

**UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR**  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA INDUSTRIAL

**"MÉTODO PRÁCTICO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA  
PARA LAS ALDEAS DEL MUNICIPIO DE ANTIGUA GUATEMALA, SACATEPÉQUEZ,  
GUATEMALA"**  
TESIS DE GRADO

**SERGIO DANIEL SANTIZO MORALES**  
CARNET 10046-12

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, DICIEMBRE DE 2017  
CAMPUS CENTRAL

**UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR**  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA INDUSTRIAL

**"MÉTODO PRÁCTICO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA  
PARA LAS ALDEAS DEL MUNICIPIO DE ANTIGUA GUATEMALA, SACATEPÉQUEZ,  
GUATEMALA"**

TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE  
INGENIERÍA

POR

**SERGIO DANIEL SANTIZO MORALES**

PREVIO A CONFERÍRSELE

EL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO INDUSTRIAL EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, DICIEMBRE DE 2017  
CAMPUS CENTRAL

## **AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR**

RECTOR: P. MARCO TULIO MARTINEZ SALAZAR, S. J.

VICERRECTORA ACADÉMICA: DRA. MARTA LUCRECIA MÉNDEZ GONZÁLEZ DE PENEDO

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN: ING. JOSÉ JUVENTINO GÁLVEZ RUANO

VICERRECTOR DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA: P. JULIO ENRIQUE MOREIRA CHAVARRÍA, S. J.

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO: LIC. ARIEL RIVERA IRÍAS

SECRETARIA GENERAL: LIC. FABIOLA DE LA LUZ PADILLA BELTRANENA DE LORENZANA

## **AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA**

DECANA: MGTR. KAREN GABRIELA MORALES HERRERA DE ZUNIGA

VICEDECANO: MGTR. OSMAN CARRILLO SOTO

SECRETARIA: MGTR. MARYA ALEJANDRA ORTIZ PATZAN

DIRECTOR DE CARRERA: DR. MARIO RENE SANTIZO CALDERON

## **NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

MGTR. JOSE ANTONIO ROSAL CHICAS

## **TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN**

MGTR. MIRIAM ESTELA CHAVEZ RAMIREZ

ING. VILMA JEANNETTE BARRIOS ZAMORA DE HAEUSSLER

LIC. LUIS ALBERTO AGUILAR PRADO



### Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado del estudiante SERGIO DANIEL SANTIZO MORALES, Carnet 10046-12 en la carrera LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA INDUSTRIAL, del Campus Central, que consta en el Acta No. 02528-2017 de fecha 13 de septiembre de 2017, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

**"MÉTODO PRÁCTICO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA PARA LAS ALDEAS DEL MUNICIPIO DE ANTIGUA GUATEMALA, SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA"**

Previo a conferírsele el título de INGENIERO QUÍMICO INDUSTRIAL en el grado académico de LICENCIADO.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 7 días del mes de diciembre del año 2017.



**MGTR. MARYA ALEJANDRA ORTIZ PATZAN, SECRETARIA**  
**INGENIERÍA**  
**Universidad Rafael Landívar**

Guatemala, 10 de julio de 2017

Ingeniera  
Alejandra Ortiz  
Secretaria de Facultad  
Facultad de Ingeniería

Estimada Inga. Ortiz:

Le saludo cordialmente esperando que tenga éxitos en sus labores diarias. El motivo de la presente es para informarle que he revisado el informe final del Trabajo de Graduación titulado: **"MÉTODO PRÁCTICO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA PARA LAS ALDEAS DEL MINICIPIO DE ANTIGUA GUATEMALA, SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA"**, del estudiante **Sergio Daniel Santizo Morales** quien se identifica con el número de carnet **1004612** de la carrera de Ingeniería Química Industrial.

Después de haber revisado el informe final y de acuerdo con los requerimientos establecidos por la Facultad de Ingeniería de la Universidad Rafael Landívar, doy como aprobado dicho trabajo.

Sin otro particular, me suscribo de Ud.

Atentamente,



MGTR. José Antonio Rosal Chicas  
Asesor de Tesis

## **DEDICATORIA**

### **A Dios y la Virgen María:**

Por ser esa luz en los tiempos más difíciles, por brindarme paz, calma y serenidad en los momentos más decisivos. Por darme esa fortaleza para iniciar cada día con el pie derecho y llegar hasta éste punto.

### **A mi abuelita:**

Chepita, por la sabiduría que compartiste, por todos los valores que nos inculcaste y por ese gran ejemplo de vida. Sé que celebras conmigo este logro desde el cielo.

### **A mi madre:**

Por ese gran ejemplo, por la sabiduría para discernir y tomar lo bueno de cada experiencia. Por todas esas luchas que poco a poco van dando frutos. Por su paciencia, apoyo incondicional, por creer siempre en mí y sobre todo por tenerme presente en cada una de sus oraciones, que estoy seguro me dieron y siguen dando ánimo y aliento para luchar por lo que deseo.

### **A mi padre:**

Por los consejos, por creer en mí y por apoyarme en cada decisión que he tomado. Por tenerme paciencia en los momentos más desesperantes y por estar siempre pendiente de mí.

### **A mi hermana:**

Por ser ejemplo de perseverancia y apoyo en todo momento. Por compartir tantos buenos momentos, por siempre demostrarme tú cariño, y por estar en cada etapa desde que tengo noción.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios y la Virgen María**, por todas las bendiciones que han llegado a mi vida y me han permitido llegar hasta donde estoy.

**A mi familia**, a mi abuelita Chepita, que aunque no estás físicamente sé que tus enseñanzas han sido de gran ayuda. A mis padres por su esfuerzo constante para que pueda convertirme en una persona con valores, útil, y al servicio de la sociedad. A mi hermana por acompañarme en cada experiencia de vida y compartir conmigo lo mejor.

**A mis amigos**, valoro mucho el tiempo compartido con ustedes durante la carrera y por el apoyo mutuo en momentos buenos y los no tan buenos. Por la motivación para terminar la carrera y el trabajo de graduación, por la buena amistad cultivada, y por siempre estar al pendiente.

**Al Lic. Ricardo Montoya y al Sr. César Gámez**, por su apoyo incondicional y su disposición durante la carrera y el desarrollo del trabajo de graduación.

**Al Ing. José Antonio Rosal Chicas**, por su apoyo y guía durante la realización de este proyecto. Por compartir su conocimiento y por el tiempo invertido.

**A la Facultad de Ingeniería**, especialmente a Isabel Gálvez por su apoyo en el proceso del trabajo de graduación, siempre estar al pendiente, y por su trato amable.

**A la Universidad Rafael Landívar**, por brindarme una educación con valores, y por ser la casa de estudios que me formó como un profesional con ética. Por la oportunidad y por el apoyo durante éste tiempo.

## RESUMEN EJECUTIVO

El presente trabajo de graduación se realizó con el objetivo de desarrollar e implementar una metodología de fácil aplicación tanto para comunidades urbanas como rurales. Por ser Guatemala un país en desarrollo aún presenta dificultades con el servicio de agua potable a los usuarios. Con este proyecto de investigación se desarrolló un método práctico para la evaluación de la calidad microbiológica del agua con el cual se pretende determinar las características bacteriológicas del agua de pozos, tanto municipales como comunales, para el consumo humano en el municipio de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala. Como aporte adicional se desarrolló un manual práctico y de fácil comprensión para ser utilizado como guía para las personas, el cual no es objetivo del trabajo sin embargo, lo complementa.

Para cumplir con todos los objetivos, se recabó información sobre tecnologías prácticas, se encuestó al encargado del departamento de calidad del agua del municipio y a personas del sector de muestreo, y se capacitó a grupo para implementar la metodología como un proyecto piloto.

Conociendo el método propuesto, se implementó en seis (6) puntos susceptibles para la evaluación. Posteriormente se analizaron los datos, se determinó el nivel de riesgo, y se sugirieron propuestas para los casos en los que no se cumple con la normativa nacional referente a presencia de bacterias indicadoras de contaminación en agua. Finalmente se encuestó a los involucrados en el proceso con respecto al grado de interés y aceptación del método.

