E. coli se incluyen todas las bacterias que dan positiva la reacción de coliformes totales y que tienen actividad beta-glucuronidasa, que rompe el sustrato fluorogénico (por ejemplo, MUG), liberando el fluorógeno. Este método permite llevar a cabo tanto recuentos como ensayos de ausencia/presencia (Mondaca J, M.A. Campos A, V. 2009).

### **Pruebas bioquímicas**

Las pruebas bioquímicas se basan en la habilidad de las bacterias de producir enzimas fácilmente detectables y en características metabólicas específicas de cada microorganismo. Con este fin, existen en el mercado una enorme variedad de medios de cultivo diseñados no sólo para permitir el crecimiento y multiplicación de los microorganismos, sino también para inhibir los de otros (medios selectivos) o resaltar determinadas características metabólicas (medios diferenciales) (FDA 2000), (APHA 1998).

Estas enzimas involucradas en el metabolismo bacteriano, pueden ser evidenciadas en medios de cultivo especiales que contienen los sustratos sobre los cuales ellas actúan, junto con un sistema indicador que va a poner de manifiesto la degradación del sustrato o la presencia de un metabolito específico (FDA 2000), (APHA 1998).

### **Prueba de la Catalasa**

En los ambientes acuosos, que contienen oxígeno disuelto, como el citoplasma de las células, aparecen formas tóxicas derivadas del oxígeno. Las bacterias que viven en ambientes aerobios necesitan un equipo enzimático capaz de neutralizar estas formas tóxicas (FDA 2000), (APHA 1998).

Entre estas enzimas se encuentra la catalasa, que convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular (FDA 2000), (APHA 1998).

### **Prueba de la Oxidasa**

La prueba se basa en comprobar la existencia de proteínas citocromo c que forman parte de algunas cadenas transportadoras de electrones propias del metabolismo respirador. La presencia de citocromo c se manifiesta por la capacidad del colorante tetrametil-pfenilendiamina de oxidarse al ceder electrones al citocromo c, apareciendo una coloración azul (forma oxidada) (FDA 2000), (APHA 1998).

Esta prueba permite diferenciar el grupo Enterobacteriaceae (que carece de citocromo c) del género *Pseudomonas* (que posee citocromo c) (FDA 2000), (APHA 1998).

### **Prueba de Indol**

Esta prueba se emplea para detectar la presencia de la enzima triptofanasa en las bacterias. Esta enzima degrada el aminoácido triptófano a indol, compuesto que se determina en el ensayo. Para realizar esta prueba, la bacteria se cultiva en un caldo de tripton con NaCl al 0,5 % (medio especialmente rico en triptófano). Si la bacteria tiene la enzima triptofanasa, al añadir al medio el reactivo de Kovacs, este formará un complejo con el indol y se producirá un anillo de color rojo en la superficie del caldo y la prueba será considerada positiva (FDA 2000), (APHA 1998).

### **Prueba de Movilidad**

Determina si un organismo es móvil o inmóvil. Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos, que se encuentran principalmente entre los bacilos; sin embargo algunas formas de cocos son móviles (FDA 2000), (APHA 1998).

La movilidad bacteriana es otra característica importante en la identificación final de especie, se realiza en medios semisólidos como el SIM. La prueba de motilidad se interpreta realizando un cuidadoso examen macroscópico del medio para observar una zona de desarrollo difuso que parte de la línea de inoculación (FDA 2000), (APHA 1998).

### **Prueba de Rojo de metilo y Voges-Proskauer**

Las bacterias que en anaerobiosis fermentan los azúcares pueden realizar esto por distintas rutas. Las enterobacterias son anaerobios facultativos que utilizarán la glucosa en dos

fases: primero la metabolizarán aerobiamente, consumiendo rápidamente el oxígeno del medio, para, en segundo lugar, continuar metabolizándola por vía anaerobia (fermentación) (FDA 2000), (APHA 1998).

Esta fermentación puede ser de dos tipos:

- a. **Fermentación ácido-mixta.** Los productos finales son ácidos orgánicos (fórmico, acético, láctico y succínico) y etanol. Fermentación característica de los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia* (FDA 2000), (APHA 1998).
- b. **Fermentación butilén-glicólica.** Los productos finales son compuestos neutros como el butanodiol y el etanol, produciéndose acetoina como intermediario. Fermentación característica de los géneros *Enterobacter*, *Serratia* y la mayoría de especies *Erwinia* (FDA 2000), (APHA 1998).

La liberación de ácidos orgánicos en el primer tipo de fermentación (ácido-mixta) generará un acusado descenso del pH que podrá ser detectado añadiendo al medio un indicador de pH como el rojo de metilo (rojo a pH de alrededor 4,0) (FDA 2000), (APHA 1998).

Si la fermentación que se ha llevado a cabo es del tipo butilén-glicólica, la producción de acetoina puede ser detectada añadiendo al medio KOH y alfa-naftol (prueba Voges-Proskauer) que reaccionará con este compuesto produciendo un color rojo característico. (FDA 2000), (APHA 1998).

### **Prueba de Citrato**

Esta prueba indica la capacidad de las bacterias de metabolizar el citrato. El medio Citrato Simmons contiene citrato como única fuente de carbono, fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno y azul de bromotimol como indicador de pH. Únicamente las bacterias capaces de metabolizar el citrato (indica presencia de la enzima citrato permeasa) podrán multiplicarse en este medio y, al hacerlo, utilizarán los fosfatos presentes liberando iones amonio. Estos iones amonio que evolucionan a amoníaco, junto con la eliminación del citrato (ácido), generará una fuerte basificación del medio que se manifestará por un cambio de color del indicador de pH, de verde a azul (FDA 2000), (APHA 1998).

### **Prueba de Triple-Azúcar-Hierro y Sulfuro de hidrógeno (TSI y H<sub>2</sub>S)**

Determina la capacidad de un microorganismo para atacar los hidratos de carbono glucosa, lactosa y/o sacarosa, con producción o no de gases (CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>), junto con la producción o no de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) (FDA 2000), (APHA 1998).

En esta prueba se leen e interpretan las siguientes reacciones bioquímicas: (FDA 2000), (APHA 1998). (Véase Anexo N° 3).

- ✓ Fermentación de la glucosa (K/A).
- ✓ Fermentación de glucosa, lactosa y/o sacarosa (A/A).
- ✓ No fermentación de los carbohidratos (K/K), la bacteria no utiliza los hidratos de carbono, produciendo aminas que alcalinizan el fondo y la superficie del medio. Algunas bacterias no fermentadoras solamente atacan la peptona aeróbicamente dando un TSI: K/N, es decir no hay cambio en el fondo del tubo.
- ✓ Producción de gas: ruptura del medio.
- ✓ Producción de H<sub>2</sub>S: ennegrecimiento del medio.

**DISEÑO METODOLOGICO:**

**Tipo de Estudio:** Experimental.

**Área de Estudio:** Laboratorio de Microbiología DEL Departamento de Farmacia Industrial, Carrera de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas.

**Universo de Estudio:** Aguas de los Grifos ubicados en la Facultad de Ciencias Químicas.

**Tamaño de la Muestra:** Corresponde a 16 diferentes muestras que se ubican en diferentes puntos de la Facultad de Ciencias Químicas.

**Criterios de Inclusión:**

- a. Los puntos de toma de las muestras para el estudio, estén en el área de la Facultad.
- b. Las muestras tienen que ser de grifos donde tomen agua para consumo.

**Criterios de Exclusión:**

- a. Los puntos de toma de las muestras para el estudio, que no estén en el área de la Facultad.
- b. Las muestras no tienen que ser de grifos donde no se tome agua para consumo.

**Unidad de Análisis:** Agua de los grifos más utilizados en la Facultad de Ciencias Químicas.

**Fuente de información:**

Primaria y secundaria, la primera debido a que es un estudio de experimentación y la información se obtendrá a través de estos experimentos y la secundaria porque se utilizarán medios bibliográficos que sustenten los resultados.

