

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA**



“Evaluación microbiológica del agua potable abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y Poneloya S.A (EMAPEPOSA) en el sector de la bocana de Las Peñitas, León Nicaragua, marzo 2022”.

Monografía para optar al título de Licenciado Químico Farmacéutico.

Autores:

- ✦ Br. Isayana Patricia Jarquín Bermúdez
- ✦ Br. Michaellyne Mercedes Pérez Toruño.
- ✦ Br. Joselin Vanessa Velásquez Gurdíán.

Tutora:

MsC. Ligia Lissett Aráuz Molina.

León, julio 2022.

“¡A la Libertad por la Universidad!”

AGRADECIMIENTOS

Llenas de orgullo y alegría, agradecemos especialmente:

A Dios, por darnos la salud, sabiduría y fortaleza para poder culminar nuestro trabajo investigativo, guiándonos día a día en nuestras obligaciones.

A nuestros familiares y amigos, por ser la motivación necesaria para nosotras, quienes han estado pendientes de nuestra evolución y dándonos ánimos, aun cuando había muchos obstáculos que superar.

A nuestra tutora, MsC. Ligia Lissett Aráuz Molina, por el tiempo, dedicación y paciencia proporcionada hacia nosotras en cada paso de nuestra investigación.

A nuestros maestros, por sus enseñanzas para desarrollarnos profesionalmente y habernos brindado todos los conocimientos a lo largo de nuestra carrera.

También agradecemos de manera especial a David Espinoza por haber estado pendiente durante el proceso de análisis realizado en el laboratorio de Microbiología.

Las Autoras



DEDICATORIA

A Dios por haberme concedido el don de la vida, por estar siempre a mi lado en el transcurso de mis estudios brindándome sabiduría, inteligencia, fortaleza y sobre todo fe para nunca dejar de creer que alcanzaría la meta anhelada y que he culminado gracias a él.

A mis padres por su apoyo incondicional, por su amor, trabajo y sacrificios en todos estos años, gracias a ellos he logrado llegar hasta aquí y convertirme en profesional, por inducirme en el camino del bien haciendo de mí una persona con principios y valores y sobre todo enseñarme que aferrados a Cristo por muy difícil que sean las pruebas en esta vida caminando de la mano de él no hay nada imposible.

A mi hermana, por estar siempre presente, acompañándome y por el apoyo que me brindó a lo largo de esta etapa de mi vida.

A mis hermanitos por ser fuente de inspiración para alcanzar la meta anhelada.

Isayana Jarquín Bermúdez



DEDICATORIA

Llena de regocijo y amor, dedico este logro a:

Dios, por su amor y su bondad, sobre todo porque su voluntad ha sido culminar esta etapa de mi vida.

Mis padres, Alba Auxiliadora Toruño Hernández y Marcos José Pérez Gonzáles (q.e.p.d), por haberme formado como la persona quien en la actualidad soy, e incentivarme a seguir el camino correcto para lograr mis metas. A mi hermano Hastin Pérez Toruño, por alentarme cada día y enseñarme que cada meta propuesta la puedo lograr con perseverancia y confianza en mí misma.

A mis abuelitos, Ramona Luisa Hernández Mercado y Santos Aníbal Toruño Blanco (q.e.p.d), quienes también me criaron con valores y deseos de perseverancia.

Les agradezco desde el fondo de mi corazón lo que me han dado y doy cada día las gracias a Dios por tenerlos en mi vida, sobre todo, le agradezco por haber tenido a dos padres que, aunque ya no están terrenalmente conmigo, espero estén orgullosos de este logro, porque fueron mi mayor inspiración para seguir adelante.

A mi novio, Ryder Medina Vargas, por su apoyo incondicional, incluso en los momentos más difíciles. Los años de mi carrera no han sido fáciles, sin embargo, siempre estuvo motivándome, aun cuando todo parecía imposible.

No menos importante, le debo mucho al resto de mi familia por su inquebrantable apoyo y su creencia de que puedo lograr todo lo que me proponga.

Michaellyne Pérez Toruño.



DEDICATORIA

A Dios.

Su amor y bondad no tienen fin, me permites sonreír ante todos mis logros que son resultados de tu gran amor. Gracias Padre por brindarme sabiduría e inteligencia y haberme dado las fuerzas para llegar hasta este momento.

A mi madre:

Dinora Gurdíán por ser mi apoyo incondicional. Gracias madre por ser la mejor, por tu amor y esfuerzo hoy puedo cumplir una meta más.

A mis hermanos:

Abner Velásquez, Jonathan Velásquez, por apoyarme y estar siempre para mí.

A mi esposo:

Fernando Silva por motivarme y apoyarme cada día a luchar por mis sueños por ser mi fiel compañero, amigo y consejero.

A mi hija:

Elizabeth Joyce. Por convertirse en el motor de mi vida y lucecita que alumbró mis días.

Joselín Velásquez Gurdíán.



RESUMEN

El agua es una sustancia esencial tanto para la vida, como para la propia civilización humana. Se denomina agua potable o agua para consumo humano, al agua que puede ser consumida sin restricción. En León, existen distintas empresas dedicadas a la distribución de agua potable, las cuales intentan ofrecer el vital líquido a la mejor calidad, en la mayor cantidad de lugares posibles (tanto en el casco urbano como áreas rurales). La presente investigación se realizó en el sector de la bocana de Las Peñitas teniendo 7 muestras de agua de grifos correspondientes a 7 casas de este sector. Cada muestra corresponde a 500 mL de agua potable. El objetivo de este estudio es evaluar la calidad microbiológica del agua potable abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y Poneloya SA (EMAPEPOSA) al sector correspondiente. Se realizaron los diferentes ensayos microbiológico como son: recuento de Coliformes totales en las muestras de agua potable utilizando la técnica de NMP, identificación de presencia de Coliformes fecales, Pseudomonas aeruginosa y cuantificación de bacterias aerobias mesófilas donde se demostró si el agua abastecida por la Empresa Aguadora Las Peñitas y Poneloya SA (EMAPEPOSA) al sector de la bocana de Las Peñitas es apta para su consumo según lo establecido por la Norma Técnica para el diseño de abastecimiento y potabilización de agua (NTON 09003-99) y la USP 40.



CARTA DEL TUTOR

Por la presente, dejo constancia de que he leído el trabajo monográfico realizado por los bachilleres: Isayana Patricia Jarquín Bermúdez, carnet: 17-03190-0; Michaellyne Mercedes Pérez Toruño, carnet: 17-02414-0 y Joselin Vanessa Velásquez Gurdían, carnet: 17-00578-0; trabajo presentado como forma de culminación de estudios para optar al grado de Licenciado Químico-Farmacéutico, cuyo tema es: **“Evaluación microbiológica del agua potable abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y Poneloya S.A (EMAPEPOSA) en el sector de la bocana de Las Peñitas, León Nicaragua, marzo 2022”**.

Este documento cumple y está apto para ser sometido a evaluación por el tribunal examinador.

Dado en la ciudad de León, República de Nicaragua, a los once días del mes de julio.

MsC Ligia Lissett Aráuz Molina
Tutora
Docente Dpto. Farmacia Industrial
Facultad de Ciencias Químicas
UNAN-León



Índice

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	5
MARCO TEÓRICO.....	6
DISEÑO METODOLÓGICO	30
RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	43
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES.....	50
BIBLIOGRAFÍA.....	51





INTRODUCCIÓN

El agua es una sustancia esencial tanto para la vida, como para la propia civilización humana, es el vehículo idóneo donde se desarrollan las complejas reacciones bioquímicas que hacen posible el desarrollo de cualquier ser vivo. (Fernández Cirelli, Alicia, 2012).

Se denomina agua potable o agua para consumo humano, al agua que puede ser consumida sin restricción. El término se aplica al agua que cumple con las normas de calidad promulgadas por las autoridades locales e internacionales. (Fernández Cirelli, Alicia, 2012).

El control sanitario del agua de consumo humano es un objetivo prioritario de la salud pública. La legislación nacional debe estar destinadas a garantizar que el agua de consumo sea salubre y limpia, eliminando o reduciendo la concentración de contaminantes microbiológicos y físico-químicos que puedan afectar a la salud humana. (Fernández Cirelli, Alicia, 2012).

Según la Organización Mundial de la salud “casi la cuarta parte de las camas disponibles en todos los Hospitales del mundo, están ocupadas por enfermos cuyas dolencias se deben a la insalubridad del agua “. Esto quiere decir que cuando el agua, por contacto con la tierra o con el hombre, ha modificado su composición, puede convertirse en un peligro y ocasionar grandes daños. (Crana. 2011)

La preocupación por la calidad del agua ha venido desarrollándose en los últimos años, entre los estudios que se han realizado sobre el tema en su mayoría han sido realizados en la ciudad de León.



En el año 2012 un estudio realizado por Ortega Vargas, Ruiz Delgado y Torres Montoya 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. (Ortega, César 2012).

En el 2013 un estudio realizado por Osorio Martínez, Rayo Laguna y Rodríguez Escoto, estudiantes de la UNAN-León titulado: “Estudio microbiológico de agua de pozo del barrio El Calvarito León febrero 2013”; dio como resultado que las muestras analizadas presentaban contaminación por 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. 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. (Osorio, Kathia; Rayo, Yudy; Rodríguez Alba, 2013).

Otro estudio realizado en el año 2014 por Camacho Núñez, López Romero y Martínez Alemán, estudiantes de la UNAN-Managua: titulado: “Calidad bacteriológica del agua potable del municipio el crucero departamento de Managua en el periodo de julio – diciembre 2014” demostró que al aplicar la técnica de DPD1 se obtuvo que un 10% de las muestras analizadas presentaron concentraciones < 0.5 mg/L y en un 90% de estas muestras no se observó cloro residual. El 17% de las muestras procesadas presentaron contaminación de Coliformes totales, 7% Coliformes termo tolerantes y 3 % Escherichia coli, en el cuál se indicó que el agua



que consumen los habitantes del barrio Carlos Fonseca Amador no es apta debido a la presencia de *Escherichia coli* y esta no cumple con los rangos establecidos por la norma CAPRE. (Camacho, Beleyda; López, Jahoscka; Martínez, Noritza, 2014)

En el año 2019 un estudio realizado en UNAN-LEON por Zuleyka Aguilar, Alexander Altamirano, Darling Arbizú titulado: “Evaluación de la calidad microbiológica de agua purificada comercializada en bolsas plásticas en las ciudades de León y Chinandega en el período de junio-julio 2019” demostró que no es apta para consumo humano, dado a que en los análisis realizados se constató que estas contienen Coliformes. Las muestras recolectadas en Chinandega si son aptas para consumo humano, por cumplir con los requisitos que establece la norma NTON 03 040-03 y la norma CAPRE. (Aguilar, Zuleyka; Altamirano, Alexander; Arbizú, Darling, 2019).