**Descriptor:** calidad microbiológica del agua, análisis microbiológicos, bacterias indicadoras, *E. coli*.



# ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Antecedentes .....	2
1.2. Marco Teórico .....	5
1.2.1. Distribución de agua .....	5
1.2.2. Contaminación del agua .....	6
1.2.3. Calidad del agua .....	6
1.2.4. Microbiología del agua .....	10
1.2.5. Calidad microbiológica del agua .....	12
1.2.6. Análisis microbiológico de agua .....	14
1.2.7. Norma COGUANOR NTG 29001 .....	21
1.2.8. Muestreo .....	25
1.2.9. Técnica de análisis de <i>E. coli</i> empleando test Petrifilm™ .....	33
1.2.10. Técnica de análisis presencia - ausencia de <i>E. coli</i> y coliformes totales empleando el test ReadyCult® .....	34
1.2.11. Desinfección del agua .....	36
<b>II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	41
2.1. Objetivos .....	43
2.1.1. Objetivo general .....	43
2.1.2. Objetivos específicos .....	43
2.2. Hipótesis .....	44
2.3. Variables .....	44
2.4. Definición de Variables .....	44
1.4.1. Definición conceptual .....	44
1.4.2. Definición operacional .....	44
2.5. Alcances y Límites .....	46
2.5.1. Alcances .....	46
2.5.2. Límites .....	46

2.6. Aporte.....	48
<b>III. MÉTODO .....</b>	<b>49</b>
3.1. Tipo de estudio.....	49
3.2. Instrumentos de validación.....	49
3.2.1. Observación.....	49
3.2.2. Cuestionarios.....	49
3.2.3. Entrevista.....	50
3.3. Sujetos y unidades de análisis .....	50
3.3.1. Normas de Referencia.....	51
3.4. Instrumentos.....	51
3.4.1. Materiales .....	52
3.5. Procedimiento .....	55
3.5.1. Muestreo.....	55
3.5.2. Test Petrifilm™ .....	57
3.5.3. Test ReadyCult® .....	59
3.6. Diseño y metodología estadística.....	61
3.6.1. Localización .....	61
3.6.2. Cálculo del tamaño muestral .....	62
3.6.3. Criterios de selección puntos de muestreo .....	63
3.6.4. Diseño experimental .....	64
3.6.5. Descripción de unidades experimentales .....	64
3.6.6. Variables de respuesta .....	64
3.6.7. Metodología de análisis .....	65
<b>IV. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>72</b>
<b>V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>85</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>100</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>101</b>
<b>VIII. REFERENCIAS.....</b>	<b>102</b>
<b>IX. ANEXOS .....</b>	<b>108</b>

9.1. Anexo 1 .....	108
9.1.1. Costeo promedio .....	108
9.2. Anexo 2 .....	110
9.2.1. Datos de muestreo .....	110
9.2.2. Lugares de muestreo .....	111
9.2.3. Puntos de muestreo.....	119
9.2.4. Muestreo.....	123
9.3. Anexo 3 .....	125
9.3.1. Preparación de muestras.....	125
9.3.2. Inoculación de muestras.....	128
9.3.3. Lectura de resultados .....	130
9.4. Anexo 4 .....	143
9.4.1. Datos calculados .....	143
9.5. Anexo 5 .....	145
9.5.1. Fichas técnicas .....	145
9.5.2. Fichas de datos de seguridad.....	151
9.5.3. Certificado de análisis.....	152
9.6. Anexo 6 .....	154
9.6.1. Manual de usuario .....	154
9.6.2. Presentación y desarrollo de metodología.....	159
9.7. Anexo 7 .....	162
9.7.1. Cuestionario 1.....	162
9.7.2. Cuestionario 2.....	164
9.7.3. Entrevista.....	166
9.8. Anexo 8 .....	167
9.8.1. Glosario de términos técnicos.....	167
9.8.2. Glosario de abreviaturas.....	168

## Índice de Tablas

<b>Tabla No. 1</b> Tipo de patógeno transmitido a través de agua potable.....	14
<b>Tabla No. 2</b> Características sensoriales. Límite máximo aceptable (LMA) y límite máximo permisible (LMP) que debe tener el agua potable. ....	23
<b>Tabla No. 3</b> Sustancias químicas con sus correspondientes LMA y LMP .....	23
<b>Tabla No. 4</b> Relación de sustancias inorgánicas con significado para la salud, con sus respectivos límites máximos permisibles (LMP) .....	24
<b>Tabla No. 5</b> Sustancias no deseadas. Límite máximo aceptable (LMA) y Límite máximo permisible (LMP).....	25
<b>Tabla No. 6</b> Valores guía para verificación de la calidad microbiológica del agua	25
<b>Tabla No. 7</b> Frecuencia de análisis según OMS.....	30
<b>Tabla No. 8</b> Frecuencia de análisis vigilancia microbiológica .....	31
<b>Tabla No. 9</b> Frecuencia de análisis control microbiológico .....	32
<b>Tabla No. 10</b> Evaluación e identificación de E. coli y coliformes totales empelando el Test Readycult®.....	36
<b>Tabla No. 11</b> Métodos rápidos para la desinfección de agua .....	40
<b>Tabla No. 12</b> Pruebas realizadas para evaluar la metodología propuesta.....	64
<b>Tabla No. 13</b> Variables de respuesta para cada prueba.....	65
<b>Tabla No. 14</b> Evaluación del riesgo de fuentes de agua para uso potable .....	69
<b>Tabla No. 15</b> Evaluación del riesgo para la salud de fuentes de agua para riego de hortalizas.....	70
<b>Tabla No. 16</b> Cuestionario No. 1.....	72
<b>Tabla No. 17</b> Datos de muestreo .....	75
<b>Tabla No. 18</b> Resultados de Test Readycult®.....	76
<b>Tabla No. 19</b> Evaluación e identificación de colonias promedio en Placas Petrifilm™ .....	77
<b>Tabla No. 20</b> Resultados de análisis (Readycult® y Petrifilm™) .....	79
<b>Tabla No. 21</b> Nivel de riesgo de agua analizada según tabla No. 14 y 15 respectivamente .....	79
<b>Tabla No. 22</b> Evaluación de resultados según cumplimiento con Acuerdo Ministerial No. 523-2013 (Norma COGUANOR NTG 29001) .....	80

<b>Tabla No. 23</b> Cuestionario No. 2.....	81
<b>Tabla No. 24</b> Costo promedio de materiales para análisis microbiológicos con metodología propuesta.....	108
<b>Tabla No. 25</b> Costos totales de método propuesto .....	109
<b>Tabla No. 26</b> Información de puntos de muestreo .....	110
<b>Tabla No. 27</b> Preparación de muestras .....	125
<b>Tabla No. 28</b> Muestras preparadas para la incubación.....	128
<b>Tabla No. 29</b> Resultados de muestras (posterior a $48 \pm 4$ horas de incubación para prueba ReadyCult® y $24 \pm 4$ horas para la prueba Petrifilm™) .....	130
<b>Tabla No. 30</b> Prueba confirmación de <i>E. coli</i> en Test ReadyCult® .....	132
<b>Tabla No. 31</b> Recuento e identificación de <i>E. coli</i> en Placas Petrifilm™ .....	137
<b>Tabla No. 32</b> Test ReadyCult®.....	143
<b>Tabla No. 33</b> Test Petrifilm™ .....	144
<b>Tabla No. 34</b> Toxicidades y antidotos de reactivos .....	151
<b>Tabla No. 35</b> Respuestas a entrevista.....	166