**Procesamiento y Análisis de la Información:**

La información obtenida se analizó por medio de métodos computarizados, utilizando los programas Microsoft Office: Word 2010, Excel 2010.

**Materiales, reactivos y equipos.**

Material	Equipo	Reactivos
<b>Beacker 100 y 500ml.</b>	Balanza Analítica: Modelo	HCl Concentrado.
<b>Balones 100, 250 y 1000ml.</b>	Surtorios serie TE2145.	H <sub>2</sub> O Destilada.
<b>Probeta 100ml.</b>	Incubadora doble a 36°C	Agua de Grifo
<b>Erlenmeyer de 250 ml.</b>	precion Scientific: Modelo 6M.	Caldo Lactosado.
<b>Gradilla.</b>	Autoclave para esterilizar los medios de cultivos	Agar Digerido Caseína y Soya
<b>Tubos de Ensayos.</b>	Cocina Cornig Hot plate pc-100.	Caldo E. coli
<b>Espátula.</b>	Baño Maria CMS 392-159.	Agar Cetrimide
<b>Pipeta de 1, 5 y 10ml.</b>	Agitador Vortex Scientific	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
<b>Placa petri.</b>	Industries Modelo: K550G UL	
<b>Asa.</b>	Listed.	
<b>Mechero Bunsen.</b>		
<b>Fosforo.</b>		
<b>Papel Aluminio.</b>		
<b>Campana de Durham</b>		

**Variables:**

1. Método del Número más Probable.
2. Cuantificación de Bacterias Aerobias Mesófilas.

**Operacionalización de variables:**

Variable	Concepto	Indicadores	Escala
<b>Método del Número más Probable</b>	Método para la detección y enumeración en agua de organismos Coliformes Totales, organismo Coliformes Fecales (termotolerantes) y <i>Escherichia coli</i> presuntivas, mediante el cultivo de un medio líquido en tubos múltiples y el cálculo de su NMP en la muestra.	Presencia o Ausencia de Turbidez y producción de gas.	NMP/ ml
<b>Cuantificación de Bacterias Aerobias Mesófilas.</b>	Número de UFC de bacterias capaces de crecer en un medio agar nutritivo y verifica la limpieza del agua.	Conteo de colonias en la placa de agar.	UFC/mL.

**Procedimiento:**

**1. Recolección de la muestra.**

Nos presentamos a cada una de las instalaciones y áreas en donde tomamos las muestras del agua de grifo.

Procedimos a recolectar estas muestras usando el equipo necesario, guantes, nazobucos, gorro y gabacha para evitar cualquier tipo de contaminación. Las muestras fueron tomadas directamente del grifo se desinfecto con alcohol y se flameo durante un minuto para eliminar posibles impurezas presentes en los diferentes grifos.

Se Abrió el grifo, hasta que alcanzara su flujo máximo y se dejó correr el agua durante dos minutos. Este procedimiento limpia la salida y descarga el agua que ha estado almacenada en la tubería. Se Abrió el frasco de muestreo.

Se llenó el frasco. Hay que Mantener la tapa y la cubierta protectora hacia abajo (para evitar la entrada de polvo portador de microorganismos). Poner inmediatamente el frasco debajo del chorro de agua y llenarlo

Se dejó un espacio de aire (aproximadamente un tercio del frasco) para facilitar la agitación de la muestra antes del análisis microbiológico. Colocar el tapón al frasco. Enroscar la tapa y fijar

Recolectamos un litro de agua en los recipientes de vidrio de las diferentes áreas de estudios, estos recipientes fueron esterilizados previamente y de taparon y enumeraron respectivamente cada una de ellas.

**2. Preparación de las muestras.**

Una vez que realizamos el ensayo microbiológico, las aguas restantes las almacenamos.

**3. Ensayo Microbiológico para detectar presencia de coliformes totales y fecales.**

**Test presuntivos para coliformes:**

Preparamos las muestras y disoluciones siguientes:

- a) Elaboramos una disolución de 1:10 en el laboratorio y de ella se sacaron disoluciones 1:100 y 1:1000.
- b) Incubamos 9 tubos de caldo lactosado (3 diluciones y 3 tubos de diluciones).
- c) Agitamos suavemente cada tubo para una adecuada disolución con el medio de cultivo.
- d) 3 tubos con 10 ml de caldo lactosado y 10 ml de la muestra.
- e) 3 tubos con 5 ml de caldo lactosado y 1 ml de la muestra.
- f) 3 tubos con 5 ml de caldo lactosado y 0.1 ml de la muestra.
- g) El tiempo entre la preparación de la muestra y la inoculación en el medio no fue mayor de 15 min.
- h) Se incubaron a 35°C +/- 1°C por 24 horas.

Nota: este procedimiento se realizó para cada una de las muestras.

#### **Interpretación:**

- a. Si el total de tubos son negativos: El examen se da por terminado, reportando la ausencia de Coliformes totales y fecales en la muestra analizada.
- b. Todos aquellos tubos que den positivos para prueba presuntiva se anotarán convenientemente y se procederá a realizar la prueba confirmatoria para Coliformes totales y fecales.

#### **Test confirmativos para coliformes:**

Los tubos que resultaron positivos a las 24 horas o 48 horas en el test presuntivo se transfirieron al caldo BVB para confirmar coliformes.

- a) Se mezclaron por agitación el tubo del test presuntivo con caldo BVB.
- b) Se incubaron los tubos BVB a 37°C x 48h +/- 2 horas.

Al final observamos la ausencia de efervescencia en los tubos de fermentación de caldo BVB.

#### **Interpretación:**

- Si se observa turbidez y producción de gas: La prueba se considera POSITIVA, debiendo anotar el número de tubos positivos para posteriormente hacer el cálculo del NMP.

- Si en ninguno de los tubos se observa producción de gas, aun cuando se observe turbidez: Se consideran NEGATIVOS, estableciéndose el Código 0,0,0 para efecto del cálculo del Número más probable (NMP).

#### **4. Identificación de bacterias Aerobias Mesófilas.**

- a) Tomamos 1 ml de la muestra y lo llevamos a un tubo de ensayo que contenía 9 ml de solución de fosfato monobásico de potasio; solución ( $10^{-1}$ )
- b) Luego tomamos 1 ml de la solución de concentración  $10^{-1}$  y lo llevamos a otro tubo de ensayo conteniendo 9 ml de fosfato monobásico de potasio para obtener una solución de concentración  $10^{-2}$ .
- c) De la solución de concentración de  $10^{-2}$  tomamos 1 ml y lo llevamos a otro tubo de ensayo conteniendo 9 fosfato monobásico de potasio para obtener una solución de concentración  $10^{-3}$ .
- d) Incubamos a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas.
- e) Posterior a la incubación tomamos dos asada y se replicaron por duplicado de cada una de las diluciones y lo colocamos en una placa Petri con agar TSC.
- f) Incubamos a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas.
- g) Finalmente tomamos dos asadas de la dilución  $10^{-3}$  y se replicaron por duplicado en agar Cetrimide, medio selectivo para *Pseudomona aeruginosa*.
- h) Incubamos a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas.

## RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

**Tabla N° 1. LUGAR DE TOMAS DE MUESTRAS**

<b>N° Toma</b>	<b>Lugar de toma</b>
001	Grifo del pantri, departamento de Tecnología de Alimentos
002	Grifo del lava mano, departamento de Tecnología de Alimentos
003	Grifo del lavandero, departamento de Tecnología de Alimentos
004	Grifo sector del aula L-1
005	Grifo frente al aula B-5 (Edificio CCQQ)
006	Grifo de pantri, Decanatura CCQQ.
007	Grifo de Jardín Frente a la Farmacia de CCQQ
008	Grifo servicio higiénico de varones, planta baja. Edificio de CCQQ
009	Grifo servicio higiénico de mujeres, planta baja. Edificio de CCQQ
010	Grifo de cubículo de aseo, planta baja. Edificio de CCQQ
011	Grifo de sala de estar, segundo piso, Dpto. Farmacia Industrial
012	Primer grifo laboratorio B-10. Dpto. Farmacia Industrial
013	Primer grifo laboratorio B-11. Dpto. Farmacia Industrial
014	Grifo P-54, ambiente de preparación de reactivos. Farmacia Industrial
015	Grifo laboratorio B-12. Dpto. Farmacia Industrial
016	Grifo de cubículo de aseo, planta alta. Edificio de CCQQ
017	Grifo servicio higiénico de varones, planta alta. Edificio de CCQQ
018	Grifo servicio higiénico de mujeres, planta alta. Edificio de CCQQ

La recolección de la muestra es un punto crítico en el procedimiento de la evaluación de la calidad del agua. La selección del punto de muestreo tendrá como requisito principal que la muestra sea representativo de las fuentes de agua.