En León, existen distintas empresas dedicadas a la distribución de agua potable, las cuales intentan ofrecer el vital líquido a la mejor calidad, en la mayor cantidad de lugares posibles (tanto en el casco urbano como áreas rurales).

El Balneario de Las Peñitas – Poneloya, ubicado aproximadamente a 18 km de la ciudad de León, Nicaragua, cuenta con abastecimiento de agua potable por medio de la empresa privada EMAPEPOSA, y un pozo comercial que está ubicado en la ciudadela, ambas fuentes son monitoreadas por el Ministerio de Salud y la Alcaldía Municipal de León.

Como investigadoras, observamos que el control de calidad del agua es muy importante, ya que esta, es vehículo de transmisión de enfermedades producidas por patógenos intestinales, como bacterias, virus, protozoos y helmintos; o por contaminación fisicoquímica debido a la aparición de sustancias no deseables o que



siendo elementos de la composición habitual del agua superan la concentración máxima admisible. Para llevar a cabo la inspección, vigilancia y control es necesario realizar un seguimiento de las características fisicoquímicas y principalmente microbiológicas del proceso de potabilización de agua, con el fin de comparar con los valores normativos.

Por tal razón como futuras profesionales en el área de la salud, hemos decidido realizar este estudio, con el fin de comprobar la calidad del agua consumida por la población del sector conocido como la bocana de Las Peñitas, en el cual comprobaremos si es apta para su consumo, con el objetivo de contribuir a detectar de manera temprana factores que puedan afectar la salud de los habitantes.



OBJETIVOS

General

Evaluar la calidad microbiológica del agua potable abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y PoneLOYA SA (EMAPEPOSA) al sector de la bocana de Las Peñitas.

Específicos

1. Realizar recuento de Coliformes totales en las muestras de agua potable utilizando la técnica de NMP.
2. Identificar la presencia de Coliformes fecales y *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Cuantificar bacterias aerobias mesófilas en las muestras de agua potable en estudio.



MARCO TEÓRICO

¿Qué es el agua?

El agua es un compuesto que se forma a partir de la unión, mediante enlaces covalentes, de dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno; su fórmula molecular es H_2O y se trata de una molécula muy estable.

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. 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. (Fernandez Cirelli, Alicia, 2012).

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. (Coin Fao Organization, 2015).



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. (Coin Fao Organization)

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. (Coin Fao Organization)



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. (Dr. Rafael Marín Galvín. 2015).

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. (Dr. Rafael Marín Galvín. 2015)

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. (Espínola, Ariel; Portillo Liliana. 2018):

Potabilidad:

El mayor efecto en la calidad de vida de la población es la dotación de un sistema de abastecimiento de agua potable.





➤ El abastecimiento de agua potable

Algo tan sencillo para nosotros como abrir el grifo y que salga por él agua limpia y apta para el consumo no es tarea sencilla para los 1.400 millones de personas que carecen de agua potable en el mundo, según datos de la ONU. Disponer de agua potable de calidad en cantidad suficiente es una necesidad para nuestro adecuado desarrollo. Pero también lo es un uso solidario y eficiente de este bien escaso.

➤ El largo camino del abastecimiento del agua:

El abastecimiento de agua para su uso doméstico comprende una serie de fases:

1. Captación.
2. Potabilización.
3. Almacenamiento.
4. Distribución y transporte.
5. Vigilancia y control.
6. Usos urbanos.

Captación

Es el origen del abastecimiento. El agua bruta puede provenir de aguas superficiales (ríos, lagos, embalses, canales...) o de aguas subterráneas (pozos, manantiales). Cuanta mayor calidad tenga, menores serán los tratamientos de potabilización a los que tendrá que someterla. En ocasiones se construyen depósitos de reserva de agua bruta, que aseguran el suministro durante un cierto tiempo en caso de cortes de la fuente de abastecimiento. (Remtavares. 2009)



Potabilización

Se realiza en la planta potabilizadora y es el conjunto de tratamientos que permiten que el agua sea apta para el consumo humano y pueda beberse con garantía de calidad. La desinfección es el tratamiento más importante. (Remtavares. 2009)

Almacenamiento

El almacenamiento del agua ya tratada debe realizarse en depósitos protegidos, bien conservados y limpios. Con frecuencia se construyen depósitos elevados para asegurar la distribución por gravedad desde el depósito de almacenamiento de agua tratada. (Remtavares. 2009).

Distribución y transporte

Las redes de abastecimiento y suministro de agua deben tener la menor pérdida posible y circular por el suelo a mayor altura que las redes de aguas residuales, para evitar su contaminación en caso de pérdidas de aguas sucias. (Remtavares. 2009)

Vigilancia y control

Se realizan análisis químicos y biológicos de diversos parámetros del agua para asegurar su calidad y potabilidad tanto a la salida de la planta como en diversos puntos de la red de abastecimiento. (Remtavares. 2009)

Usos urbanos

Domésticos, industriales, públicos...



Procesos de Potabilización del Agua

El agua químicamente pura, no existe en la naturaleza, debido a que ella, en su ciclo hidrológico, absorbe, arrastra y disuelve gases, minerales, compuestos vegetales y aún microorganismos, que le comunican características muy particulares. La calidad de las aguas naturales depende, directamente de la mayor o menor concentración y variedad de esas sustancias extrañas presentes en su composición. Cuando el agua se evapora de la superficie de la tierra y de las masas de agua encuentra y absorbe en su ascenso gases presentes en la atmósfera tales como oxígeno, anhídrico carbónico, polvos y otras impurezas del aire. Al retornar a la tierra arrastra en suspensiones o soluciones arcillas, bacterias, sales y otras materias orgánicas y minerales; los productos de la descomposición de materias orgánicas nitrogenadas, sulfurosas y carbohidratos, tales como amoníaco, hidrógeno sulfurado, o dióxido de carbono. La presencia, en mayor o menor proporción, de las sustancias antes mencionadas le comunican propiedades que pueden hacerla desechar como fuente de abastecimiento o por lo menos obligan a aplicarle una serie de procesos correctivos para que cumpla con los requisitos de calidad para el consumo humano o de composición química para otros usos. Estos procesos se clasifican en: pretratamiento, tratamiento y desinfección. (Aragón. 2019)

Pretratamiento

Los pretratamientos más simples que pueden utilizarse son la captación indirecta, ya sea como pre filtro vertical u horizontal, sedimentación laminar, filtración gruesa rápida y desarenadores. Pueden emplearse independientemente, combinados entre sí o con otros procesos para obtener mejores resultados.



La primera operación de pretratamiento consiste en la eliminación de los sólidos de gran tamaño que pueda contener el agua en punto de captación, por ejemplo, hojas o ramas de árbol, piedras, etc. Para ello, se utilizan rejillas y/o tamices que retienen los sólidos. Cuando el contenido en arenas y sólidos similares en suspensión es elevado, se emplean canales desarenadores en los que los sólidos sedimentan por gravedad. (Aragón. 2019)

Tratamiento

A continuación, el agua suele someterse a un proceso de aireación, dejando caer el agua en una cascada, cuyo objetivo es incrementar la proporción de oxígeno disuelto, facilitando la depuración por medio de bacterias aerobias.

En el pre tratamiento es habitual incluir una oxidación primaria, por ejemplo, con dióxido de cloro (ClO_2), cuyo objetivo principal es destruir las sustancias orgánicas precursoras de trihalometanos, actuando también como etapa de pre desinfección.

Esto se realiza con el objetivo de conseguir:

- ✦ Remoción de sabores y olores (algas)
- ✦ Remoción de gases disueltos que perjudican la calidad del agua (gas sulfhídrico y sulfuroso)
- ✦ Elevación de pH del agua por la eliminación de dióxido carbono hasta su punto de equilibrio (bajar la corrosividad)
- ✦ Oxidación de ciertas sustancias existentes en el agua (bicarbonato ferroso y Manganoso)



Posteriormente se procede a una filtración rápida que consta de los procesos de coagulación, floculación, sedimentación y filtración. La filtración rápida es de alta eficiencia remocional es apta para tratar aguas con turbiedades entre 250 y 1500 UTN. (Aragón. 2019)

❖ Mezcla rápida (Coagulación) y Mezcla lenta (Floculación):

La adición de sustancias como sulfato de alúmina o polielectrolitos a través de agitaciones mayores a los 500 s⁻¹, con un tiempo definido, permite que partículas con idéntica carga eléctrica, que de manera natural se repelen y no sedimentan, se desestabilicen, coagulen y con agitación lenta formen flóculos capaces de sedimentar.

Antes entrar a la etapa de decantación, se ajusta el pH mediante la adición de ácidos (clorhídrico, sulfúrico) o de álcalis (hidróxido sódico, hidróxido cálcico) y se añaden al agua agentes coagulantes (sales de hierro o aluminio), que dan lugar a cationes multivalentes con cargas positivas que compensan la carga negativa de las partículas coloidales y por lo tanto eliminan las fuerzas de repulsión entre ellas, facilitando su coalescencia para dar lugar a partículas de mayor tamaño. Asimismo, se añaden agentes floculantes (polielectrolitos) con el fin de aglutinar las partículas formadas en la coagulación para dar lugar a la formación de flóculos de mayor tamaño que se separan más fácilmente por decantación en la etapa posterior de decantación, al descender a mayor velocidad. (Aragón. 2019)

❖ El sencillo mecanismo de la decantación o sedimentación floculenta:

Separa por gravedad las partículas en suspensión que transporta el agua, consiguiendo un flujo de agua con la menor turbulencia posible, de manera que las partículas más densas decantan y sedimentan en el fondo. Las menos densas flotan y van a parar a la superficie, de donde se eliminan.