## Índice de Gráficas

<b>Gráfico No. 1</b> Conocimiento de la importancia de consumir agua potable .....	72
<b>Gráfico No. 2</b> Servicio de agua potable.....	72
<b>Gráfico No. 3</b> Condiciones del agua utilizada.....	73
<b>Gráfico No. 4</b> Uso de tomas comunales.....	73
<b>Gráfico No. 5</b> Usos de agua .....	74
<b>Gráfico No. 6</b> Interés del encuestado.....	74
<b>Gráfico No. 7</b> Resultados Test ReadyCult®.....	76
<b>Gráfico No. 8</b> Test Placas Petrifilm™ crecimiento <i>E. Coli</i> positivo promedio .....	77
<b>Gráfico No. 9</b> Test Placas Petrifilm™ crecimiento positivo promedio.....	78
<b>Gráfico No. 10</b> Test ReadyCult® indol positivo Vrs Test Placa Petrifilm™ <i>E. coli</i> positiva (total de pruebas realizadas).....	78
<b>Gráfico No. 11</b> Análisis de riesgo de agua analizada.....	80

<b>Gráfico No. 12</b> Evaluación de resultados según cumplimiento con Acuerdo Ministerial No. 523-2013 (Norma COGUANOR NTG 29001) .....	81
<b>Gráfico No. 13</b> Calificación de la metodología .....	81
<b>Gráfico No. 14</b> Porcentaje de réplica.....	82
<b>Gráfico No. 15</b> Características otorgadas a cada prueba.....	82
<b>Gráfico No. 16</b> Frecuencia de capacitación.....	83
<b>Gráfico No. 17</b> Interés en el método .....	83

## Índice de Figuras

<b>Figura No. 1</b> Distribución de agua en la tierra .....	5
<b>Figura No. 2</b> Métodos de tratamiento en el hogar .....	39
<b>Figura No. 3</b> Localización del municipio de Antigua Guatemala.....	61
<b>Figura No. 4</b> Interpretación de resultados de placas de petrifilm™ .....	66
<b>Figura No. 5</b> Interpretación de resultados Test Readycult®.....	68
<b>Figura No. 6</b> Punto de muestreo No. 1 .....	119
<b>Figura No. 7</b> Punto de muestreo No. 2.....	120
<b>Figura No. 8</b> Punto de muestreo No. 3.....	120
<b>Figura No. 9</b> Punto de muestreo No. 4.....	121
<b>Figura No. 10</b> Punto de muestreo No. 5.....	122
<b>Figura No. 11</b> Punto de muestreo No. 6.....	122
<b>Figura No. 12</b> Toma de muestras.....	123
<b>Figura No. 13</b> Primera inducción y capacitación a usuarios y a representantes del departamento de calidad .....	160
<b>Figura No. 14</b> Segunda inducción y capacitación a usuarios y a representantes del departamento de calidad .....	161

## Índice de Imágenes

<b>Imagen No. 1</b>	Recolectores de muestra .....	27
<b>Imagen No. 2</b>	Recolector de muestra .....	52
<b>Imagen No. 3</b>	Pipetas estériles.....	52
<b>Imagen No. 4</b>	Bulbo para pipetas .....	53
<b>Imagen No. 5</b>	Placas de Petrifilm®.....	53
<b>Imagen No. 6</b>	Kit Petrifilm® .....	54
<b>Imagen No. 7</b>	Empaque individual de Readycult.....	54
<b>Imagen No. 8</b>	Reactivo de Kovacs .....	55
<b>Imagen No. 9</b>	Mapa de departamento de Sacatepéquez .....	111
<b>Imagen No. 10</b>	Mapa del municipio de Antigua Guatemala.....	112
<b>Imagen No. 11</b>	Mapa de caserío el Guayabal, aldea San Felipe de Jesús .....	113
<b>Imagen No. 12</b>	Mapa de Aldea San Juan Gascón.....	114
<b>Imagen No. 13</b>	Mapa de aldea Santa Inés del Monte Pulciano .....	115
<b>Imagen No. 14</b>	Mapa de aldea San Cristóbal el Bajo .....	116
<b>Imagen No. 15</b>	Mapa de aldea San Pedro las Huertas .....	117
<b>Imagen No. 16</b>	Mapa de aldea San Mate Milpas Altas.....	118

## I. INTRODUCCIÓN

En diversas comunidades del interior del país existe una deficiencia en la administración de recursos hídricos potables y aptos para el consumo. Por lo general, no se cuenta con fuentes de tratamiento aplicables para la potabilización de agua, siendo esta la causa de muchas enfermedades debido a la calidad de vida que se lleva bajo dichas circunstancias.

Se debe resaltar que cualquiera que sea la fuente de la cual se obtiene el agua, ésta contendrá impurezas y agentes no aptos para el consumidor, ya que no existe agua natural químicamente pura. La contaminación que se da en fuentes de agua superficiales para el consumo humano es uno de los problemas más preocupantes en países en desarrollo como lo es Guatemala. La ingesta de agua contaminada implica un riesgo de transmisión de enfermedades. Por lo que la evaluación de la calidad de agua es fundamental para prevenir el consumo de agua contaminada, evitando así el brote de enfermedades.

El presente documento hace referencia a escritos claves en el tema de calidad del agua, parámetros, y límites normados nacionales e internacionales. Apoyándose en los documentos mencionados, se adaptó un método práctico para analizar las condiciones bacteriológicas de los suministros de agua.

El desarrollo e implementación de la metodología para el control permitió determinar las condiciones microbiológicas de 18 muestras de agua recolectadas en aldeas de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala. Con la información obtenida, empleando el método desarrollado, conjuntamente con los respectivos análisis se determinó un nivel de riesgo para las muestras de agua. El proyecto se enfoca directamente para aldeas del municipio de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala.



## 1.1. Antecedentes

Varias organizaciones como universidades, institutos, laboratorios, etc. han realizado estudios e investigaciones en materia de la calidad del agua y cómo evaluarla. Actualmente a nivel mundial existen diversas instituciones que se dedican al desarrollo de documentos para ampliar el conocimiento referente al vital líquido en todos sus ámbitos.

En Guatemala se han realizado algunos trabajos con respecto a la temática de tratamiento y potabilización de agua. Dentro de las investigaciones realizadas se puede mencionar la llevada a cabo por Gramajo (2004). Dicho trabajo determina la calidad del agua para consumo humano y uso industrial de cuatro pozos mecánicos. Para ello se determinó características fisicoquímicas y bacteriológicas del agua en cada pozo. Todos los parámetros que se evaluaron se encontraron dentro de los límites aceptados en la norma de agua potable, concluyendo en que el agua proveniente de dichos pozos es apta para consumo humano. En promedio el agua evaluada se clasificó como dura y ligeramente corrosiva.

Hernández (2012) realizó otro estudio referente a la temática. En dicho trabajo el fin primordial fue el de evaluar la calidad del agua de pozo domiciliar desde el punto de vista bacteriológico en el casco urbano del departamento de Chiquimula. Para la investigación se colectaron un total de 90 muestras provenientes de 30 pozos de origen domiciliar en un período de 3 meses. Los resultados se compararon con los parámetros microbiológicos (coliformes totales, coliformes fecales, y *Escherichia coli*) incluidos en la Norma COGUANOR NGO 29001. Como resultado se obtuvo 80% de las muestra con presencia de coliformes totales, 77% coliformes fecales, y 50% *E. coli*, en cantidades por arriba de los límites máximos permisibles exigidos por las normas. Se concluyó que el agua de obtenida de los pozos se encuentra contaminada.

Otro de los trabajos lo realizó Sac (2005), en Quetzaltenango, Guatemala. En ella se trata la evaluación de la calidad de agua de los abastecimientos de la nueva red de distribución de la zona media urbana del municipio de Quetzaltenango. Presentando también el diseño de un sistema de cloración gaseosa al vacío para

garantizar la calidad de agua. Se tomaron 24 muestras y se les realizó análisis fisicoquímico y microbiológico. Los resultados derivados de la evaluación, llevaron a concluir que el agua de consumo humano de dichos abastecimientos cumple con la Norma COGUANOR NGO 29 001 en lo que respecta a los análisis físicos y químicos ya que todos los parámetros están en los límites máximo aceptable y permisible.