El muestreo se realizó, escogiendo diferentes puntos de toma de agua en la Facultad, se realizó el muestreo en grifos que estuvieran en constante uso por la comunidad universitaria. Además incorporamos el edificio del departamento de Tecnología de Alimentos. (Ver tabla N° 1)

**Tabla N° 2. Determinación de Bacterias Aerobias Mesófilas**

<b>Muestras de Agua de los diferentes grifos de la Facultad de Ciencias Químicas</b>					
Nº de Muestra	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	Observación	Especificación
001	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
002	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
003	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
004	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
005	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
006	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
007	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
008	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
009	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
010	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
011	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
012	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
013	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
014	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
015	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
016	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
017	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL
018	-	-	-	Ausencia	< 100 UFC/mL

Lectura: - No hay Crecimiento      + Hay Crecimiento

Los recuentos de Bacterias Aerobias Mesófilos en placa son útiles para determinar la potabilidad de un agua, así como también la eficiencia de las operaciones para eliminar microorganismos, como la sedimentación, filtración y cloración.

La determinación del conteo de bacterias aerobias Mesófilas en una muestra de agua se realiza, normalmente, por siembra en una placa, de un volumen determinado de agua, por incubación a una temperatura concreta y en un tiempo determinado, y por recuento posterior de las colonias desarrolladas y con la aceptación implícita de que cada colonia es originada por una bacteria de la muestra inicial, por lo tanto, el número de colonias equivaldrá al número de bacterias en el volumen sembrado.

Las pruebas de recuentos de bacterias aerobias Mesófilas en las tres muestras de agua dieron resultados negativos como se muestran en la tabla #2, es decir, que no hubo crecimiento de Bacterias.

De acuerdo a datos bibliográfico, el agua de buena calidad, para consumo humano, debe tener cuentas bajas de esta bacterias: < 100 UFC por mililitro, tal y como lo mostraron los resultados. Por lo tanto desde el punto de vista microbiológico en relación a Bacterias Aerobias Mesófilas, las aguas analizadas en el laboratorio están libre de contaminantes biológicos.

**Tabla N° 3. Prueba Presuntiva para Coliformes fecales y totales**

<b>Muestras de Agua de los diferentes grifos de la Facultad de Ciencias Químicas</b>			
<b>Nº de Muestra</b>	<b>10<sup>1</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>
001	-	-	-
002	-	-	-
003	-	-	-
004	-	-	-
005	-	-	-
006	-	-	-
007	-	-	-
008	-	-	-
009	-	-	-
010	-	-	-
011	-	-	-
012	-	-	-
013	-	-	-
014	-	-	-
015	-	-	-
016	-	-	-
017	-	-	-
018	-	-	-

Al realizar el análisis presuntivo del ensayo NMP a las muestras recolectadas se encontró que las muestra no presentaron Coliformes Fecales y Totales (ver tabla # 1), por lo tanto al dar negativa dicha prueba no fue necesario la realización de la pruebas confirmativas y complementarias, de acuerdo con los parámetros establecidos en las bibliografias la cual refiere que al dar negativas la prueba presuntiva el examen se da por terminado reportando la ausencia de Coliformes Totales y Fecales en la muestra analizadas. Por lo cual se considera que estas aguas son aptas para el consumo, de acuerdo al reglamento de la calidad del agua para el consumo humano NTON 09 003-99 y las Norma Regional Capre, para Agua Potable.

## **CONCLUSIÓN:**

El agua es un recurso muy valioso para una sociedad, ya que para que esta pueda desarrollarse normalmente debe haber un buen suministro de este líquido vital.

La necesidad de proveer de un agua de calidad microbiológica aceptable por las normas técnicas nicaragüenses y las Normas CAPRE, nos obliga a hacer análisis periódicos en su calidad microbiológica en los diferentes puntos de nuestra facultad.

Nuestro trabajo tuvo como objetivo Evaluar la calidad microbiológica (Coliformes Totales y fecales y Bacterias Aerobias Mesófilas) del agua de los diferentes grifos que más se utilizan en la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN – León, llegando a las siguientes conclusiones:

El ensayo microbiológico del Número Más Probable determinó: la ausencia total de Coliformes Fecales y Totales en las muestras analizadas de agua independientemente de su procedencia, todas las muestras mostraron la ausencia total de estos microorganismos, por lo cual es apta para su consumo, según el reglamento de la calidad del agua para el consumo humano (NORMAS TÉCNICAS NICARAGÜENSES y las Normas CAPRE)

La detección de Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM) en las muestras de aguas, es nula, lo cual la hace apta para su consumo.

Por lo tanto concluimos que de acuerdo a los resultados de cada uno de los ensayos realizados, el agua de grifo que actualmente se está consumiendo en las diferentes áreas de la Facultad de Ciencias Químicas son aptas para el consumo humano.

**RECOMENDACIONES:**

De acuerdo a las conclusiones del presente estudio se recomienda lo siguiente:

1. Seguir realizando estudios experimentales, para monitorear la calidad del agua, en todos los sectores del Campus médico, para así, poder proporcionar a la comunidad universitaria que labora y estudia en esta área de estudios agua de calidad.
  2. Proponer el estudio para la identificación de diversos tipos de bacterias que puedan estar presente en el agua y causen un potencial daño a la salud humana.
- 
1. Realizar otros métodos analíticos cuantitativos en la cual se lleve a cabo la identificación de metales.
  2. Proponer a las autoridades encargadas de desarrollar el plan académico e incorporar en el área de microbiología y toxicología ensayos donde se pretenda determinar la calidad de agua.

## **BIBLIOGRAFÍA**

APHA (American Public Health Association, EE.UU.), AWWA (American Water Works Association, EE.UU.) y WEF (Water Environment Federation, EE. UU). 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 ed. Washington DC, EE. UU. Part. 9000. [Revisado: Agosto 2016]. Disponible en: [http://www.mwa.co.th/download/file\\_upload/SMWW\\_1000-3000.pdf](http://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_1000-3000.pdf)

Bell, Chris y Kyriakides, Alec. (1998) E. coli una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. Zaragoza, España Editorial Acribia. [Revisado: Agosto 2016]. Disponible en: [https://cataleg.urv.cat:444/search~S13\\*cat?/c664.098+Jea/c664!p.098+!mJea!c/47,-1,0,E/2browse](https://cataleg.urv.cat:444/search~S13*cat?/c664.098+Jea/c664!p.098+!mJea!c/47,-1,0,E/2browse)

Comité Coordinador Regional de Instituciones de Agua Potable y Saneamiento de Centroamérica, Panamá y República Dominicana. Normas de Calidad del Agua para Consumo Humano. [Revisado: Agosto 2016]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/e/cd-cagua/normas/lac/13.NIC/01.norma.pdf>

FDA (Food and Drug Administration). (2000). Bacteriological Analytical Manual 8 rev. Arlington, USA. AOAC (Association of Analytical Communities). [Abril de 2016]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>

Fernández, E. 1981. Microbiología Sanitaria: Agua y sus Alimentos. Vol. 1 Universidad de Guadalajara. Pp. 39-56,159-170. [Revisado: Octubre 2016]. Disponible en: <http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/5803/6466>

Gerba, C.P. (2000) Quantitative Microbiology. Assessment of Enteric Pathogen Shedding by Bathers during Recreational Activity and its Impact on Water Quality. 2: 55. doi:10.1023/A:1010000230103. [Revisado: Julio 2016]. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1010000230103>