En esta etapa los flóculos formados por la acción de los agentes coagulantes y floculantes sedimentan en tanques de forma circular o rectangular, obteniéndose por la parte superior el agua clarificada y extrayéndose por el fondo una corriente de lodos que contienen los flóculos sólidos.

Una variante es la denominada decantación lastrada, en la que se utilizan partículas de arena para incrementar el peso y tamaño de los flóculos, aumentando la velocidad a la que decantan en el seno del agua y reduciendo sensiblemente el tiempo necesario para la decantación. (Rem Tavares junio 2019)

❖ **La filtración: quedar atrapados.**

Las aguas previamente decantadas se hacen pasar por un medio poroso, quedando retenidas partículas sólidas en suspensión de diferentes tamaños en función de las características del filtro. En general no consiguen eliminar elementos disueltos como los contaminantes químicos, pero sí muchas sustancias que le dan turbidez al agua, incluso huevos de parásitos.

Los filtros más utilizados en potabilización son los de arena y los de carbón activado (estos últimos además pueden eliminar diversos contaminantes por un proceso químico llamado adsorción). Pueden ser filtros abiertos, que filtran por gravedad, o filtros cerrados, a presión.

La desinfección

Es la fase más importante, ya que garantiza la eliminación de los microorganismos presentes en el agua que pueden causar gran número de enfermedades. Existen diversos métodos físicos (calor) y químicos (cloro, ozono, sales metálicas) para



desinfectar el agua, pero el más utilizado en abastecimiento es la cloración, ya que es barato, sencillo, eficaz, tiene acción residual y fácil determinación.

La desinfección puede conseguirse mediante tratamiento con productos químicos o mediante aplicación de radiación, como lo son: Dióxido de Cloro (ClO_2), Ozono (O_2), radiación ultravioleta (UV) y la cloración que es la que se utiliza en nuestro estudio. La cloración es el procedimiento químico más utilizado para desinfectar el agua, consistente en utilizar cloro o alguno de sus derivados, como los hipocloritos de sodio (líquido), cloro gas o de calcio. La utilización de cloro presenta la gran ventaja de su bajo coste, pero puede dar lugar a la formación de subproductos de carácter peligroso, como los halometanos. (Aragón, junio 2019)



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 este un recurso altamente vulnerable al acceso de la misma. (Chang Gómez, J. 2016)



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. (Chang Gómez, J. 2016)

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. (Chang Gómez, J. 2016)

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. (Chang Gómez, J. 2016)

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 mesófilas, *Pseudomona aeruginosa*, Coliformes totales y fecales. (Chang Gómez, J. 2016)

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. (Osorio, Kathya; Rayo, Yudy; Rodríguez Alba. 2013)

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. (Osorio, Kathya, Rayo, Yudy, Rodríguez Alba 2013)

Los miembros del género *E. Coli* son pobladores casi universales del tracto intestinal del hombre y animales hemeotermos, aunque no son en modo alguno los organismos dominantes de este hábitat. *Escherichia* puede tener una función nutritiva en el tracto intestinal al sintetizar vitamina particularmente la vitamina K. 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. 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. (Camacho, Beleyda; López, Jahoscka; Martínez, Noritza. 2014)

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. (Camacho, Beleyda; López, Jahoscka; Martínez, Noritza 2014)

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°C y 40°C, pudiendo detectar su presencia después de una incubación a 35°C ± 2°C por 48 horas.

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. (Ortega, César. 2012)

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 contaminación 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. (Ortega, César. 2012)

Es uno de los contaminantes más comunes en las fuentes de suministro de agua. Es capaz de multiplicarse en un rango de substratos 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*. (Ortega, César. 2012).

Métodos de aplicación para la determinación de Coliformes totales y fecales.

Prueba presuntiva:

Para la determinación de Coliformes se utilizará el método de cultivo BGGB medio Lactosado (dispuesto en tubo), que es un medio selectivo y de enriquecimiento ya que inhibe el crecimiento de microorganismos distintos de los del grupo de Coliformes a la vez que permite que éstos crezcan sin restricción, trabajar en una campana de flujo laminar o en un cuarto de siembra bacteriológico con un mechero bunsen. Antes del inicio del análisis se deberá mezclar perfectamente la muestra de agua, agitándola de manera vigorosa para lograr una distribución uniforme de los microorganismos y posteriormente se da inicio al análisis de la siguiente manera:

1. Se utilizarán 9 tubos (tres series de tres tubos) se etiquetarán perfectamente cada uno de ellos de manera que no haya posibilidad de confusiones.



2. En los primeros 3 tubos se inocula con caldo lactosado doble concentración con 10 mL de agua a cada uno.
3. Se inocula la otra serie de 3 tubos concentración sencilla con 1 mL de agua a cada uno.
4. Inocular la última serie de 3 tubos concentración sencilla con 0.1 mL de agua a cada uno.
5. Colocaremos en cada tubo una campana Durham para recoger el gas producido y el medio de cultivo se le habrá añadido un indicador ácido-base.
6. Incubar los tubos a 37 °C durante 48 horas para Coliformes totales y a 44°C para Coliformes Fecales durante 24 horas.
7. Transcurrido el tiempo de incubación observar si hubo producción de gas, se detecta por el desplazamiento del medio de cultivo en la campana de Durham.

La ausencia de gas en los tubos hace negativa la prueba.

Los Coliformes son lactosa positiva, es decir, son capaces de fermentar la producción de ácido y gas, estos signos serán los que buscaremos. La reacción será positiva cuando se produce desprendimiento de gas en la campana de Durham por lo menos en un 10% de su capacidad, y el medio vira de color amarillo debido a la formación de ácido.

Una reacción positiva por débil que sea indicará la presencia de Coliformes y habrá que hacer las pruebas confirmativas de IMVIC. Se aplicará la técnica del número más probable (NMP) de la siguiente manera:

Prueba confirmativa:

En caso de darse positivo la primera prueba, se toman los tubos positivos.

1. Inocular con dos series de tubos con caldo bilis verde brillante (BLVB).



2. Para determinar Coliformes totales incubar una serie de tubos a 37°C y examinarlos a las 48 horas para ver si los hubo producción de gas.
3. Para confirmar la presencia de organismos Coliformes termotolerantes, incubar otra serie de tubos a 44°C durante 48 horas para ver si hubo producción de gas.
4. Para confirmar la presencia de Escherichia coli, a partir de cada uno de los tubos que han resultado positivos en la prueba presuntiva, agitándolos para homogeneizar, hacer un subcultivo con un asa estéril en los tubos que contienen 10 mL de caldo E. coli y campana de Durham, incubar durante 24 horas a 44 ± 0.5 °C, observar presencia de turbidez y gas. Si se encuentra presencia de gas en los tubos con medio de cultivo caldo E. coli se considera positiva la prueba para Coliformes fecales Si no se observa producción de gas, aun cuando se observe turbidez, se considera negativa la prueba

La detección de E. coli se considera una evidencia satisfactoria de contaminación fecal. (IICA, agosto 200)

Método de Número Más Probable (NMP) para la determinación de Coliformes.

El resultado de tubos positivos de 3 diluciones es trasladado a las tablas estadísticas que incluyen los límites de confianza de los NMP de los microorganismos investigados en función de la tabla. (ver Tabla Anexa para NMP).

Mientras que la expresión de NMP es hecha solamente a través del NMP que corresponde a los tubos positivos por serie, la expresión de NMP por gr o mL del producto bajo análisis es hecho considerando el factor de dilución utilizado. (IICA, agosto 2001)

En general las tablas ya están corregidas, considerando gr o mL. Consecuentemente para la obtención de NMP, pueden ser inoculados más de 3



diluciones seriadas, entre tanto para la lectura final del NMP deben considerarse las 3 diluciones más significativas. (IICA, agosto 2001)

Los ejemplos para seguir permiten una selección de las diluciones significativas dentro de las posibilidades descritas. (IICA, agosto 2001)

Interpretación

Cuando se inoculan más de 3 diluciones seriadas, seleccionar una dilución mayor en la cual todos los tubos inoculados son positivos y considerar las 2 diluciones siguientes mayores que la seleccionada. (IICA, agosto 2001)

En los casos en que más de 2 diluciones siguientes a la escogida mostrasen tubos positivos, separar en tubo positivo de mayor dilución positivo, para una inmediatamente anterior, hasta tener resultados que se encuadren a la situación anterior. (IICA, agosto 2001)

En los casos que solamente se inoculan 3 diluciones seriadas proceder a leer directamente en la tabla. La técnica NMP no permite el conteo fijo de células viables o de UFC, como ocurre en la técnica de conteo en placa. El uso de esta técnica se justifica cuando es necesario estimar el número de células viables no visualizadas en el conteo en placa. Cuando mayor es el número esperado de microorganismos investigado, mayor será la dilución usada. (IICA, agosto 2001)

La técnica de NMP debe ser realizada por las siguientes etapas analíticas: prueba presuntiva (lectura de la serie de tubos positivos); prueba confirmativa (subcultivo de tubos presuntivos en medio selectivo para el microorganismo investigado) y la



prueba completa (identificación de la especie microbiana presente). (IICA, agosto 2001)

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 *Streptococcus Fecales*), sino tan solo es una presunción, que habrá de confirmarse posteriormente. (IICA, agosto 2001)

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. (IICA, agosto 2001)

Criterios de aceptación:

- a. *Coliformes totales*: 0 NMP/ 100 mL
- b. *Coliformes fecales*: Ausencia.

Cuantificación de Bacterias Aerobias Mesófilas.

1. Tomamos 1 mL de la muestra y lo llevamos a un tubo de ensayo que contiene 9 mL de solución de fosfato monobásico de potasio; solución (10^{-1}).
2. 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}
3. De la solución de concentración 10^{-2} tomamos 1 mL y lo llevamos a otro tubo de ensayo conteniendo 9 mL de fosfato monobásico de potasio para obtener una solución de concentración 10^{-3}



4. Tomamos 1 mL de cada una de las diluciones y la colocamos en 2 placas Petri vacías y estéril por duplicado, se agrega de 15 a 18 mL de Agar Caseína Soja, homogenizar y dejar solidificar.
5. Incubamos las placas de forma invertida a 37°C ±1 por 24hrs.
6. Cuantificar.