Se pueden destacar investigaciones como la realizada por Chan y Peña (2015), dicha investigación evalúa la aptitud de ríos para poder utilizar el agua para consumo humano. La investigación concluye que aunque los contaminantes químicos no comprometen la calidad del agua para su consumo; los microbiológicos son una amenaza.

Paredes (2014) elaboró uno de los estudios más recientes de la materia en cuestión. En el mismo se desarrolla un manual de procedimiento para la realización de análisis microbiológicos para la Asociación Municipal de Acueductos Comunitarios AMAC ubicado en el municipio de Dosquebradas Colombia. El laboratorio que recibe las muestras no contaba con protocolo para realizar análisis y determinar la calidad e índice de riesgo de la calidad del agua para consumo humano. Por lo que el estudio se enfocó en desarrollarlo para especificar el procedimiento que los analistas deben seguir.

Así mismo, Metcalf y Onsager (2011) a través de Alianzas Internacionales de Agua y Salud (IWHA) conjuntamente con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) establecen en su investigación las bases para realizar una evaluación bacteriológica del agua mediante un método sencillo desarrollado a través de la experiencia en el campo. El mismo explica e instruye a los usuarios en el material, equipo, y método así como la interpretación de resultados para determinar la aptitud de las fuentes de agua. También incluye recomendaciones para tratar el agua que no cumpla con las pruebas sugeridas por el autor y sus colaboradores.

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2011) en colaboración y participación de cientos de expertos de una amplia gama de países en desarrollo y

desarrollados preparó una serie de directrices para la calidad de agua potable y documentación de apoyo. Dando así como resultado la cuarta edición de las directrices. Las mismas incluyen conceptos, enfoques, e información, incluyendo el enfoque integral de gestión de riesgo preventivo para garantizar la calidad del agua potable. Incluye aspectos como la seguridad del agua potable, incluidos los procedimientos mínimos y los valores orientativos específicos y la forma en que se pretenden utilizar. También incluye una sección dedicada a los peligros microbianos que siguen siendo una gran preocupación en países desarrollados, y más aún en vías de desarrollo como lo es Guatemala. Las Directrices se dirigen principalmente a los reguladores del agua y la salud, a los encargados de formular políticas ya sus asesores, para ayudar en el desarrollo de las normas nacionales. Las directrices y los documentos también son fuente de información sobre la calidad y la salud del agua y sobre enfoques de gestión eficaces.

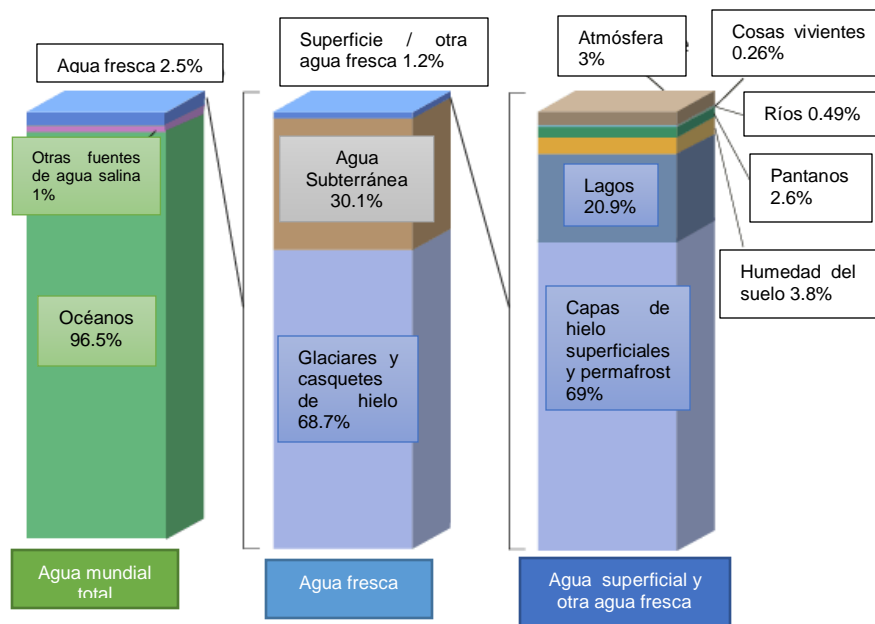
## 1.2. Marco Teórico

### 1.2.1. Distribución de agua

La hidrología es el estudio del movimiento, distribución, y calidad del agua. Dentro de los aspectos más relevantes para la hidrología se destaca el estudio de las fuentes de agua.

La mayoría de agua presente en la Tierra es de carácter salado y se encuentra en los océanos y una pequeña parte es agua dulce disponible para uso humano.

**Figura No. 1** Distribución de agua en la tierra



**Fuente:** United States Geological Survey, (2016)

En la primera barra se puede observar que del 100% de agua disponible en la tierra, el 97.5% es salada y únicamente el 2.5% es dulce. Del 97.5%, el 96.5% corresponde a agua proveniente de océanos y 1% de otras fuentes (USGS, 2016).

En la segunda barra se puede observar la distribución del agua dulce específicamente. En la misma se observa que un 68.7% corresponde a glaciares y

casquetes de hielo. El 30.1 corresponde al porcentaje de agua dulce subterránea y el 1.2 al agua de la superficie (USGS, 2016).

La tercera y última barra muestra las fuentes de agua dulce que se puede encontrar en la superficie que son las que son las que mayormente se utilizan para el consumo humano. La mayoría se encuentra en las capas de hielo superficiales (permafrost), y en los lagos con un 69% y 20.9% respectivamente. Los ríos representan 0.49% del total de agua dulce, siendo esta fuente de la cual los seres humanos obtienen la mayor cantidad de agua dulce. (USGS, 2016).

A continuación se muestra una tabla que detalla la distribución estimada de agua en la Tierra.

#### 1.2.2. Contaminación del agua

La contaminación de agua es la alteración en la composición química, propiedades físicas y bacteriológicas, de manera que resulta poco apta para los propósitos en los cuales es empleada (Departamento de Asuntos Económicos y Sociales de Naciones Unidas, ONU-DAES, 2014).

Se dice que un agua está contaminada cuando existe presencia de sustancias químicas o de otra naturaleza en concentraciones superiores a las condiciones naturales. Entre los contaminantes más importantes están los microbios, los nutrientes, los metales pesados, los químicos orgánicos, aceites y sedimentos. Los contaminantes constituyen la causa principal de la degradación de la calidad de agua en el mundo (ONU-DAES, 2014).

#### 1.2.3. Calidad del agua

Según la Organización de las Naciones Unidas (ONU) la calidad de cualquier masa de agua, superficial o subterránea depende tanto de factores naturales como de la acción humana. Sin la acción humana, la calidad del agua vendría determinada por la erosión del substrato mineral, los procesos atmosféricos de evapotranspiración y

sedimentación de lodos y sales, la lixiviación natural de la materia orgánica y los nutrientes del suelo por los factores hidrológicos, y los procesos biológicos en el medio acuático que pueden alterar la composición física y química del agua (ONU-DAES, 2014)

La calidad del agua se determina comparando las características físicas y químicas de una muestra de agua con directrices de calidad que se establecen para asegurar un suministro de agua limpia y saludable para el consumo humano y, de este modo, proteger la salud de las personas. Dichas normas, se basan en niveles de toxicidad científicamente aceptables tanto para humanos como para los organismos acuáticos.

El deterioro de la calidad del agua se ha vuelto un motivo de preocupación debido al crecimiento de la población humana, expansión de la actividad industrial y agrícola. La baja calidad de agua afecta directamente sobre la cantidad de agua de diversas maneras. El agua contaminada que no puede utilizarse para consumo, para baño, para la industria o la agricultura reduce de forma efectiva la cantidad de agua disponible en una determinada zona (ONU-DAES, 2014).