Gray, N.F. 1996. Calidad del agua potable (Problemas y soluciones). Editorial Acriba Zaragoza, España. Pp. 154-160. [Revisado: Agosto 2016]. Disponible en: [https://books.google.com.ni/books/about/Calidad\\_Del\\_Agua\\_Potable.html?id=i6WingEACAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ni/books/about/Calidad_Del_Agua_Potable.html?id=i6WingEACAAJ&redir_esc=y)

Haas Mora, H.S. (2010). Aguas superficiales y subterráneas. [Revisado: Agosto 2016]. Disponible en: [http://www.ingenieria.unam.mx/haaz/geologia/presentaciones/04\\_aguas-superficiales\\_y\\_subterranas.pdf](http://www.ingenieria.unam.mx/haaz/geologia/presentaciones/04_aguas-superficiales_y_subterranas.pdf)

ICMSF. (2000). Microorganismo de los alimentos I: Su significado y método de enumeración. Zaragoza, España, Editorial Acribia. 2º Edición. Págs. 131, 134,189

Jawetz, Ernest, Melnick, Joseph, Adelberg Edward. (2010) Microbiología Médica. México D.F 25a Edición. Editorial EL Manual Moderno S.A de C.V. 1992. Pags. 237-238 [Revisado: Julio 2016]

INAA. (Instituto Nicaragüense de Acueductos y Alcantarillados). (2010). Normas Técnicas para el Diseño de abastecimiento y potabilización del agua (NTON 09 003-99). [Revisado: Julio 2016]. Disponible en: [http://www.bvsde.org.ni/Web\\_textos/INAA/0013/13%20Norma%20TecnicaDiseno%20Ay%20P.pdf](http://www.bvsde.org.ni/Web_textos/INAA/0013/13%20Norma%20TecnicaDiseno%20Ay%20P.pdf)

Marchand Pajares. E.O. (2002). Microorganismos Indicadores de la Calidad del Agua de Consumo Humano en Lima Metropolitana. Tesis para optar al título Profesional de Biólogo con mención en Microbiología y Parasitología. [Revisado: Julio 2016]. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/marchand\\_p\\_e/tesis\\_completo.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/marchand_p_e/tesis_completo.pdf)

Mondaca J, M.A. Campos A, V. (2009) Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua. Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales. Cap. 13. [Mayo de 2016]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd57/riesgo.pdf>

Mondaca J.A, Campos A.V. (2001). Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua. Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Cap. 13. [Revisado:Septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd57/riesgo.pdf>

OMS, Organización Mundial de la Salud. (2004) Relación del agua, el saneamiento y la higiene con la salud. [Revisado: Octubre 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/watersanitation health/publications/facts2004/es/index.html>

Rose, J. B. and D. J. Grimes. 2001. Reevaluation of microbial water quality: Powerful new tools for detection and risk assessment. A report from the American Academy of Microbiology. Washington, DC, USA. [Revisado: Julio 2016]. Disponible en: <http://www.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/a392435.pdf>

Sánchez Pérez, HJ. Vargas Morales, MG. Méndez Sánchez, JD. (2000) Calidad bacteriológica del agua para consumo humano en zonas de alta marginación de Chiapas. Sección de Patógenos, Laboratorio del Centro de Investigación de Paludismo, Instituto Nacional de Salud Pública, Tapachula, Chiapas, México. vol.42, no.5. [Revisado: Julio 2014]. Disponible en: <http://www.scielo.org/pdf/spm/v42n5/3990.pdf>

Sandoval, A.M., Carlos, G. IMTA (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua). (1991). Adiestramiento para la prevención y control de las enfermedades gastrointestinales en el sector agua. Determinación de Coliformes Fecales. [Revisado: Octubre 2016]. Disponible en: <http://www.ircwash.org/node/43775>

Scott, W. T. Takken, W. Knols B., Boëte. C. 2002. The Ecology of Genetically Modified Mosquitoes. Science 4;298(5591) 117-119. [Revisado: Agosto 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12364785>

USEPA (1992). Control of Biofilm Growth in Drinking Water Distribution Systems. EPA/625/R-92/001. Office of Research and Development, Washington, DC. [Revisado: Julio 2016]. Consultado en: <http://www.epa.gov>.

**Vanegas Urey, F.G. Rojas Hernández, H.P. (2014)** Evaluación de la calidad de agua de los grifos de la Facultad de Ciencias Químicas mediante Métodos Biológicos y Fisicoquímicos, Febrero - Mayo 2014. Monografía para optar al título de licenciado Químico Farmacéutico. Carrera de Farmacia. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León. [Revisado: Junio, 2016]. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3148/1/227072.pdf>

Yousef, A. E., Carlstrom, C., (2006). Microbiología de los alimentos: Manual de Laboratorio. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 2006. Págs. 65 – 66, 68, 69-70,129-134,181, 187.

Zavalaga Talledo E.N. (2012) “Calidad Microbiológica y Fisicoquímica del agua embotellada, comercializada en la ciudad de Tacna”. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Monografía. [Revisado: Junio, 2016]. Disponible en: <http://tesis.unjbg.edu.pe:unjbg/135>

WHO. (Organización Mundial de la Salud). (2006). Calidad del agua de bebida. [Revisado: Junio, 2016]. Disponible en Internet: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/e/cd-cagua/index.html>

# ANEXOS

ANEXO N° 1

PRINCIPALES BACTERIAS TRANSMITIDAS POR EL AGUA

Bacterias	Fuentes	Período de Incubación	Duración	Síntomas clínicos
<i>Salmonella thypi</i>	Heces, orina	7 – 28 días	5 – 7 días	Fiebre, tos, nausea, dolor de cabeza, vómito, diarrea
<i>Salmonella sp.</i>	Heces	8 – 48 horas	3 – 5 días	Disentería (Diarrea con sangre), fiebres altas, síntomas tóxicos, retortijones, pujos intensos e incluso convulsiones
<i>Shiguellae sp.</i>	Heces	1 – 7 días	4 – 7 días	Diarrea acuosa, vómito, deshidratación
<i>Vibrio cholerae</i>	Heces	9 – 72 horas	3 – 4 días	Diarrea acuosa
<i>V. cholerae</i> N°-01	Heces	1 – 5 días	3 – 4 días	Diarrea acuosa
<i>Escherichia coli enterohemorrágica</i> 0157:H7	Heces	3 – 9 días	1 – 9 días	Diarrea acuosa con sangre y moco, dolor abdominal agudo, vómitos, no hay fiebre.
<i>Escherichia coli enteroinvasiva</i>	Heces	8 – 24 horas	1 – 2 semanas	Diarrea, fiebre, cefalea, mialgias, dolor abdominal, a veces las heces son mucosas y con sangre
<i>Escherichia coli enterotoxigena</i>	Heces	5 – 48 horas	3 – 19 días	Dolores abdominales, diarrea acuosa, fiebre con escalofríos, nauseas, mialgia,
<i>Yersinia enterocolítica</i>	Heces y orina	1 – 11 días (24 – 48 horas)	1 – 21 días	Dolor abdominal, diarrea con moco, sangre, fiebre, vómito
<i>Campylobacter jejuni</i>	Heces	2 – 5 días (42 – 72 horas)	7 – 10 días	Diarrea, dolores abdominales, fiebre y algunas veces fecales con sangre, dolor de cabeza
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Heces	20 – 24 horas	1 – 2 días	Fiebre, escalofríos, dolor abdominal, nausea, diarrea o vómito
<i>Aeromonas sp.</i>	Heces	Desconocido	1 – 7 días	Diarrea, dolor abdominal, dolor de cabeza y colitis, las heces son acuosas y no son sanguinolentas