Contaje de Colonias

1. Se deben seleccionar aquellas placas que tengan entre 25 y 250 colonias.
2. Si el conteo no fuese posible, las placas pueden ser guardadas después de la incubación requerida, aproximadamente 0.4- 4 °C por más de 24 horas. (IICA, agosto 2001).

Criterio de Aceptación: ≤1x10² UFC/mL

Identificación de Pseudomona aeruginosa

Pre Siembra

1. De la muestra recolectada, tomar 1 mL y agregar en un tubo de ensayo que contiene 10 mL de caldo TripticaSoya. Incubar por 24 horas a 35-37°C.
2. De la muestra realizada anteriormente:
Tomar una asada de la muestra y colocar en una placa Petri con Agar Cetrimide.
Incubar a 37°C por un periodo de 48 horas. (IICA, agosto 2001)



Especificaciones técnicas que debe cumplir el agua (NTON 09 003-99).

Las presentes Normas de Calidad del Agua para el consumo humano han sido adoptadas de la “Norma Regional de Calidad del Agua para el Consumo Humano”, editadas por CAPRE en septiembre de 1993 y revisadas en marzo de 1994; y la “National Primary Drinking Water Standards”, editadas por U.S Environmental Protection Agency (US.EPA) en febrero de 1994. (INAA. 2006)

Parámetros microbiológicos

Origen	Organismos	Unidad	Valor Guía	Observaciones
✦ Agua distribuída por tuberías. ✦ Agua sometida a tratamiento que entra en el sistema de distribución	Bacterias Coliformes fecales	Número/100 mL	0	Turbiedad UTN para la desinfección con el cloro es preferiblemente un pH igual a 8.0 con 0.2 a 0.5 mg/L de cloro residual libre después del contacto durante 30 minutos (tiempo mínimo)
	Bacterias Coliformes	Número/100 mL	0	



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. (Aurazo de Zumaeta, M. 2004)

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). (Crana. 2011)

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. (Crana. 2011).



DISEÑO METODOLÓGICO

1. **Tipo de Estudio:** Experimental.
2. **Área de Estudio:** La presente investigación se realizó en el área de la bocana de Las Peñitas, ubicado aproximadamente a 18 Km de la ciudad de León, Nicaragua. Exactamente en el sector comprendido desde: *Hotel Suyapa Beach 1c al este hasta sector de la casa base "Comanejo"*. Los ensayos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología del departamento de Farmacia Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas UNAN-León.
3. **Población de estudio:** Agua potable abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y Poneloya SA (EMAPEPOSA) a 50 casas ubicadas en sector de la bocana de Las Peñitas.
4. **Muestra:** 7 muestras de agua de grifos correspondientes a 7 casas del sector de la bocana de Las Peñitas. Cada muestra corresponde a 500 mL de agua potable.
5. **Tipo de Muestreo:** No probabilístico a conveniencia del investigador.
6. **Criterios de Inclusión:**
 - a. Agua potable abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y Poneloya SA (EMAPEPOSA) al sector de la bocana de Las Peñitas.
 - b. Viviendas en las que los propietarios nos den su consentimiento de acceder a la toma de muestras.
 - c. Agua potable extraída directamente del grifo.



7. Criterios de Exclusión:

- a. Agua potable que no sea abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y Poneloya SA (EMAPEPOSA) al sector de la bocana de Las Peñitas.
- b. Viviendas en las que los propietarios no den su consentimiento de acceder a la toma de muestras.
- c. Agua potable contenida en recipientes.

8. Consideraciones Éticas:

Se solicitó el permiso de los dueños de cada casa para proceder a la recolección de las muestras.

A todos los dueños de las casas seleccionadas para el estudio se les explicó los objetivos del mismo garantizando la participación voluntaria con la certeza de que sus datos quedarán en el anonimato.

Los resultados obtenidos en este análisis son para fines académicos.

9. Fuente de información:

- **Primaria:** resultados obtenidos directamente de las muestras analizadas.
- **Secundaria:** libros de textos, tesis, páginas de internet.



10. Preparación de los medios de cultivo

- a. Se procede a esterilizar la cristalería, placas, Erlenmeyer y pipetas en horno a una temperatura de 180°C durante 2 horas.
- b. De acuerdo con el volumen a preparar lo que nos indica la etiqueta de cada medio de cultivo se realizan los cálculos para pesar la cantidad en gramos requeridos para el análisis.
- c. Los medios de cultivo líquidos se disuelven en agua destilada a temperatura ambiente y los agares en agua destilada a ebullición.
- d. Se prepara caldo Lactosado para concentraciones simples 3.25g para 250mL y dobles 6.50g para 250mL, pesar y pasar a unos Erlenmeyer, se le agrega un poco de agua destilada, se agita para disolver y se afora a 250mL utilizando una probeta.
- e. Se prepara Agar Cetrimide 6.8g más 1mL de Glicerina, necesarios para 150 mL, se lleva a un Erlenmeyer con agua destilada caliente a ebullición.
- f. Se prepara caldo TripticaSoya pesar 2.1g para 70mL se pasa a un Erlenmeyer, se agrega un poco de agua destilada, se agita para disolver y se afora a 70mL utilizando una probeta.
- g. Y por último se prepara Agar TripticaSoya se pesa 32g para 800mL en un Erlenmeyer.
- h. Se mide el pH, con ayuda de un pH-metro de cada uno de los medios preparados para verificar que sea el mismo del pH óptimo que declara la etiqueta.
- i. Posteriormente se tapan con tapón de algodón envuelto en papel aluminio y se cubre con papel aluminio.
- j. Los medios se esterilizan a 121 °C por 15 min.



11. Preparación de solución Buffer de Fosfato monobásico pH 7.2

- a. En un matraz volumétrico, de 1000 mL disolver 34 g de Fosfato monobásico de Potasio en 500 mL de agua destilada.
- b. Ajustar el pH a 7.2 con una solución de NaOH 1N (175 mL). Llevar a volumen y mezclar.
- c. Envasar en recipiente adecuado y esterilizar a 121 °C en baño maría por 15 min. Almacenar en refrigeración, una vez alcance temperatura ambiente.
- d. Medir el pH, con ayuda de un pH-metro para verificar que fuera el pH óptimo.

Solución diluida

- e. Diluir 1mL de la solución concentrada en 800 mL de agua destilada, con ayuda de una probeta. Trasladar a un matraz volumétrico.
- f. Posteriormente envasar en volúmenes de 90 mL y tapar con tapón de algodón envuelto en papel aluminio, cubrir con papel aluminio.
- k. Esterilizar en baño maría a 121 °C por 15 min.

12. Procedimiento de recolección de las muestras:

Se solicita el consentimiento del dueño o encargado de casa seleccionada, con previa explicación del estudio. Proceder a obtención de la muestra.

Se toman las muestras directamente del grifo, desinfectar previamente con alcohol al 70%, flamear para eliminar posibles impurezas presentes en los diferentes grifos, abrir el grifo, hasta alcanzar su flujo máximo y dejar correr el agua durante un minuto. Este procedimiento limpia la salida y descarga el agua



que ha estado almacenada en la tubería. Disminuir el flujo de agua para la toma de la muestra. Abrir el frasco de muestreo con el mechero cerca. Recolectar 500 mL de agua en un frasco estéril debidamente rotulado. Mantener la tapa y la cubierta protectora hacia abajo (para evitar la entrada de polvo portador de bacterias). Se coloca inmediatamente el frasco debajo del chorro de agua y llenar. Dejar 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 de manera hermética. Depositar el frasco en un termo, el cual contiene hielo para su debida preservación. Realizar este procedimiento en cada una de las casas seleccionadas para obtención de la muestra.

Se trasladan las muestras contenidas en el termo con hielo al laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas, carrera de Farmacia de la UNAN-León.

- ✦ Agregar Tiosulfato de Sodio al 0.05%, dejando reposar durante 20 minutos, para neutralizar el cloro presente en las muestras de agua recolectadas, con el fin de evitar la aparición de falsos negativos en nuestro procedimiento.

13. Procedimiento:

A cada muestra de agua debidamente rotulada se le realiza el siguiente análisis:

13.1. Ensayo microbiológico para Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas

Preparar 3 diluciones en diferentes concentraciones (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}).

- 13.1.1. **Primera dilución (10^{-1}):** en un Erlenmeyer que contenga 90 mL de buffer fosfato pH 7.2, adicionar 10 mL de la muestra y agitar. Transferir



1 mL de la dilución a 2 placas Petri vacías e incorporar de 15-18 mL de agar TripticaSoya. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas.

13.1.2. Segunda dilución (10^{-2}): en un tubo que contenga 9 mL de buffer fosfato pH 7.2, adicionar 1 mL de la primera dilución y agitar. Transferir 1 mL de esta dilución a 2 placas Petri vacías incorporar de 15-18 mL de agar TripticaSoya. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas.

13.1.3. Tercera dilución (10^{-3}): en un tubo que contenga 9 mL de buffer fosfato pH 7.2, adicionar 1 mL de la segunda dilución y agitar. Transferir 1 mL de esta dilución a 2 placas Petri vacías incorporar de 15-18 mL de agar TripticaSoya. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas.

Después de la incubación observar las placas. Si hay crecimiento proceder a realizar el recuento de bacterias aerobias mesófilas de cada placa Petri. Colocar en el contador de colonias cada una de las placas Petri, con ayuda de un marcador observar el número de colonias encontradas.

Criterio de Aceptación: $\leq 1 \times 10^2$ UFC/mL

13.2. Determinación de Pseudomona aeruginosa.

Pre Siembra

De la muestra recolectada, tomar 1 mL y agregar en un tubo de ensayo que contiene 10 mL de caldo TripticaSoya. Incubar por 24 horas a $35-37^\circ\text{C}$.