El fracaso en el aseguramiento de la calidad de agua potable puede exponer a una comunidad al riesgo de brotes de infecciones intestinales y enfermedades infecciosas. Dentro de los aspectos más importantes del aseguramiento de la calidad están:

- Asegurar un suministro adecuado de agua microbiológicamente segura y mantener la aceptabilidad para proporcionar a los consumidores un agua potable potencialmente menos contaminada.
- Abordar los principales peligros químicos conocidos por causar efectos adversos para la salud incluyendo la aceptabilidad de agua potable en términos de su sabor, olor, y aspecto.
- Aplicar las tecnologías apropiadas para reducir las concentraciones de contaminantes en la fuente por debajo de la línea de guía o valores regulados.

La comprensión de las medidas de control incluye la validación. La validación es importante tanto para asegurar que el tratamiento logre los objetivos deseados (metas de rendimiento) como para evaluar las áreas en las que se puede mejorar (OMS, 2011).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en sus Guías para la calidad del agua potable y otras normas tanto nacionales como internacionales, establecen o recomiendan requisitos de calidad para el agua de consumo humano. Las tolerancias para los parámetros de calidad dependen del tipo de uso que se le da al agua.

➤ **Calidad del agua potable**

El agua libre de microorganismo patógenos y sustancias químicas perjudiciales para la salud se denomina potable, y la contaminada con desperdicios domésticos o industriales agua no potable o contaminada.

La OMS indica que la calidad del agua potable es una cuestión que preocupa en países de todo el mundo, en desarrollo y desarrollados, por su repercusión en la salud de la población. Los agentes infecciosos, los productos químicos tóxicos, y la contaminación radiológica son factores de riesgo.

La OMS, establece unas directrices para la calidad del agua potable que son el punto de referencia internacional para el establecimiento de estándares y seguridad del agua potable. Las últimas directrices publicadas por la OMS son las acordadas en Génova, 2011.

Muchos constituyentes microbiológicos y químicos en el agua potable pueden causar una salud humana adversa. La detección de estos constituyentes tanto en agua cruda como en agua entregada a los consumidores suele ser lenta, compleja, y costosa, lo que limita la capacidad de detección temprana, accesibilidad y factibilidad (OMS, 2011).

Las dos características clave en la elección de los peligros para los cuales la determinación de un estándar es deseable por razones de salud son los impactos sobre la salud (gravedad) asociados con la sustancia y la probabilidad de ocurrencia significativa (exposición). Combinados, estos elementos determinan el riesgo asociado con un peligro particular (OMS, 2011).

➤ **Métodos para la evaluación de la calidad de agua**

Para determinar la correcta tecnología de tratamiento, los contaminantes específicos en el agua deben ser identificados y medidos. Los contaminantes del agua se pueden dividir en dos grupos: contaminantes disueltos y sólidos suspendidos (Lenntech, S.F.).

Las evaluaciones o análisis de agua se emplean para analizar la calidad de la misma y así poder detectar presencia o en su defecto ausencia de condiciones que indiquen que una fuente de agua no es apta para el consumo. (Lenntech, S.F.).

Existen muchas características (físicas y químicas) que permiten valorar la calidad del agua sin embargo se pueden destacar algunas como:

- **pH:** expresa el grado de acidez o alcalinidad de una solución. En el caso del agua potable, el pH debe ser neutro, es decir debe estar entre un rango de 7.2 y 7.4. Para poder determinar el pH existe equipo para poder medirlo (pHmetro), o bien tiras de medición con virajes colorimétricos (Buelta y Martínez, S.F.).
- **Turbidez:** aspecto nebuloso del agua debido a partículas en suspensión. Para poder medir la turbidez se hace uso de tubos de turbidez llamados nefelómetro (Buelta y Martínez, S.F.).
- **Dureza de Agua:** bajo dureza de agua se entiende como la concentración de iones de calcio y magnesio. El contenido de las mismas sales determina las propiedades del agua. La dureza de agua se puede determinar mediante volumetría con técnicas de titulación (Buelta y Martínez, S.F.).



- **Pruebas Bacteriológicas de Contaminación:** éste tipo de pruebas se basan en la búsqueda de bacterias que se consideran indicadores de contaminación fecal. Suelen detectarse fácilmente y no se desarrollan en aguas puras. Los procedimientos actuales de análisis de agua se basan en que la mayoría de los microorganismos patógenos alcanzan causas como resultado de la contaminación fecal. Por lo que detectarla a bajos niveles es la mejor garantía para preservar la calidad del agua
- **Coliformes:** tienen mucha importancia a la hora de valorar la calidad del agua (Buelta y Martínez, S.F.). Grupo de microorganismos que se encuentran comúnmente en el suelo, aguas sobre la superficie, en las plantas; también están presentes en el intestino de animales y humanos. Son bacterias que contaminan el agua y por lo mismo son utilizadas como indicadores en pruebas de agua porque su presencia señala que organismos que pueden causar enfermedades (patógenos) también pueden estar en el agua (División de Salud Pública de Carolina del Norte, 2009).

#### 1.2.4. Microbiología del agua

La microbiología es el estudio de los microorganismos, un grupo amplio y diverso de organismos microscópicos que existen como células aisladas o asociadas; también incluye el estudio de los virus, que son microscópicos pero no celulares. La microbiología, como se mencionó con anterioridad estudia los microorganismos, especialmente las bacterias, un amplio grupo de células con una enorme importancia básica y aplicada (Madigan, Martinko y Parker, 2004, p. 1).

La variabilidad microbiológica de las aguas naturales abarca numerosos organismos e incluye:

- **Algas:** grupo de microorganismos con metabolismo autótrofo que presentan como pigmento fotosintético primario la clorofila. Son organismos principalmente autótrofos. La fotosíntesis es su principal vía de nutrición.

Habitán en ambientes acuáticos, aunque también es posible encontrarlas en el aire, en el suelo o en el hielo. Son aerobias, y en ambientes con poco oxígeno, muere, flotan, y se descomponen produciendo mal olor (Dreckmann, Senties, y Núñez, 2013).

- **Protozoarios:** los protozoarios son organismos eucariotas predominantemente unicelulares y de tamaño microscópico. Se considera que los protozoarios son los animales más simples y primitivos que se conocen. Suelen encontrarse en ambientes húmedos. Algunos de los parásitos producen enfermedades, otros no. De los miles de protozoarios que existen, solo unos 20 causan enfermedad en el hombre (García, 2004). Frecuentemente en el agua contaminada con heces se encuentran dos protozoarios parásitos con incidencia en salud humana, responsables de epidemias:
  - *Giardia lamblia*: se transmite al hombre a través de agua contaminada con materia fecal. Es el agente causal de giardiasis, una parasitosis de intestino delgado, que puede manifestarse como un síndrome diarreico agudo, crónico o intermitente. Teresa Uribarren (Citado en Monis et al., 2009).
  - *Cryptosporidium*: es un parásito del hombre y animales de tamaño muy pequeño. Pertenecen a un grupo diverso de parásitos que infectan principalmente el intestino. Se caracterizan por la eliminación de ooquistes con la materia fecal. Teresa Uribarren (Citado en Francia et al., 2016). Es un patógeno emergente e importante agente no viral de diarrea en humanos y animales a nivel mundial.
- **Virus:** los virus son seres vivos tan pequeños que solo pueden verse haciendo uso de un microscopio electrónico. Es un organismo procariota y parásito obligado de animales. El 87% de las enfermedades virales transmitidas por el agua son causadas por el virus de la hepatitis (García, 2004).
- **Bacterias:** son organismos unicelulares que pueden vivir libres o bien agruparse. Su tamaño suele variar entre 0.2 y 3 micras de diámetro. Las

bacterias viven en todo tipo de medios, en el agua, en la tierra, y en los seres vivos. Más del 80% de las bacterias pueden aislarse del agua (Oceano, 2002).