**ANEXO N° 2**  
**PRINCIPALES ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR EL AGUA**

Enfermedades	Causa y día de transmisión	Extensión geográfica	N° de casos <sup>a</sup>	Defunciones por año
Desintaría amebiana	Los protozoos pasan por la vía fecal – oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra	Todo el mundo	500 millones por año	*
Disentería bacilar	Las bacterias pasan por la vía fecal – oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona a otra	Todo el mundo	*	*
Enfermedades diarreicas (inclusive la disentería amebiana y bacilar)	Diversas bacterias, virus y protozoos pasan por la vía fecal – oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona con otra	Todo el mundo	4,000 millones actualmente	3–4 millones
Cólera	Las bacterias pasan por la vía fecal – oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona con otra	Sudamérica, África, Asia	384,000 por año	3-4 millones
Hepatitis A	El virus pasa por la vía fecal – oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona con otra	Todo el mundo	600,000 a 3 millones por año	2,400 a 12,000
Fiebre paratifoidea y tifoidea	Las bacterias pasan por la vía fecal – oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona con otra	80% en Asia, 20% en América Latina, África	16 millones actualmente	600,000
Poliomelitis	El virus pasa por la vía fecal – oral por medio del agua y alimentos contaminados, por contacto de una persona con otra	66% en la India, 34% en el Cercano Oriente, Asia, África.	82,000 actualmente	9,000

<sup>a</sup> El número de casos se presenta como incidencia (por año) ó el número de nuevos casos ocurridos en el año ó o como prevalencia (actualmente) - el número de casos existentes en un momento dado.

\*Incluidas las enfermedades diarreicas

\*\*No hay defunciones, pero causa 270,000 casos notificados de ceguera anualmente.

ND = No disponible

Fuente: WHO 1996, excepto disentería amebiana, disentería bacilar, dracunculosis, dengue y FVR, de WHO 1998

**ANEXO N° 3**

**LECTURA E INTERPRETACIONES DE RESULTADOS EN AGAR TRIPLE AZÚCAR HIERRO**

Clave	INTERPRETACIÓN		
	Color y aspecto	Fondo	Superficie Inclinada
<b>A</b>	Amarillo	Fermentación de GLUCOSA y formación de ÁCIDO	Fermentación de LACTOSA y/o SACAROSA con producción de ÁCIDO
<b>G</b>	Aparición de burbujas y grietas	Formación de GAS a partir de GLUCOSA	
<b>K</b>	Rojo Intenso	No fermentación de GLUCOSA y formación de ALCALI	No fermentación de LACTOSA ni SACAROSA. Formación de ALCALI
<b>N</b>	No hay cambio de color original (Rojo anaranjado)	No fermentación de GLUCOSA	No fermentación de LACTOSA ni SACAROSA
<b>SH<sub>2</sub></b>	+ Ennegrecimiento - Sin ennegrecimiento		Formación de SH <sub>2</sub> No formación de SH <sub>2</sub>

**ANEXO N° 4**

**LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS.**

Origen	Parámetros	Límites de Medida	Valor recomendable	Valor admisible
Agua Potable de uso humano	Coliformes Totales	NMP/100 ml	Neg.	≤ 1
	Coliformes Fecales	NMP/100 ml	Neg.	Neg

**ANEXO N° 5**

**LÍMITES PERMISIBLES DE PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS PARA AGUA POTABLE**

Parámetro	Límites permisibles
Bacterias Aerobias Mesófilas	100 UFC/ml
Escherichia coli	Ausencia/100 ml
Pseudomonas aeruginosa	Ausencia / 100 ml

## ANEXO 6

### GLOSARIO

**Aerobio Facultativo:** Es un tipo de microorganismo que tolera la falta de oxígeno aunque su principal fuente de energía la obtiene de la respiración aeróbica.

**Agua potable:** aquella apta para el consumo humano y que cumple con los parámetros físicos, químicos y microbiológicos establecidos

**Bacterias mesófilas aerobias:** son bacterias que viven en presencia de oxígeno libre a temperaturas entre 15 °C y 45 °C

**Biocenosis:** También llamada comunidad biótica, ecológica o simplemente comunidad; es el conjunto de organismos de todas las especies que coexisten en un espacio definido llamado biotopo, que ofrece las condiciones ambientales necesarias para su supervivencia.

**Coliformes:** Grupo de bacterias que comprende todos los bacilos aerobios y anaerobios facultativos, gram negativos, no esporulados que producen ácido y gas al fermentar la lactosa.

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

**Colonias:** Grupos discretos de microorganismo sobre una superficie, en oposición al crecimiento disperso en un medio de cultivo líquido.

**Cultivo:** Métodos para la multiplicación de microorganismos tales como bacterias, hongos y parásitos, en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado.

**Disentería:** Enfermedad infecciosa asociada a dolor abdominal, fiebre, diarrea e inflamación y ulceración.

***Escherichia coli:*** bacterias aerobias o anaerobias facultativas, gram-negativa, no formadoras de esporas. Es un indicador de contaminación fecal

**Entérico:** Relativo al intestino.

**Grupo coliforme total:** son bacterias en forma de bacilos, anaerobios facultativos, gramnegativos, no formadores de esporas. Es indicador de contaminación microbiana

**Indicador de contaminación microbiana:** son microorganismos no patógenos frecuentemente asociados a patógenos, utilizados para reflejar el riesgo de la presencia de agentes causantes de enfermedades

**Inocuo:** Que no hace daño.

**Parámetro:** Es aquella característica que es sometida a medición

**Placa vertida:** método utilizado para el conteo de bacterias heterótrofas en el que un medio sólido fundido y enfriado a 45 °C, se vierte dentro de cajas de petri que contienen una cantidad definida de muestra. El resultado se expresa en unidades formadoras de colonias UFC/ml

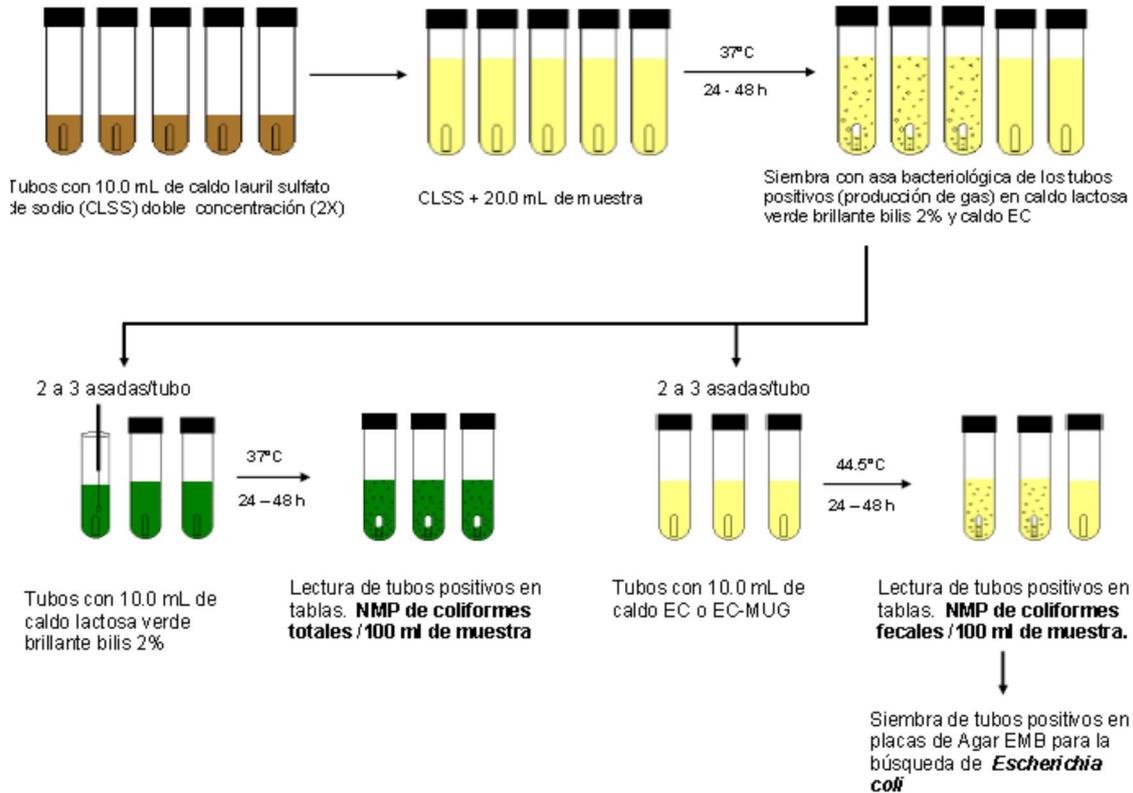
***Pseudomonas aeruginosa:*** es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, con motilidad unipolar. Se encuentra en el suelo, en el agua; prolifera en ambientes húmedos, es altamente resistente al cloro y es un patógeno oportunista