De la muestra realizada anteriormente:

13.2.1 Tomar una asada de la muestra y colocar en una placa Petri con Agar Cetrimide.

13.2.2. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por un período de 48 horas.



Si se observa crecimiento de colonias verde fluorescente. Realizar prueba de oxidasa a una de las colonias. Si la prueba es positiva se considera que hay presencia de *Pseudomona aeruginosa* en la muestra de agar.

Criterio de Aceptación: Ausencia

13.3. Ensayo de determinación de Coliformes por el método de número más probable.

Prueba presuntiva:

En esta prueba se usa el medio caldo Lactosado preparado a dos concentraciones diferentes tanto simple como doble, realizando los cálculos respectivos para cada uno de los 9 tubos de ensayo. En la concentración doble 10^{-1} se toman tres tubos de ensayos a los que se le adicionan 10 mL de caldo y para la concentración simple 10^{-2} y 10^{-3} correspondiendo a tres tubos para cada una, se adicionan 5 mL a cada tubo. Antes de iniciar el análisis, mezclar perfectamente la muestra de agua agitándola de manera vigorosa para lograr una distribución uniforme de los microorganismos, se procede como sigue: Rotular cada uno de los tubos de manera que no haya posibilidad de confusiones posteriores.

13.3.1. Preparar diluciones en diferentes concentraciones (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3})

13.3.1.1. Primero (10^{-1}): en 3 tubos de ensayos que contienen 10 mL de medio caldo Lactosado a doble concentración con campana Durham. Adicionar 10 mL de la muestra, Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 horas.

13.3.1.2. Segundo (10^{-2}): en 3 tubos de ensayos que contienen 5 mL de medio caldo Lactosado a simple concentración con campana Durham. Adicionar 1 mL de la muestra Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 horas.

13.3.1.3. Tercero (10^{-3}): en 3 tubos de ensayos que contienen 5 mL de medio caldo Lactosado a simple concentración con campana Durham. Adicionar



0.1 mL de la muestra Incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

13.3.1.4. Después de la incubación observar la presencia de turbidez y de gas.

13.3.2. Interpretación de resultados:

a. Todos aquellos tubos con presencia de gas en la campana Durham se toman positivos en la prueba presuntiva, se anotarán la cantidad de tubos positivos según su concentración y se procederá a realizar la prueba confirmativa para Coliformes totales.

b. Si el total de tubos son negativos, por lo que no se encontró presencia de gas en la campana Durham: la prueba se da por terminado, reportando la ausencia de Coliformes totales y fecales en la muestra analizada. Reportar el resultado como: <3 NMP/ 100 mL.

13.4. Prueba confirmativa para Coliformes totales

1. A partir de cada uno de los tubos que han resultado positivos en la prueba presuntiva, agitándolos previamente para homogeneizar, inocular con un asa estéril los tubos conteniendo caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (LBVB) y campana Durham.

2. Incubar durante 48 ± 3 horas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3. Después de la incubación observar la presencia de turbidez y de gas. 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 utilizando las tablas.

• Si en ninguno de los tubos se observa producción de gas, aun cuando se observe turbidez, se consideran negativo.



13.5. Prueba para Coliformes Fecales

- 13.5.1. A partir de cada uno de los tubos que han resultado positivos en la prueba confirmativa, agitándolos para homogeneizar, hacer un subcultivo con un asa estéril en los tubos que contienen 10 mL de caldo E. coli y campana de Durham.
- 13.5.2. Incubar durante 24 horas a 44 ± 0.5 °C, observar presencia de turbidez y gas. Interpretación: Si se encuentra presencia de gas en los tubos con medio de cultivo caldo E. coli se considera positiva la prueba para Coliformes fecales. Si no se observa producción de gas, aun cuando se observe turbidez, se considera negativa la prueba.
- 13.5.3. En el caso de que la prueba sea negativa a Coliformes fecales, reportar como: *Ausencia*.

Criterios de Aceptación:

- a. *Coliformes totales*: 0 NMP/ 100 mL
- b. *Coliformes fecales*: Ausencia

14. Variables de estudio:

- 14.1. Coliformes totales.
- 14.2. Coliformes fecales.
- 14.3. Pseudomona aeruginosa.
- 14.4. Bacterias aerobias mesófilas.



15. Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Indicador	Escala
Coliformes totales	Son las bacterias de la familia Enterobacteriaceae, lactosa positiva y constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos	<ul style="list-style-type: none"> • Turbidez • Producción de gas 	NMP/ 100 mL
Coliformes fecales	Bacterias aerobias gramnegativas, no formadoras de esporas, de forma bacilar y que, incubadas 44.5° C, fermentan la lactosa en un término de 48 horas, con producción de gas, pudiendo ser residentes del tracto digestivo humano y de animales de sangre caliente	<ul style="list-style-type: none"> • Turbidez • Producción de gas 	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia • Ausencia



Variable	Definición	Indicador	Escala
Pseudomona aeruginosa	<p>Especie de bacterias</p> <p>Gram Negativas aeróbicas con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas.</p>	Colonias de color verde fluorescente	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia • Ausencia
Bacterias aerobias mesófilas	<p>Número de UFC de bacterias capaces de crecer en un medio agar nutritivo y verifica la Limpieza del agua.</p>	<p>Conteo de Colonias en placas de agar</p>	UFC/mL



16. Materiales y Equipos

Material			Equipos		
	Cantidad		Cantidad	Marca	N. de serie
Matraz	2	Autoclave	1	Farmamundi	62340
Tubos de Ensayo	9	Contador de Colonias	1	Quebec	61084
Botellas de Dilución	2	Incubadora	1	Precision	9606
Pipetas de 10 mL	4	Agitador de tubo	1	Corning	61085
Pipetas de 5 mL	2	Baño María	1	Precision	62345
ASA de platino	1	Balanza	1	Sartorius	9727
Balón Aforado 1000 mL	2	Cocina	1	Corning	PC100
Probeta 100 mL	2	Horno	1	Precision	62341
Placa Petri	8	pH-metro	1	Crison	82445
Mechero	1				
Campana de Durham	22				



17. Otros

Material de Laboratorio Descartable	Reactivos	Medios de Cultivo
Algodón.	Buffer fosfato pH 7.2 (composición).	Caldo bilis verde brillante.
Papel Aluminio.	Alcohol etílico al 70%.	Caldo E coli.
Guantes.	Tiosulfato de Sodio al 0.05%	Caldo Lactosado.
Boquillas.	Agua Destilada	Agar Cetrimide.
Gorros Quirúrgicos.		Caldo Triptica Soya.
Zapatos Quirúrgicos.		Agar Triptica Soya.



RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Ensayo Microbiológico para recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas

Tabla 1: Lectura Recuento total de Bacterias Aerobias Mesófilas (RTBAM) en 48 horas.

		1er Placa	2da Placa	Criterio de Aceptación
Muestra 1	10^{-1}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	$\leq 1 \times 10^2$ UFC/mL
	10^{-2}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-3}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
Muestra 2	10^{-1}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-2}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-3}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
Muestra 3	10^{-1}	5×10^1 UFC/mL	5×10^1 UFC/mL	
	10^{-2}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-3}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
Muestra 4	10^{-1}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-2}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-3}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
Muestra 5	10^{-1}	1×10^1 UFC/mL	1×10^1 UFC/mL	
	10^{-2}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-3}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	

<10 UFC/mL: Ausencia BAM

USP 40 (Volumen 1): "Pruebas Microbiológicas"



		1er Placa	2da Placa	Criterio de Aceptación
Muestra 6	10^{-1}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	$\leq 1 \times 10^2$ UFC/mL
	10^{-2}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-3}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
Muestra 7	10^{-1}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-2}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	
	10^{-3}	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	

<10 UFC/mL: Ausencia BAM

USP 40 (Volumen 1): "Pruebas Microbiológicas"

En relación con las bacterias aerobias mesófilas se realizó a través del método Recuento en Placa, útil para determinar bacterias viables.

Después de las 48 horas de incubación, no se observó evidencia de un crecimiento microbiano en 5 de las muestras, por lo tanto, se demuestra la Ausencia de Bacterias Aerobias Mesófilas. En la muestra número 3 encontramos 50 UFC/mL, al igual que en la muestra 5, se evidenció un crecimiento de 10 UFC/mL, los crecimientos encontrados están dentro del criterio de aceptación establecido, el cual nos indica un crecimiento $\leq 1 \times 10^2$ UFC/mL.



Determinación de Pseudomona Aeruginosa

Tabla 2: Identificación de Pseudomona aeruginosa.

	Pseudomona aeruginosa	Criterio de Aceptación
Muestra 1	Ausencia (-)	Ausencia (-)
Muestra 2	Ausencia (-)	
Muestra 3	Ausencia (-)	
Muestra 4	Presencia (+)	
Muestra 5	Ausencia (-)	
Muestra 6	Ausencia (-)	
Muestra 7	Ausencia (-)	

NTON 09003-99

Para la determinación de presencia de Pseudomona aeruginosa, posterior al pre enriquecimiento y cultivo en agar selectivo Cetrimide encontramos que la muestra 4 presentaba la bacteria Pseudomona aeruginosa, donde se evidenciaba la coloración verde fluorescente en la superficie de la placa. Probablemente esto puede deberse a desperfectos en tuberías domiciliar.



Determinación de Coliformes totales y fecales.

Tabla 3: Prueba Presuntiva para Identificación de Coliformes

<i>Dilución</i>	Cantidad de Tubos Positivos		
	<i>10⁻¹</i>	<i>10⁻²</i>	<i>10⁻³</i>
<i>Muestra 1</i>	2	1	1
<i>Muestra 2</i>	0	0	0
<i>Muestra 3</i>	0	0	0
<i>Muestra 4</i>	1	0	0
<i>Muestra 5</i>	3	3	1
<i>Muestra 6</i>	1	0	0
<i>Muestra 7</i>	3	0	0

Para la determinación de este grupo de bacterias se realizó la prueba de NMP utilizando Caldo Lactosado, el cual 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 pruebas de las muestras 1, 4, 5, 6 y 7, lo cual es indicativo de presencia de Coliformes y se procedió a confirmar.



Tabla 4: Prueba Confirmativa de Identificación de Coliformes totales.