- Enterobacterias: la familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son microorganismos con forma de bastón, por lo general de 1 – 3 µm de largo y 0.5 µm de diámetro. Su presencia en agua está asociada a contaminación fecal. Este grupo de bacterias habita naturalmente el intestino de los animales. Generalmente se identifican por su capacidad para fermentar glucosa a ácido con producción de gas o sin ella. *Escherichia coli* es el microorganismo más prevalente de esta familia. Es unas de las bacterias prototípicas sometidas a estudio. La mayor parte de ellas fermentan la lactosa y son capaces de producir indol a partir de triptófano (Puerta y Mateos, 2010).

#### 1.2.5. Calidad microbiológica del agua

La OMS, y el Estado de Guatemala a través de la Comisión Guatemalteca de Normas, establecen parámetros y requisitos mínimos de calidad para el agua de consumo humano. En general, la normativa establece que el agua es apta bacteriológicamente para consumo si se encuentra exenta de microorganismos patógenos de origen entérico y parasitario intestinal. Ellos transmiten enfermedades tales como salmonelosis (*Salmonella*), shigelosis (*Shigella*), cólera (*Vibrio cholerae*), amebiasis (*Entamoeba histolytica*), alteraciones gastrointestinales (*Aeromonas* mesófilas, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*); giardiasis (*Giardia lamblia*), criptosporidiosis (*Cryptosporidium*), esquistosomiasis (*Schistosoma*), desórdenes hepáticos (virus de hepatitis), etc. (Apella y Araujo, S.F.).

La determinación de la calidad bacteriológica reviste gran importancia en el ámbito de la salud pública ya que permite garantizar la inocuidad del agua destinada al consumo evitando así epidemias gastrointestinales.

El mayor riesgo para la salud pública por los microbios en el agua se asocia con el consumo de agua potable contaminada con excrementos humanos y animales, aunque otras fuentes y vías de exposición también pueden ser significativas (OMS, 2011).

Para la calidad microbiana del agua, es probable basar la verificación en el análisis de microorganismos indicadores, siendo el organismo por excelencia *Escherichia coli* o, alternativamente, coliformes termotolerables. La bacteria *Escherichia coli* proporciona evidencia concluyente de contaminación fecal reciente y no debe estar presente en agua potable (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, y Heydrich, 2013).

La vigilancia de patógenos específicos puede incluirse en ocasiones para verificar la calidad y la eficacia de las barreras empleada durante el tratamiento de aguas (OMS, 2011). Los agentes patógenos transmitidos por el agua tienen varias propiedades que los distinguen de otros contaminantes del agua potable:

- Los patógenos pueden causar efectos agudos y crónicos en la salud.
- Algunos patógenos pueden crecer en el medio ambiente.
- Los patógenos son discretos.
- Las concentraciones de patógenos varían en el tiempo.
- La exposición a un patógeno que resulta en una enfermedad depende de la dosis, la invasividad y la virulencia del patógeno, así como el estado inmunitario del individuo.

**Tabla No. 1** Tipo de patógeno transmitido a través de agua potable

Patógeno	Importancia para la Salud <sup>b</sup>	Persistencia Suministros de Agua <sup>c</sup>	Resistencia a Cloro <sup>d</sup>	Infectividad Relativa <sup>e</sup>	Importante Fuente Animal
<b>Bacteria</b>					
<b>Escherichia coli - Patógeno<sup>f</sup></b>	Alto	Moderado	Bajo	Bajo	Sí
<b>E. coli - Enterohemorrágico</b>	Alto	Moderado	Bajo	Alto	Sí

<sup>a</sup> Esta tabla contiene patógenos para los cuales existe evidencia de importancia para la salud relacionada con su presencia en suministros de agua potable.

<sup>b</sup> La importancia para la salud se relaciona con la incidencia y severidad de la enfermedad, incluyendo la asociación con brotes.

<sup>c</sup> Período de detección de la fase infecciosa en agua a 20 °C: Corto hasta 1 semana; Moderado, 1 semana hasta 1 mes; Largo, más de 1 mes.

<sup>d</sup> Cuando la etapa infecciosa se suspende libremente en agua tratada a dosis y tiempos de contacto convencionales y pH entre 7 y 8. Baja significa 99% de inactivación a 20 °C generalmente en <1 min, moderada 1-30 min y alta > 30 min.

<sup>e</sup> De experimentos con voluntarios humanos, de evidencia epidemiológica y de estudios experimentales en animales. Alto significa que las dosis infectivas pueden ser 1-10<sup>2</sup> organismos o partículas, moderadas 10<sup>2</sup>-10<sup>4</sup> Y bajo > 10<sup>4</sup>.

<sup>f</sup> Incluye enteropatógenos, enterotoxigénicos, enteroinvasivos, difusamente adherentes y enteroagregados.

**Fuente:** Organización Mundial de la Salud, 2011.

#### 1.2.6. Análisis microbiológico de agua

Los análisis microbiológicos que se efectúan tratan de evaluar la presencia, ausencia, tipo, y cantidad de microorganismos presentes en una muestra (Resolución 2115, 2007).

La gran variedad de bacterias patógenas que pueden encontrarse en una muestra, así como la complejidad de las técnicas que se deben emplear para el aislamiento, hacen inviable el control rutinario de todos aquellos microorganismos con importancia sanitaria (Paulino, Apella, Pizarro y Blesa, S.F.). Por ello se ha hecho

necesario la elección de ciertos microorganismos indicadores y deben cumplir con los siguientes requisitos:

- Fáciles de aislar, cultivar, e identificar en el laboratorio.
- Relativamente inocuos para el hombre y animales.
- Ser más resistente que los patógenos frente a los agentes desinfectantes.

Las pruebas bacteriológicas se han diseñado para que sean sensibles y específicas para determinar contaminación de origen fecal o presencia de gérmenes de grupo coliforme.

Existen métodos generales que pueden señalar mediante la presencia de bacterias indicadoras de calidad sanitaria la calidad de la misma ya que no es práctico analizar en el agua individualmente cada microorganismo posible (Andueza, 2014). Dentro de las bacterias indicadoras de contaminación en agua están:

- Bacterias aerobias mesófilas
- Pseudomonas
- Coliformes totales: se definen como bacterias en forma de bacilos, aerobios y anaerobios facultativos Gram negativos que fermentan lactosa a temperatura de 35 °C a 37 °C con producción de ácido y gas (CO<sub>2</sub>) en un período de 24 a 48 horas. La prueba más relevante usada para la identificación del grupo coliformes es la hidrólisis de la lactosa. Entre ellas se encuentran *E. coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*. El rompimiento de este disacárido es catalizado por la enzima β-D-galactosidasa. Para la determinación de la β-D-galactosidasa se utilizan medios cromogénicos para coliformes. Un medio cromogénico es adecuado para la incubación, diferenciación o selección de microorganismos usando un sustrato cromogénico que da como resultado un color característico dependiendo del microorganismo. Actualmente, no se recomienda el uso de coliformes totales para la evaluación de la calidad de las aguas debido a que muchos de sus miembros pueden encontrarse de forma natural en aguas, suelos o vegetación (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, y Heydrich, 2013).

- Coliformes Fecales (termotolerantes): se consideran el principal indicador de contaminación fecal del agua de uso doméstico e industrial. Son microorganismos que fermentan la lactosa con producción de gas a 44°C en un período de 24 a 48 horas. Integran el grupo de coliformes totales pero se diferencian de los demás microorganismos que forman parte del mismo grupo ya que son indol positivos (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, y Heydrich, 2013).
  - **Prueba de Indol:** la prueba de indol es un ensayo cualitativo utilizado para diferenciar microorganismos en base a la capacidad de las bacterias para producir indol a partir de triptófano debido a la acción de la enzima Triptofanasa. Esta enzima degrada el triptofano hasta indol y pirúvico, el cual es utilizado como fuente de energía. El indol por el contrario se acumula en el medio y puede ser puesto de manifiesto con el reactivo de Kovacs; dando como resultado un anillo de color rojo – rosa intenso en la parte superior que al ser menos denso que el agua se queda por encima (Britanialab, 2011).