**Unidad Formadoras de Colonias (UFC):** Expresa el número de colonias originadas a partir de una célula, pares, cadenas o agrupaciones de células

ANEXO N° 7

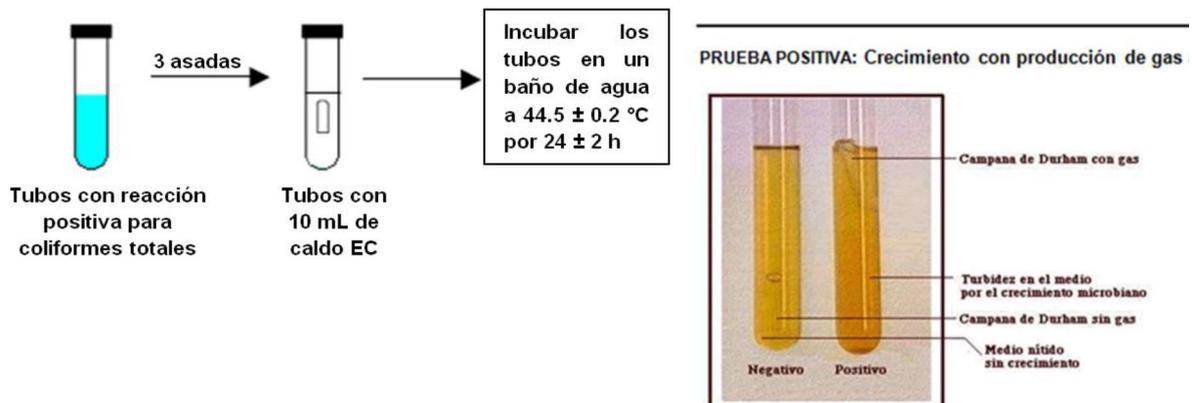
DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES

DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES EN AGUA Y HIELO POTABLES