Dilución	Cantidad de tubos Positivos			NMP/mL	Criterio de Aceptación
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
Muestra 1	0	0	0	<3	0 NMP/ 100 mL
Muestra 4	0	0	0	<3	
Muestra 5	3	1	0	43	
Muestra 6	0	0	0	<3	
Muestra 7	1	0	0	3,6	

NTON 09003-99

A los tubos que presentaban turbidez y gas en la campana de Durham en la prueba presuntiva de Coliformes totales se le realizó una prueba confirmativa en Caldo Verde Brillante incubando por 48 horas a 37°C. Posterior a la incubación se observó la formación de turbidez y gas en la campana de Durham en los tubos de las muestras 5 y 7 confirmando de esta manera la presencia de Coliformes totales, cabe destacar que no están dentro del criterio de aceptación establecido por la NTON 09003-99 el cual nos indica que no deben haber resultados positivos durante la prueba.



Tabla 5: Prueba de Coliformes fecales.

Muestra	Coliformes fecales	Criterio de Aceptación
Muestra 1	Ausencia (-)	Ausencia (-)
Muestra 4	Ausencia (-)	
Muestra 5	Ausencia (-)	
Muestra 6	Ausencia (-)	
Muestra 7	Ausencia (-)	

NTON 09003-99

A los tubos que presentaban turbidez y gas en la campana de Durham en la prueba confirmativa de Coliformes se transfirió a Caldo E. coli, el cual se incubó en baño maría por 24 horas a 44 – 45 °C, en los que no se observó presencia de turbidez ni gas en la campana de Durham, lo que nos indica ausencia de Escherichia coli (microorganismo indicador de contaminación fecal que tolera esta temperatura de incubación).



CONCLUSIONES

Las evidencias que se muestran en el ensayo microbiológico realizado al agua abastecida por la empresa EMAPEPOSA en el sector de la bocana de Las Peñitas, demostraron:

- a. La mayoría de muestras analizadas cumplen con el criterio de aceptación de Coliformes totales, exceptuando las muestras 5 y 7, esto debido a que existe presencia de estas bacterias.
- b. En relación a Coliformes fecales todas las muestras cumplen con el criterio de aceptación ya que ninguna de ellas presentaba indicadores de contaminación fecal. En cuanto a la bacteria *Pseudomona aeruginosa* la mayoría de muestras cumplen con los parámetros establecidos excepto la muestra 4.
- c. En cuanto al Recuento total de Bacterias Aerobias Mesófilas (RTBAM), las muestras cumplen con el criterio de aceptación establecido por la USP 40, el cual nos indica un crecimiento $\leq 1 \times 10^2$ UFC/mL.

Por lo tanto, concluimos que, de acuerdo con los resultados de cada uno de los ensayos realizados, la mayoría de muestras de agua potable abastecida por la Empresa Aguadora de Las Peñitas y Poneloya SA (EMAPEPOSA) al sector de la bocana de Las Peñitas son aptas para el consumo humano, según lo establecido por la Norma Técnica para el diseño de abastecimiento y potabilización del agua (NTON 09003-99) y la USP 40.



RECOMENDACIONES

Al obtener los resultados anteriores, las investigadoras recomendamos al público en general y a la comunidad estudiantil:

- a. A los habitantes del sector de la bocana de Las Peñitas realizar cambios de tuberías en mal estado, ocasionados por distintas problemáticas, incluyendo el paso del tiempo, con el fin de evitar la acumulación de bacterias que pueden poner en riesgo la salud de los habitantes.
- b. A estudiantes seguir realizando este tipo de estudios para monitorear la calidad del agua consumida por la población.



BIBLIOGRAFÍA

1. Barba, L. (2002). Conceptos básicos de la contaminación del agua y parámetros de medición. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/151391186/1-Libro-Agua>. (Recuperado Mayo 2019).
2. Fernández Cirelli, Alicia. (2012). El Agua un Recurso Esencial. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
3. Coin Fao Organization (2015): "Recursos Hídricos de Nicaragua". Disponible en: https://coin.fao.org/coinstatic/cms/media/5/12820625348650/fao_nic_recursos_hidricos_cepai.pdf Revisado el: 25 de septiembre del 2021.
4. Dr. Rafael Marín Galvín. (2015). Características Físicoquímicas y Biológicas del Agua. España.
5. Remtavares. (2009). ¿Cómo se potabilizan las aguas para el consumo humano? | El Agua. Disponible en: <https://www.madrimasd.org/blogs/remtavares/2009/02/25/113410>
(Recuperado Julio 2021)
6. Chang Gómez, J. (2016). Calidad del agua. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6145/2/Calidad%20de%20Agua%20Unidad%201%2C2%2C3.pdf> (Recuperado Agosto 2021) 7.



Ortega, César (2012): “Control de Calidad del Agua de pozo, La Ceiba, León 2012”. León-Nicaragua.

8. Aurazo de Zumaeta, M. (2004). Manual para análisis básicos de calidad del agua de bebida. Disponible en:

<http://www.elaguapotable.com/manual%20 analisis%20basicos%20CA.pdf>

f

(Recuperado octubre 2021)

9. Agua Potable. (2003). Calidad del agua. Disponible en:

http://www.elaguapotable.com/calidad_del_agua.htm (Recuperado Enero

2022)

10. Osorio, Kathya; Rayo, Yudy; Rodríguez Alba (2013): “Estudio microbiológico de agua de pozo del barrio El Calvarito, León Febrero 2013”. Facultad de Ciencias Químicas. UNAN-León. Febrero 2013.

11. Camacho, Beleyda; López, Jahoscka; Martínez, Noritza (2014): “Calidad bacteriológica del agua potable del municipio el cruce departamento de Managua en el periodo de julio- diciembre 2014”, Instituto Politécnico de la Salud “Luis Felipe Moncada”. Managua, Nicaragua.

12. Espínola, Ariel; Portillo Liliana (2018): “Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de agua de consumo en la zona aledaña al cementerio de Minga Guazú, Paraguay, 2018”: Argentina, octubre 2018.



13. Aguilar, Zuleyka; Altamirano, Alexander; Arbizú, Darling (2019) “Evaluación de la calidad microbiológica de agua purificada comercializada en bolsas plásticas en las ciudades de León y Chinandega en el período de junio-julio 2019”. UNAN-León. Junio-Julio 2019.
14. Reyes, E., & Quezada, G. (2002). Operación y mantenimiento de sistemas de agua potable. Disponible en:
<http://www.elaguapotable.com/manual%20 analisis%20basicos%20CA.pdf>
(Recuperado Julio 2021)
15. McJunkin, F. (1985). Agua y salud humana. Disponible en:
<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/3099/Agua%20y%20salud%20humana.pdf?sequence=1> (Recuperado Septiembre 2021)
16. INAA. (2006). Normas técnicas para el diseño de abastecimiento y potabilización del agua (NTON 09 003-99). Instituto Nicaragüense de acueductos y alcantarillados ente regulador.
Disponible en: https://delcampo.net.ni/file_bibli/ncal/NTON_09_003-99_ParaElDisenoAbastecimientoPotabiliazacionAgua.pdf (Recuperado Julio 2021)
17. Crana. (2011). Tipos de contaminación. Disponible en:
http://www.crana.org/es/contaminacion/mas-informacion_3/seganextensianfuente (Recuperado Julio 2021).



18. USP 40 (Volumen 1): "Pruebas Microbiológicas". Pg134 -135.

19. IICA. (2001). Ministerios de agricultura y ganadería. Manual de procedimientos para el control microbiológico de alimentos. [Online] books.google.com.ni. Disponible en:

[https://books.google.com.ni/books?id=HcsOAQAIAAJ&pg=PR1&lpg=PR1&dq=.+Ministerio+de+agricultura+y+ganader%C3%ADa.+Instituto+interamericano+de+cooperaci%C3%B3n+para+la+agricultura+\(2001\).+Manual+de+procedimientos+para+el+control+microbiol%C3%B3gico+de+alimentos.&source=bl&ots=u7qi9TDeXm&sig=ACfU3U0I0zUe4BpfxcnPTbPqwVnW22dKg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwj96q2K6YTnAhWixVkKHx7MCyEQ6AEwAHoECA_sQAQ#v=onepage&q=.%20Ministerio%20de%20agricultura%20y%20ganader%C3%ADa.%20Instituto%20interamericano%20de%20cooperaci%C3%B3n%20para%20la%20agricultura%20\(2001\).%20Manual%20de%20procedimientos%20para%20el%20control%20microbiol%C3%B3gico%20de%20alimentos.&f=false](https://books.google.com.ni/books?id=HcsOAQAIAAJ&pg=PR1&lpg=PR1&dq=.+Ministerio+de+agricultura+y+ganader%C3%ADa.+Instituto+interamericano+de+cooperaci%C3%B3n+para+la+agricultura+(2001).+Manual+de+procedimientos+para+el+control+microbiol%C3%B3gico+de+alimentos.&source=bl&ots=u7qi9TDeXm&sig=ACfU3U0I0zUe4BpfxcnPTbPqwVnW22dKg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwj96q2K6YTnAhWixVkKHx7MCyEQ6AEwAHoECA_sQAQ#v=onepage&q=.%20Ministerio%20de%20agricultura%20y%20ganader%C3%ADa.%20Instituto%20interamericano%20de%20cooperaci%C3%B3n%20para%20la%20agricultura%20(2001).%20Manual%20de%20procedimientos%20para%20el%20control%20microbiol%C3%B3gico%20de%20alimentos.&f=false) (Recuperado Agosto 2021)