Existe un grupo amplio de enfermedades transmitidas por el consumo de agua contaminada, por lo que es conveniente determinar la potabilidad de la misma desde el punto de vista bacteriológico usando diversas pruebas o análisis dentro de los cuales se pueden mencionar: filtración por membrana, fermentación de tubos múltiples, medios de cultivo en laboratorio, o bien métodos modificados para recuento e identificación de microorganismos patógenos. El análisis cuantitativo de bacterias indicadoras de contaminación en una muestra de agua potable puede realizarse por dos metodologías diferentes:

- Recuento directo de microorganismos cultivables por siembra de la muestra sobre o en un medio de cultivo agarizado (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, y Heydrich, 2013).
- Recuento indirecto (basado en cálculos estadísticos) después de sembrar diluciones seriadas de la muestra en medios de cultivos líquidos específicos. El método consiste en inocular una serie de tubos con diluciones

decimales de la muestra de agua. La producción de gas, formación de ácido o abundante crecimiento en los tubos después de 48 h de incubación a 35 °C constituyen resultados presumiblemente positivos. Todos los tubos con reacción presumiblemente positiva son inmediatamente sometidos a pruebas de confirmación. Al finalizar se determina los números de cultivos “positivos» y negativos” y los resultados se expresan como número más probable (NMP) de microorganismos (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, y Heydrich, 2013).

➤ **Bacterias indicadoras de contaminación**

Las condiciones bacteriológicas del agua son fundamentales desde el punto de vista sanitario. La norma bacteriológica de calidad establece que el agua debe estar exenta de patógenos de origen entérico y parasitario intestinal que son los responsables de transmitir enfermedades como salmonelosis, shigelosis, amebiasis, etc. (Apella y Araujo, S.F.).

Los microorganismos indicadores de contaminación deben cumplir los siguientes requisitos: fáciles de aislar y crecer en el laboratorio; ser relativamente inocuos para el hombre y animales; y presencia cualitativa y cuantitativa en agua relacionada. Tres tipos de bacterias califican a tal fin:

- Coliformes: la presencia de este grupo de bacterias indican que el agua puede estar contaminada con patógenos y malas condiciones de higiene. De igual manera indican posible presencia de *E. coli* y por ende evidencia contaminación fecal. Las bacterias coliformes habitan en el tracto intestinal de mamíferos y aves, y se caracterizan por su capacidad de fermentar lactosa a 35 °C. Los géneros que componen este grupo son *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Edwardsiella*. Todas pueden existir independientemente o como microorganismos intestinales, excepto el género *Escherichia* cuyo origen es sólo fecal. Esto ha llevado a distinguir entre coliformes totales (grupo que incluye a todos los coliformes de cualquier origen) y coliformes fecales (término que designa a los coliformes de origen



exclusivamente intestinal) con capacidad de fermentar lactosa también a 44.5 °C. La existencia de una contaminación microbiológica de origen fecal se restringe a la presencia de coliformes fecales, mientras que la presencia de coliformes totales que se desarrollan a 35 °C, sólo indica existencia de contaminación, sin asegurar su origen (Apella y Araujo, S.F.).

- Aerobias Mesófilas: determinan efectividad del tratamiento de aguas. La gran sensibilidad de las bacterias aerobias mesófilas a los agentes de cloración, las ubica como indicadoras de la eficacia del tratamiento de potabilización del agua.
- Pseudomonas: señalan deterioro en la calidad del agua o contaminación. Este grupo está constituido por bacilos aerobios móviles, algunos producen pigmentos solubles en agua. Las infecciones por pseudomonas son producidas por varios tipos de la bacteria gramnegativa Pseudomonas, especialmente el tipo *pseudomonas aeruginosa*. Están presentes en el suelo y el agua en todo el planeta. Estas bacterias crecen en áreas húmedas, tales como fregaderos, lavabos, piscinas inadecuadamente cloradas y jacuzzis, y en soluciones antisépticas caducadas o inactivadas. Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* varían desde infecciones externas leves hasta enfermedades graves potencialmente mortales (Bush y Schmidt, S.F.).

Desde el punto de vista bacteriológico, para poder indicar que una fuente de agua es potable, se debe investigar bacterias aerobias mesófilas y, coliformes totales y fecales.

➤ **Escherichia coli como indicador de contaminación en agua potable**

La contaminación microbiológica se relaciona con la presencia de microorganismos patógenos de heces humanas y animales. Es importante conocer el tipo, número y desarrollo de las bacterias en el agua para prevenir o impedir enfermedades de origen hídrico. El agua tratada o sin tratar que circula

por un sistema de distribución no debe de contener microorganismo alguno que pueda ser de origen fecal (OMS, 2011).

Es difícil detectar en una muestra organismos patógenos como bacterias protozoarios y virus debido a sus bajas concentraciones. Estudios recientes de investigaciones como los realizados por la Organización mundial de la Salud (OMS), y la Organización de las Naciones Unidas (ONU), junto a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), han demostrado que existe un indicador específico para determinar que un agua está contaminada. Dicho indicador es la bacteria *Escherichia Coli*, la cual posee y requiere de nutrientes específicos que otras bacterias no pueden usar. Basado en dicho descubrimiento, se han desarrollado una nueva generación de análisis para detectar *E. coli*.

*Escherichia coli*, normalmente está presente en el intestino humano y de animales de sangre caliente, donde generalmente no causa daño. Es utilizada como indicador de contaminación fecal de aguas ya que es la única bacteria que se encuentra estrictamente ligada a las heces fecales de origen humano y de animales de sangre caliente (OMS, 2016).

Como se mencionó con anterioridad la mayoría de cepas de dicho microorganismo son inofensivas. Sin embargo algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina shiga, pueden causar grandes enfermedades; puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C, con una temperatura óptima de 37°C. Dicha bacteria puede ser destruida al ser sometida a calor alcanzando una temperatura de 70 °C o más (OMS, 2016).

La presencia de gérmenes del grupo coliforme ha de considerarse como un indicio de contaminación fecal más o menos reciente; debe considerarse como indicio seguro de contaminación fecal reciente y por ende peligrosa.

➤ **Efectos para la salud de agua microbiológicamente no apta**

Es fundamental asegurar que el agua que se usa para consumo tenga una calidad adecuada. Las enfermedades ligadas al consumo de agua contaminada son numerosas; consumir agua potable permite reducir de forma significativa la exposición de las poblaciones a dichas enfermedades y los beneficios en la salud son considerables (Buelta y Martínez, S.F.).

La seguridad que un agua contaminada puede ser causal de enfermedades, ha conducido a la necesidad de controlar rutinariamente la calidad microbiológica de muestras de diversos orígenes. Las enfermedades transmitidas por el agua, se deben al uso del agua contaminada por desechos humanos, animales o químicos. Se estima que estas enfermedades causan 12 millones de muertes por año, 5 millones de ellas por enfermedades diarreicas. (Apella y Araujo, S.F.).

Las comunidades rurales se encuentran en permanente riesgo de contraer enfermedades hídricas porque comúnmente viven sin acceso a agua segura y a servicios de saneamiento. La presencia de bacterias, virus, o protozoarios patógenos, son el riesgo para la salud más común.

La OMS indica que la presencia de microorganismos en agua potable que la hacen no apta para consumo humano son causantes de diversas enfermedades, brotes, o epidemias como:

- Diarreas
- Disentería
- Cólera
- Afecciones gastrointestinales
- Cáncer gástrico
- Infecciones de origen hídrico
- ETAS (Enfermedades Transmitidas por Alimentos)

Cabe destacar que en países en desarrollo, como Guatemala, cuatro quintos de las enfermedades son transmitidas por la contaminación del agua, siendo la diarrea causa principal de muerte infantil. Es una enfermedad común en todo el

mundo y causa 4% de las muertes y 5% de pérdida de salud o incapacidad. En la actualidad 884 millones de personas carecen incluso de un servicio básico de suministro de agua potable, cifra que incluye a 159 millones de personas que dependen de aguas superficiales (OMS, 2017).