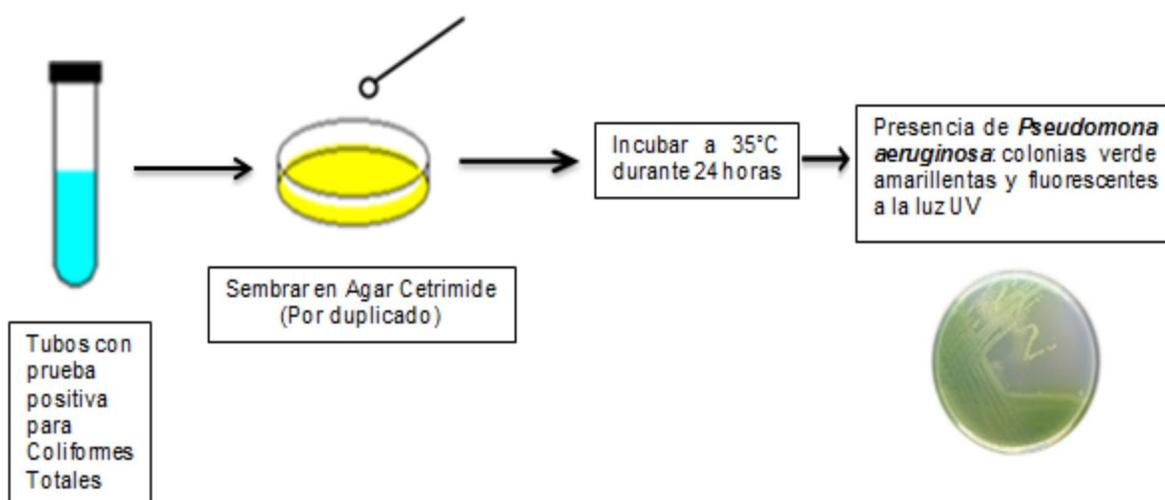
ANEXO N° 8

DETERMINACIÓN DE Coliformes fecales



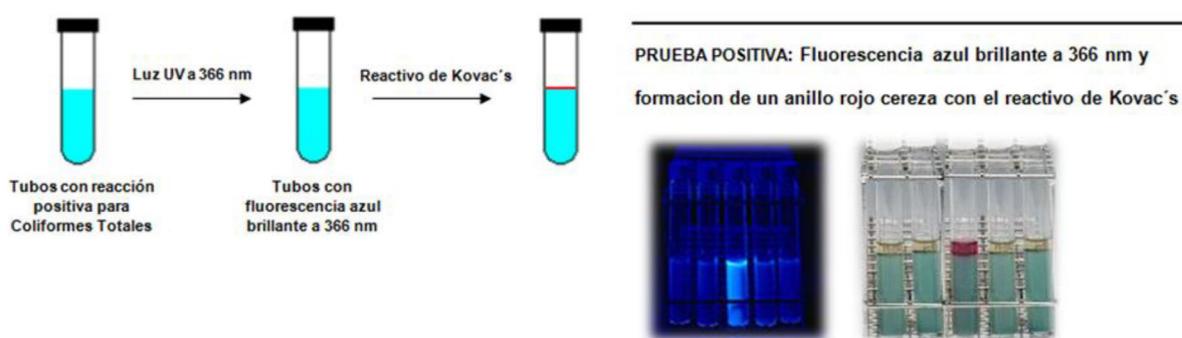
ANEXO N° 9

DETERMINACIÓN DE *Pseudomona aeruginosa*



ANEXO N° 10

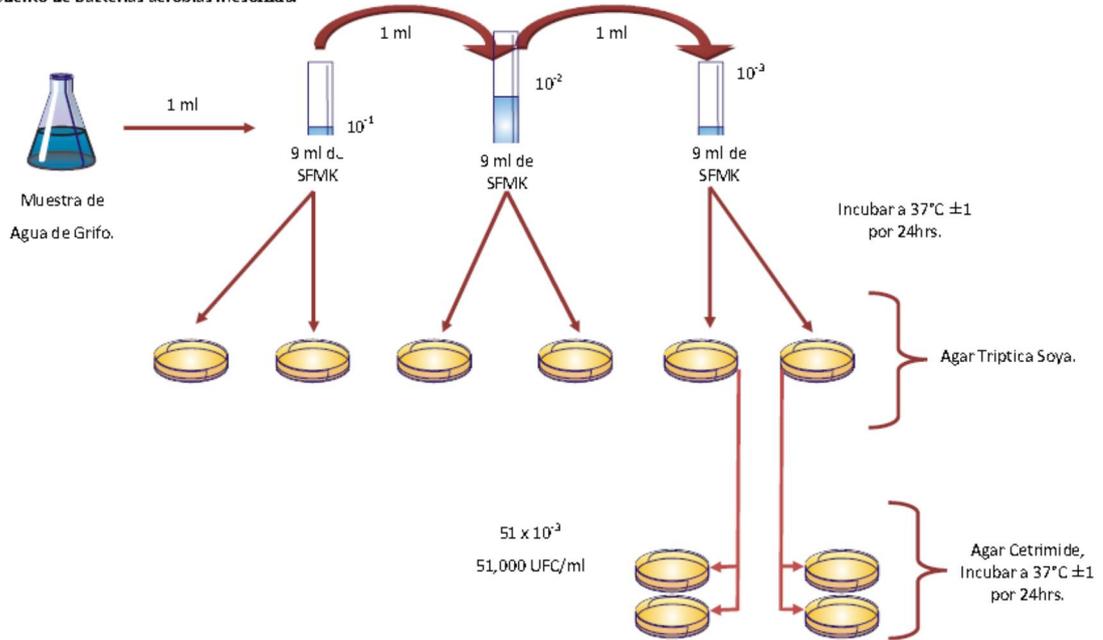
DETERMINACION DE *Escherichia coli*



ANEXO N° 11

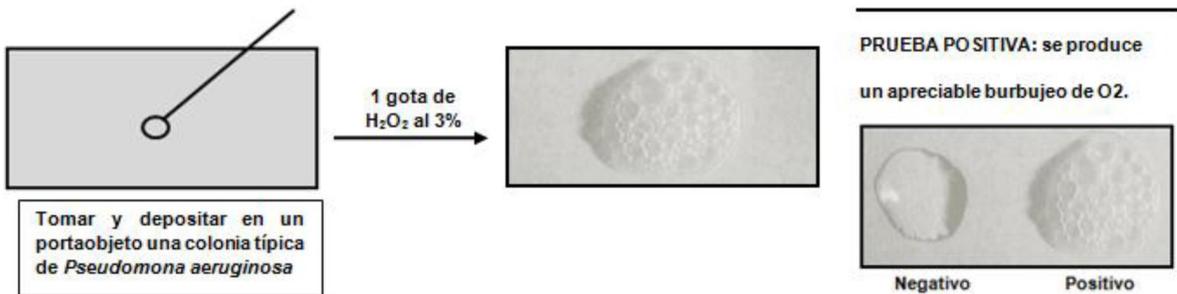
RECuento DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS

Recuento de Bacterias aerobias Mesófilas.