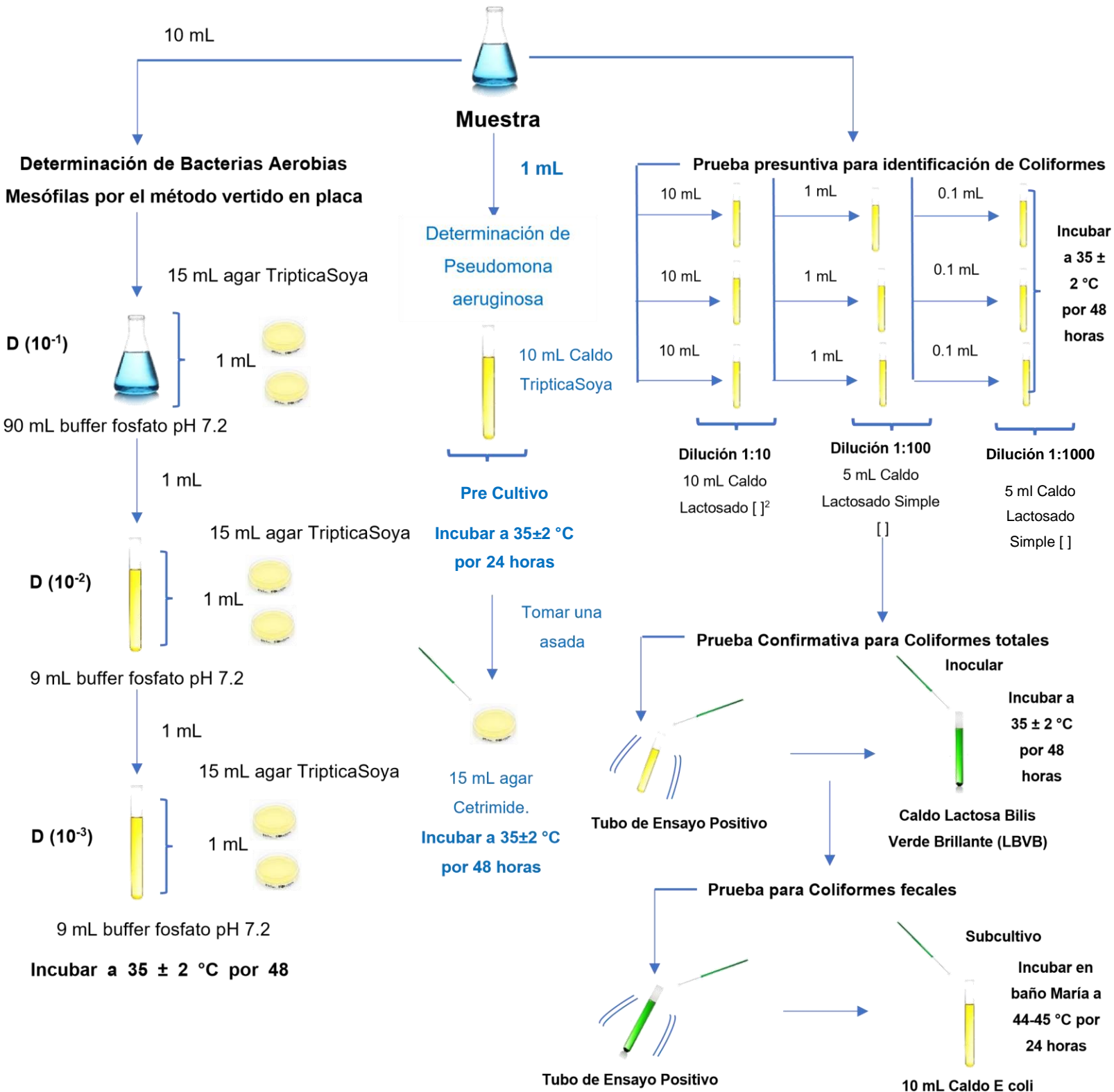
ANEXOS

Anexo 1: Glosario de Abreviaturas

- **BGBB:** Brilliant Green Biles Broth. (Caldo lactosado Bilis verde brillante).
- **BLVB:** Caldo bilis lactosa verde brillante.
- **CAPRE:** Comité Coordinador Regional de Instituciones de Agua Potable y Saneamiento de Centroamérica.
- **EMAPEPOSA:** Empresa Aguadora de las Peñitas y PoneLOYA S.A.
- **INVIC:** Prueba utilizada en microbiología para la identificación de bacterias. Se compone de cuatro pruebas: Indol, rojo de metilo, voges-proskauer y citrato. El resultado de este test se expresa mediante símbolos de positivo o negativo, según el resultado de cada prueba, siguiendo siempre el orden establecido por las iniciales del método.
- **NMP:** Número Más Probable.
- **NTON:** Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense.
- **pH:** Medida de acidez o alcalinidad de una disolución.
- **RTBAM:** Recuento total de Bacterias Aerobias Mesófilas
- **SA:** Sociedad Anónima.
- **UFC:** Unidades Formadoras de Colonias.
- **USP:** United States Pharmacopeia



Anexo 2: Esquema de procedimiento





Anexo 3: Cálculos realizados para determinar cantidad a utilizar de Reactivos y Medios de Cultivo.

✦ **Buffer Fosfato pH 7.2**

Volumen: 800 mL necesarios para 7 muestras.

$$\text{Cantidad para cada muestra: } \frac{800 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 1.25 \text{ mL} = 1 \text{ mL pH 7.2.}$$

✦ **Caldo Lactosado**

Volumen necesario para 7 muestras:

a. Doble concentración: 250 mL.

b. Simple concentración: 250 mL.

Cantidad para cada muestra:

$$\frac{250 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 13 \text{ g} = 3.25 \text{ g a concentración simple.}$$

$$\frac{250 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 13 \text{ g} = 3.25 \text{ g} \times 2 = 6.5 \text{ g a concentración doble.}$$

✦ **Caldo TripticaSoya.**

Volumen necesario para 7 muestras: 70 mL. Cantidad

$$\text{para cada muestra: } \frac{70 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 30 \text{ g} = 2.1 \text{ g.}$$

✦ **Agar Cetrimide.**

Volumen necesario para 7 muestras: 150 mL.

$$\text{Cantidad para cada muestra: } \frac{150 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 45.3 \text{ g} = 6.8 \text{ g.}$$



✦ **Agar TripticaSoya.**

Volumen necesario para 7 muestras: 800 mL.

$$\text{Cantidad para 7 muestras: } \frac{800 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 40 \text{ g} = 32 \text{ g.}$$

✦ **Caldo E. Coli**

Volumen necesario para 100 mL

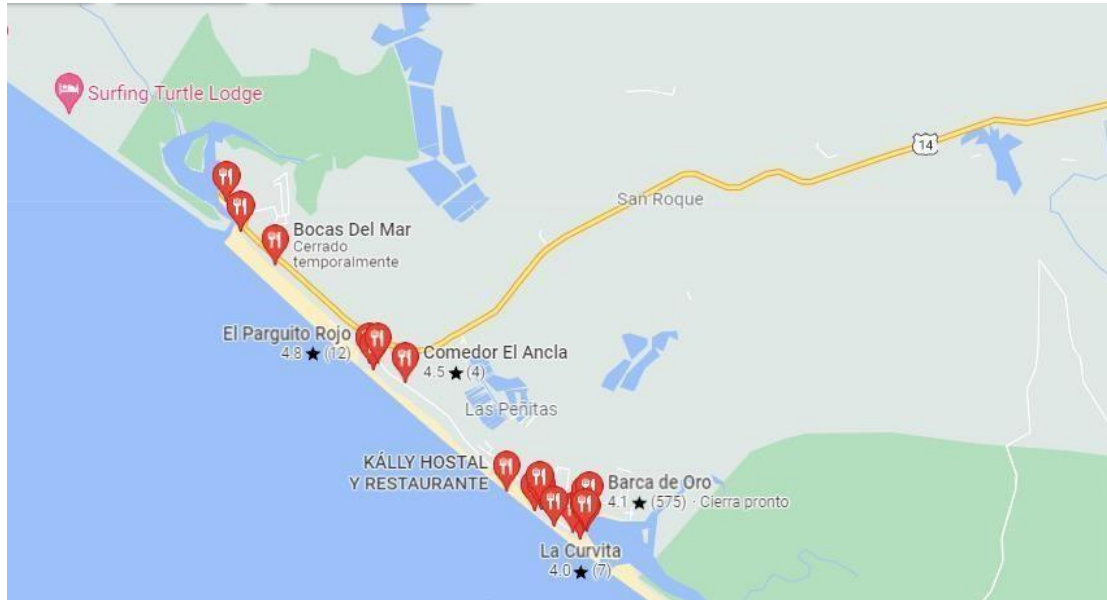
$$\frac{37 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} = 3.7 \text{ g necesarios para 100 mL}$$

✦ **Caldo Bilis Verde Brillante**

Necesarios para 200 mL

$$= \frac{4 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 200 \text{ mL} = 8 \text{ g necesarios para 200 mL}$$

Anexo 4: Mapa de Las Peñitas. Vista aérea de Las Peñitas.



Mapa de Las Peñitas.



Vista aérea de Las Peñitas



Anexo 5: Valores del número más probable de Microorganismos, según USP 40.

Combinaciones observadas de números de tubos que muestran crecimiento en cada juego			NMP/ g o mL de producto	Límites de confianza de 95%
Número de g o mL de producto por tubo				
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	<3	0 – 9,4
0	0	1	3	0,1 – 9,5
0	1	0	3	0,1 – 10
0	1	1	6,1	1,2 – 17
0	2	0	6,2	1,2 – 17
0	3	0	9,4	3,5 – 35
1	0	0	3,6	0,2 – 17
1	0	1	7,2	1,2 – 17
1	0	2	11	4 – 35
1	1	0	7,4	1,3 – 20
1	1	1	11	4 – 35
1	2	0	11	4 – 35
1	2	1	15	5 – 38
1	3	0	16	5 – 38

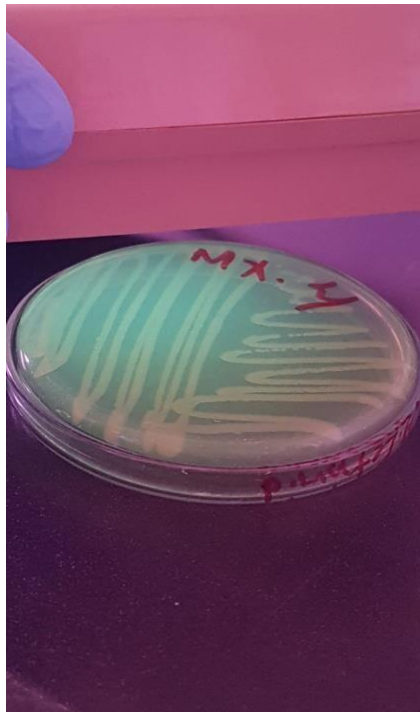
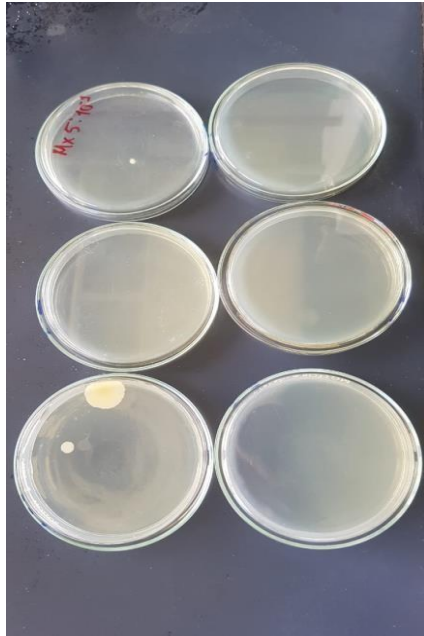
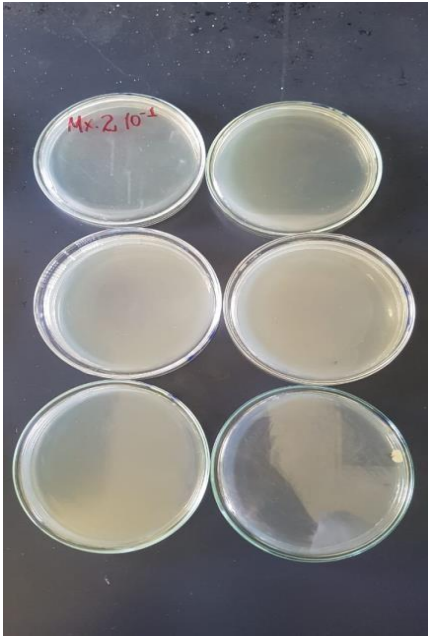


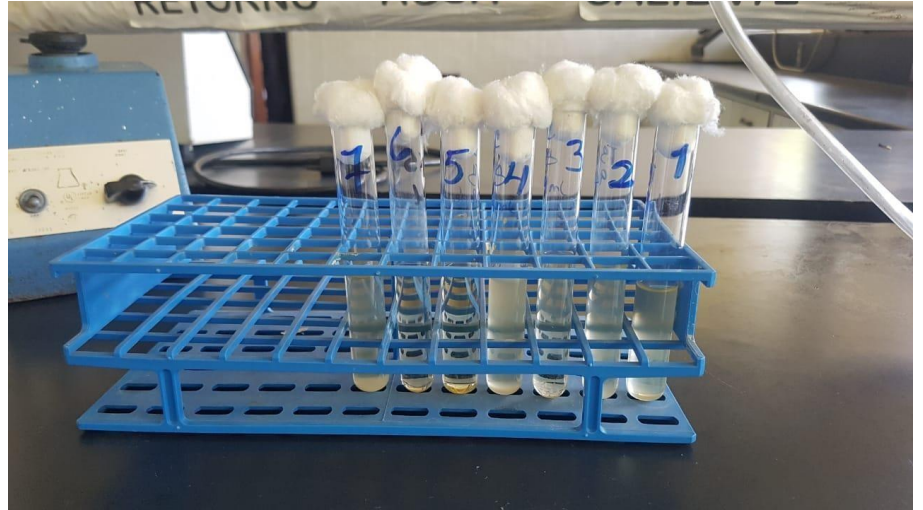
Combinaciones observadas de números de tubos que muestran crecimiento en cada juego			NMP/ g o mL de producto	Límites de confianza de 95%
Número de g o mL de producto por tubo				
0,1	0,01	0,001		
2	0	0	9,2	1,5 – 35
2	0	1	14	4 – 35
2	0	2	20	5 – 38
2	1	0	15	4 – 38
2	1	1	20	5 – 38
2	1	2	27	9 – 94
2	2	0	21	5 – 40
2	2	1	28	9 – 94
2	2	2	35	9 – 94
2	3	0	29	9 – 94
2	3	1	36	9 – 94
3	0	0	23	5 – 94
3	0	1	38	9 – 104
3	0	2	64	16 – 181
3	1	0	43	9 – 181
3	1	1	75	17 – 199



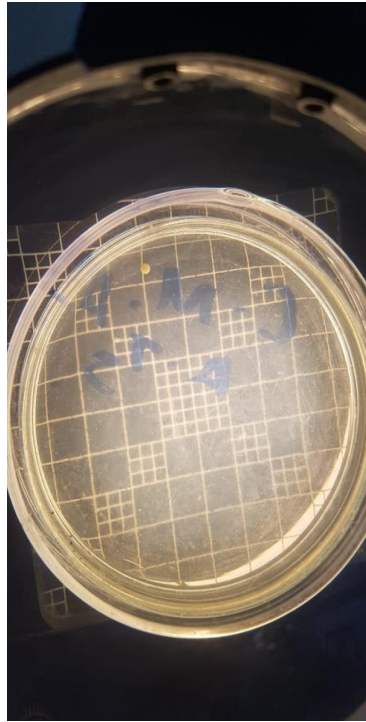
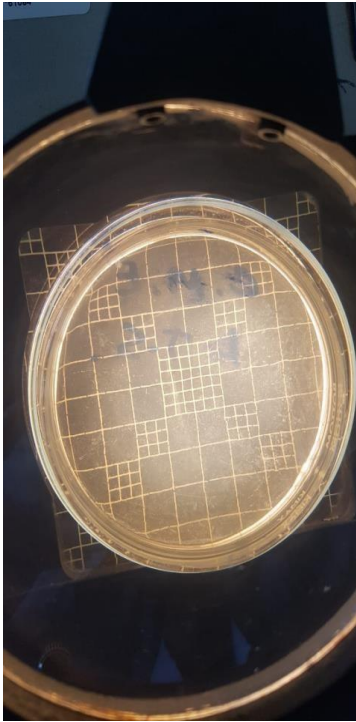
Combinaciones observadas de números de tubos que muestran crecimiento en cada juego			NMP/ g o mL de producto	Límites de confianza de 95%
Número de g o mL de producto por tubo				
0,1	0,01	0,001		
3	1	2	120	30 – 360
3	1	3	160	30 – 380
3	2	0	93	18 – 360
3	2	1	150	30 – 380
3	2	2	210	30 – 400
3	2	3	290	90 – 990
3	3	0	240	40 – 990
3	3	1	460	90 – 1980
3	3	2	1100	200 – 4000
3	3	3	>1100	-

Anexo 6: Evidencias Fotográficas de resultados de ensayos realizados





Anexo 7: Evidencias Fotográficas de controles realizados durante el proceso



**Anexo 8: Composición de Medios De Cultivo Y Reactivos Utilizados****c. Solución reguladora de fosfato pH 7,2**

COMPOSICIÓN	g/mL
Fosfato monobásico de potasio.....	34.0 g.
Agua destilada.....	500 mL.

d. Agar Cetrimide

COMPOSICIÓN	g/mL
Digerido Pancreático de Gelatina.....	20.0g
Cloruro de Magnesio.....	1.4g
Sulfato potásico.....	10.0g
N-cetil-N, N, N-trimetiamoniobromuro (Cetrimide).....	0.3g
Agar-agar.....	13.6g
Aditivo: glicerina.....	1.0mL
Agua destilada.....	1000mL

e. Agar TriptiCasa De Soya (TSA)

COMPOSICIÓN.....	g/mL
Triptona.....	15.0g
Peptona de Soya.....	5.0g
Cloruro de Sodio.....	5.0g
Agar.....	15.0g
Agua destilada csp.....	1000mL

f. Caldo TriptiCasa De Soya (TSA)

COMPOSICIÓN.....	g/mL
Triptona.....	15.0g
Peptona de Soya.....	5.0g



Cloruro de Sodio.....	5.0g
Agar.....	15.0g
Agua destilada csp.....	1000mL

g. **Caldo Lactosado**

COMPOSICIÓN.....	g/mL
Extracto de carne.....	3.0g
Digerido pancreático de gelatina.....	5.0g
Lactosa.....	5.0g
Agua destilada.....	1000mL

h. **Bilis verde brillante (LBVB)**

COMPOSICIÓN.....	g/mL
Bilis de buey deshidratado.....	20g
Peptona.....	10g
Lactosa.....	10g
Verde brillante.....	0.0133g

i. **Caldo E. Coli**

COMPOSICIÓN.....	g/mL
Tripteina.....	20g
Lactosa.....	5g
Sales Biliares.....	1.9g
Fosfato Dipotásico.....	4g
Fosfato Mono potásico.....	1.5g
Cloruro de sodio.....	5g



Anexo 9: Ejemplo de esquema de censo realizado por investigadoras

Fecha: ____/____/____ Casa no: _____

DATOS DE LA VIVIENDA

TIPO DE VIVIENDA

VIVIENDA PARTICULAR O COLECTIVA

- ✦ Casa ____
- ✦ Rancho o choza ____
- ✦ Vivienda improvisada ____
- ✦ Hotel, casa de huéspedes ____
- ✦ Otro tipo de vivienda colectiva ____

CONDICION DE OCUPACIÓN

ESTA VIVIENDA SE ENCUENTRA

- ✦ Ocupada con moradores presentes ____
- ✦ Ocupadas con moradores ausentes ____

VIVIENDA DESOCUPADA

- ✦ En venta o alquiler ____
- ✦ De uso temporal ____
- ✦ En construcción ____
- ✦ Por otra razón ____

✦ Nota:

Una vez explicadas las consideraciones éticas, objetivos del estudio e identificadas las investigadoras, se procedió a la realización del censo, en el sector de la bocana de Las Peñitas, el cual es comprendido desde: *Hotel Suyapa Beach 1c al este hasta sector de la casa base "Comanejo"*.

- **Fecha de realización del censo:** lunes 14 de marzo del año 2022.
- **Hora de realización del censo:** 9 am - 11 am.
- **Resultados obtenidos:** 50 viviendas.