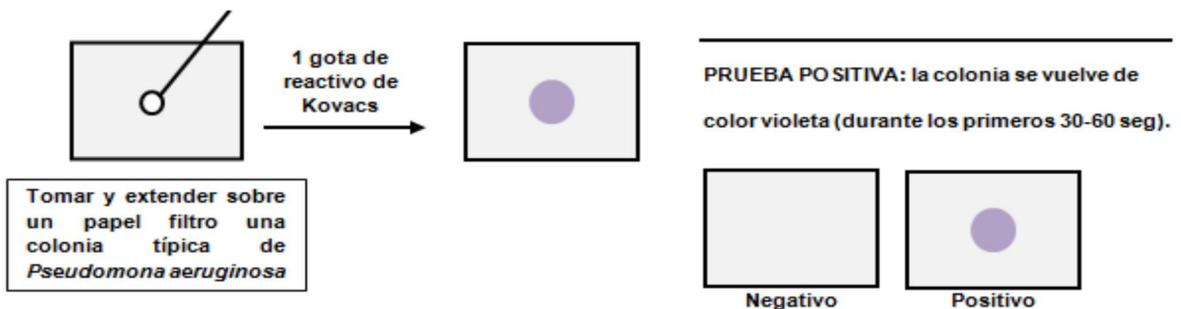
ANEXO N° 12

PRUEBA DE LA CATALASA

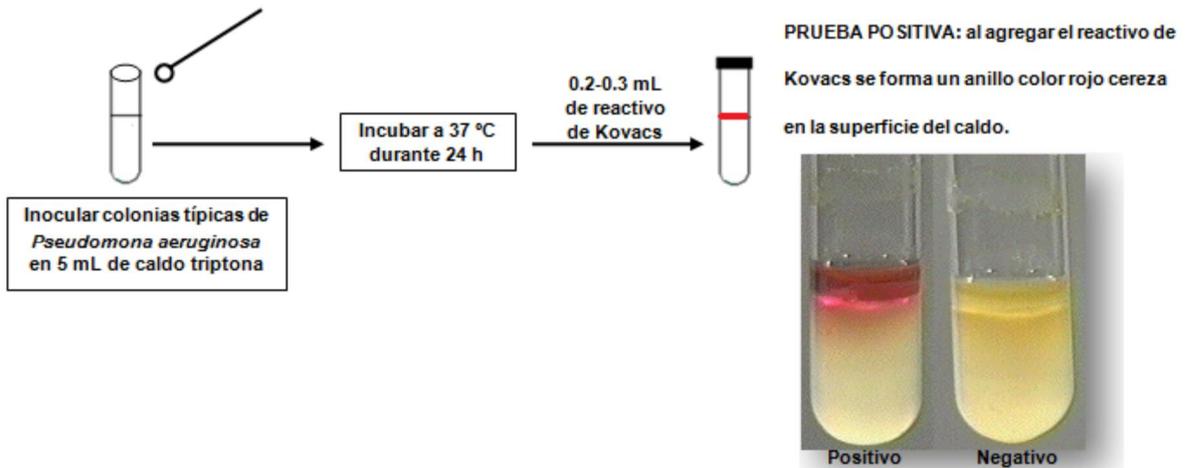


ANEXO N° 13

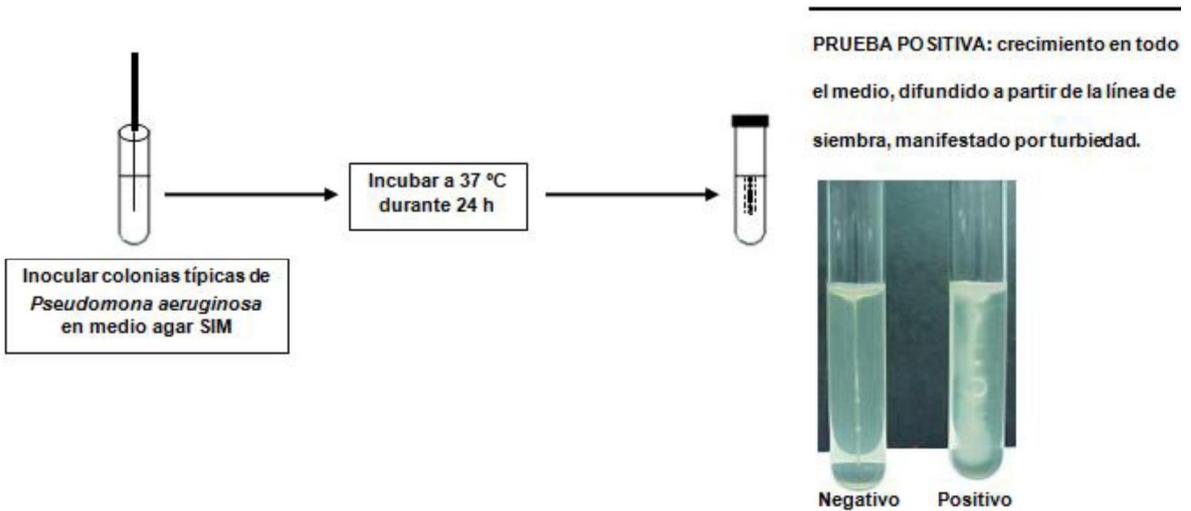
PRUEBA DE LA OXIDASA



### ANEXO N° 14 PRUEBA DEL INDOL

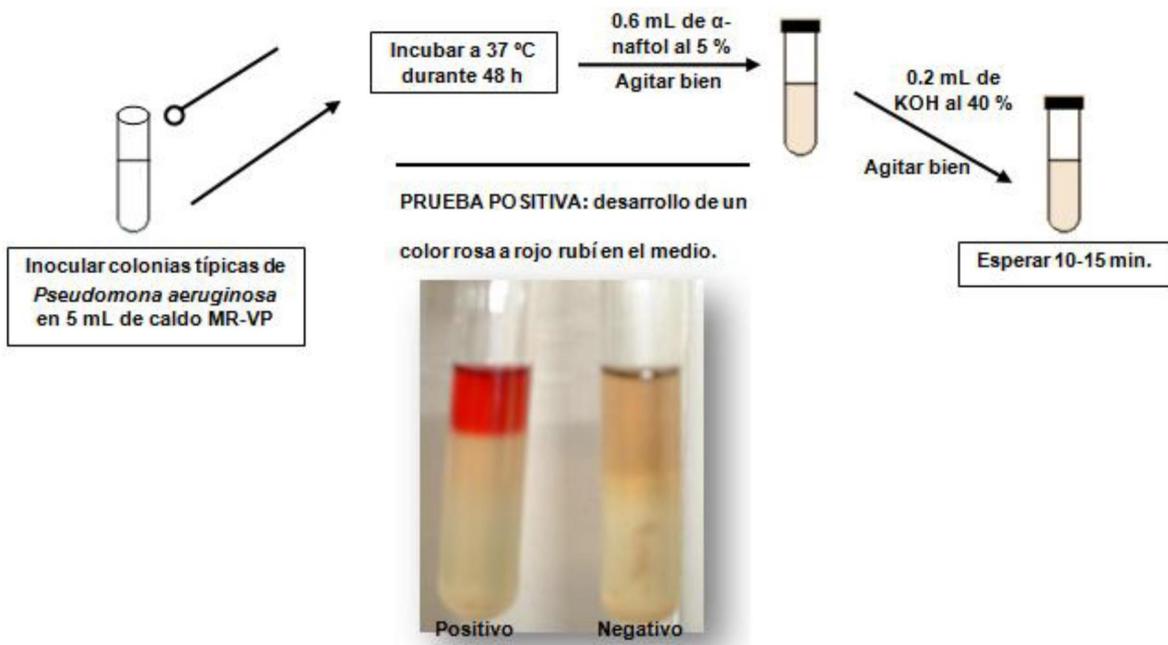


### ANEXO N° 15 PRUEBA DE MOVILIDAD



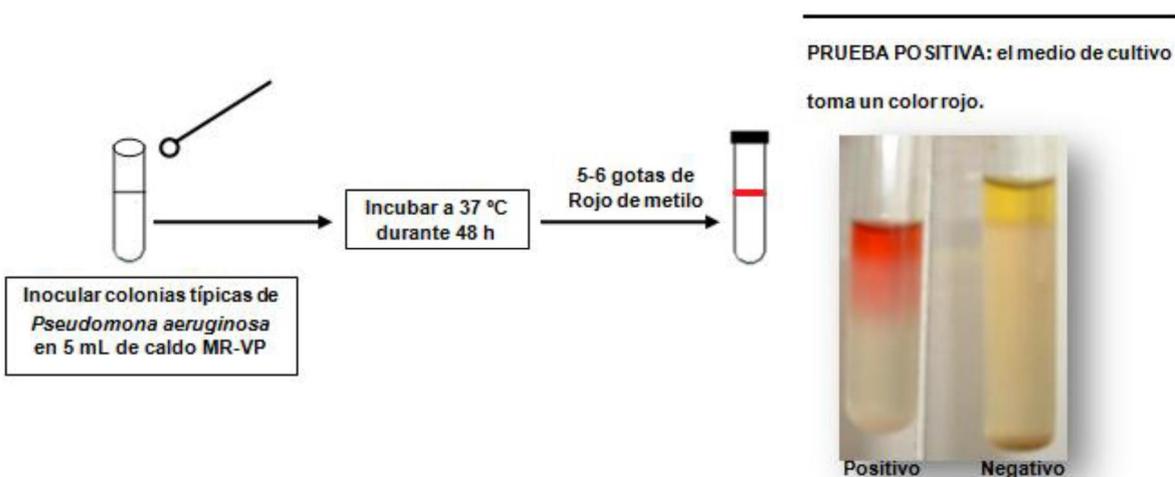
### ANEXO N° 16

#### PRUEBA DE VOGES PROSKAUER



### ANEXO N° 17

#### PRUEBA DEL ROJO DE METILO



ANEXO N° 18  
PRUEBA DE CITRATO



Inocular colonias típicas de *Pseudomonas aeruginosa* en medio Citrato Simmons estriando únicamente sobre la superficie del bisel

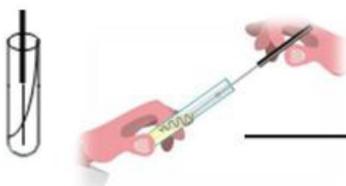
Incubar a 37 °C durante 24-48 h

PRUEBA POSITIVA: crecimiento y cambio de color del medio de verde a azul en el bisel.



ANEXO 18

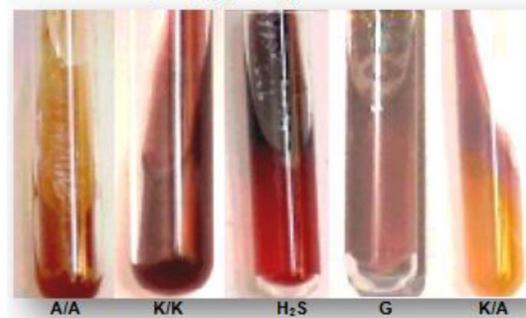
PRUEBA TRIPLE AZÚCAR Y HIERRO Y SULFURO DE HIDROGENO



Inocular colonias típicas de *Pseudomonas aeruginosa* en medio triple azúcar hierro picando en el centro del medio y estriando sobre la superficie del bisel

Incubar a 35 °C durante 24 h

RESULTADOS: Fermentación de la glucosa: K/A; Fermentación de glucosa, lactosa y/o sacarosa: A/A; No fermentación de los carbohidratos: K/K; No fermentación de los carbohidratos: K/N (no hay cambio en el fondo del tubo); Producción de gas: G; Producción de H<sub>2</sub>S: H<sub>2</sub>S (+) / H<sub>2</sub>S (-).



**ANEXO N° 12**

**ÍNDICE DEL NMP CUANDO SON UTILIZADAS TRES PORCIONES DE 10 mL, 3 PORCIONES DE 1 mL y 3 PORCIONES DE 0,1 mL DE MUESTRA.**

<b>Número de tubos positivos en cada dilución</b>			
Dilución 10 <sup>-1</sup>	Dilución 10 <sup>-2</sup>	Dilución 10 <sup>-3</sup>	NMP por gramo o mililitro
0	0		<3
0	0	01	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	70
3	2	0	90
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	200
3	3	1	500
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

### ANEXO N° 13

#### MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS UTILIZADOS

##### AGUA DE DILUCIÓN

Fosfato monobásico de potasio 34,0 g.

##### Preparación

Disolver el fosfato monobásico de potasio en 500 mL de agua destilada, ajustar el pH hasta 7,2 con NaOH 1N y completar el volumen a 1 litro de agua destilada.

##### AGAR CETRIMIDE

###### COMPOSICIÓN

	g/L
Peptona de gelatina	20
Cloruro de Magnesio	1,4
Sulfato potásico	10
N-cetil-N,N,N-trimetiamoniobromuro(Cetrimide)	0,3
Agar-agar	13
Aditivo: glicerina	10 mL
Agua destilada	1 L
pH 7,2. Autoclavar	

##### AGAR TRIPTICASA DE SOYA (TSA)

###### COMPOSICIÓN

	g/L
Triptona	15
Peptona de Soya	5
Cloruro de Sodio	5
Agar	15
Agua destilada csp	1L.
pH 7,3	

##### CALDO EC

###### COMPOSICIÓN

	g/L
Peptona de Caseína	20

Lactosa	5
Mezcla de Sales biliares	1,5
Cloruro Sódico	5
Hidrogeno fosfato dipotásico	4
Dihidrogeno fosfato potásico	1,5
pH 6,9. Autoclavar 15 a 121°C.	

**CALDO BRILA (CALDO VERDE BRILLANTE BILIS LACTOSA)**

COMPOSICIÓN	g/L
Peptona	10
Lactosa	10
Bilis de buey desecada	20
Verde brillante	0,0133
pH 7,2 . Autoclavar 15 minutos a 121°C	

**CALDO LAURIL TRIPTOSA**

COMPOSICIÓN	g/L
Triptosa	20,0
Lactosa	5,0
Cloruro Sódico	5,0
Lauril Sulfato Sal Sódica	0,1
Hidrógeno fosfato dipotásico	2,75
Dihidrógeno fosfato potásico	2,75
Agua destilada csp.	1 L
pH 6,8 . Autoclavar 15 minutos a 121°C.	