La relación agua - salud tiene una gran importancia y fuerte dimensión local, afectando a alrededor de 1.1 billones de personas que carecen de acceso a fuentes de agua potable mejoradas, y unos 2.4 billones de personas con falta de saneamiento adecuado. En todo el mundo, al menos 2000 millones de personas se abastecen de una fuente de agua potable que está contaminada por heces (OMS, 2017).

Entre los síntomas causados por la ingesta de agua contaminada con *E. coli* productora de toxina shiga destacan los calambres abdominales, y la diarrea, que puede progresar en algunos casos a diarrea sanguínea. También se pueden dar episodios de fiebre o vómitos. Se estima que hasta un 10% de los pacientes con infección por *E. coli* productora de toxina Shiga pueden desarrollar síndrome hemolítico urémico (SHU), con una tasa de letalidad de 3%-5%. Globalmente, el SHU es la causa más común de insuficiencia renal aguda en los niños de corta edad (OMS, 2016).

#### 1.2.7. Norma COGUANOR NTG 29001

A partir de la investigación y del trabajo de campo se han fijado normas que establecen límites tolerables para los parámetros físicos, químicos, y bacteriológicos del agua. El estado de Guatemala a través del Acuerdo Ministerial No. 523-2013 da a conocer que por medio del Acuerdo Gubernativo Número 113-2009, se emitió el Reglamento de Normas Sanitarias para la Administración, Construcción, Operación y Mantenimiento de los Servicios de Abastecimiento de Agua para Consumo Humano; el que establece que en la ausencia de la Norma Guatemalteca Obligatoria de especificaciones COGUANOR NGO 29001, 1ª. Revisión; "Agua Potable. Especificaciones", el Ministerio de Salud Pública y

Asistencia Social, debe establecer las especificaciones para la vigilancia y control de la calidad del agua. Que mediante Acuerdo Gubernativo Número 83-2013, se aprobó, entre otras, la norma COGUANOR NTG 29001 “Agua para consumo humano (agua potable). Especificaciones”, por lo que procede emitir el Acuerdo Ministerial de observancia general, que establece el Manual de Especificaciones para la Vigilancia y el Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano, en el marco de las acciones pertinentes para la prevención y control de las enfermedades causadas por microorganismos patógenos, sustancias químicas y toxinas naturales, transmitidas a través del agua.

La norma COGUANOR NTG 29001 trata del agua para consumo humano (agua potable). La misma tiene por objeto fijar los valores de las características que definen la calidad del agua potable.

Según COGUANOR NTG 29001, el cloro es, sin duda, el desinfectante más importante que existe debido a que reúne las ventajas requeridas, además de su fácil empleo y que es menos costoso que la mayoría de productos o agentes desinfectantes. Las normas establecen un Límite máximo aceptable (LMA) y un Límite máximo permisible (LMP). El primero es el valor de la concentración de cualquier característica de calidad de agua, arriba del cual el agua puede ser rechazada por los consumidores, desde un punto de vista sensorial pero sin que represente un daño para la salud. El segundo (LMP) es el valor de la concentración de cualquier característica de calidad del agua, arriba del cual, el agua no es adecuada para el consumo humano (COGUANOR 29001, 2013).

La calidad de agua se ve determinada por sus características que pueden ser:

- Físicas: relativas al comportamiento físico.
- Químicas: relativas a sustancias contenidas en el agua.
- Biológicas: relativas a la presencia de bacterias.

**Tabla No. 2** Características sensoriales. Límite máximo aceptable (LMA) y límite máximo permisible (LMP) que debe tener el agua potable.

Característica	LMA	LMP
Color	5.0 u	35.0 u (1)
Olor	No rechazable	No rechazable
Sabor	No rechazable	No rechazable
Turbiedad	5.0 UNT	15 UNT (2)
Conductividad eléctrica	El agua potable debe tener una conductividad de 100 $\mu\text{S/cm}$ a 750 $\mu\text{S/cm}$ a 25 °C.	
(1) Unidades de color en la escala platino – cobalto.		
(2) Unidades nefelométricas de turbiedad (UNT). Estas siglas deben considerarse en la expresión de los resultados.		

**Fuente:** COGUANOR 29001, (2013)

**Tabla No. 3** Sustancias químicas con sus correspondientes LMA y LMP

Características	LMA	LMP
Cloro residual libre (1)(2)	0.5 mg/l	1.0 mg/L
Cloruro (Cl <sup>-</sup> )	100.000 mg/L	250.000 mg/L
Conductividad	---	< de 1500 $\mu\text{S/cm}$
Dureza Total (CaCO <sub>3</sub> )	100.000 mg/L	500.000 mg/L
Potencial de Hidrógeno (3)	7.0 – 7.5	6.5 – 8.5
Sólidos Totales Disueltos	500.0 mg/L	1000.0 mg/L
Sulfato (SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> )	100.000 mg/L	250.000 mg/L
Temperatura	15.0 °C – 25 °C	34.0 °C
Aluminio (Al)	0.050 mg/L	0.100 mg/L
Calcio (Ca)	75.000 mg/L	150.000 mg/L

**Continúa en la siguiente página...**

Características	LMA	LMP
Cinc (Zn)	3.000 mg/L	70.000 mg/L
Cobre (Cu)	0.050 mg/L	1.500 mg/L
Magnesio (Mg)	50.000 mg/L	100.00 mg/L
<p>(1) El límite máximo aceptable, seguro y deseable de cloro residual libre, en los puntos más alejados del sistema de distribución es de 0.5 mg/L, después de por lo menos 30 minutos de contacto, a un pH menor de 8.0, con el propósito de reducir en un 99% la concentración de <i>Escherichia Coli</i> y ciertos virus.</p> <p>(2) En aquellas ocasiones en que amanecen o prevalezcan brotes de enfermedades de origen hídrico, el residual de cloro puede mantenerse en un límite máximo permisible de 2 mg/l, haciendo caso omiso a los olores y sabores en el agua de consumo. Deben tomarse medidas similares en los casos de interrupción o bajas en la eficiencia de los tratamientos para potabilizar agua.</p> <p>(3) En unidades de pH.</p>		

**Fuente:** COGUANOR 29001, (2013)

**Tabla No. 4** Relación de sustancias inorgánicas con significado para la salud, con sus respectivos límites máximos permisibles (LMP)

Substancia	LMP, en miligramos por litro
Arsénico (AS)	0.010
Bario (Ba)	0.700
Boro (B)	0.300
Cadmio (Cd)	0.003
Cianuro (CN <sup>-</sup> )	0.070
Cromo (Cr)	0.050
Mercurio	0.001
Plomo	0.010
Selenio	0.010

**Fuente:** COGUANOR 29001, (2013)

**Tabla No. 5** Substancias no deseadas. Límite máximo aceptable (LMA) y Límite máximo permisible (LMP)

Compuesto	LMA, en miligramos/litro	LMP, miligramos/litro
Fluoruro (F)	---	1.700
Hierro total (Fe)	0.100	1.000
Manganeso (Mn)	0.050	0.500
Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	---	10
Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	---	1

Fuente: COGUANOR 29001, (2013)

**Tabla No. 6** Valores guía para verificación de la calidad microbiológica del agua

Microorganismos	Límite Máximo Permissible
<b>Agua para consumo directo</b> Coliformes Totales y <i>E. coli</i>	No deben ser detectables en 100 mL de agua
<b>Agua tratada que entra al sistema de distribución</b> Coliformes Totales y <i>E. coli</i>	No deben ser detectables en 100 mL de agua
<b>Agua tratada en el sistema de distribución</b> Coliformes Totales y <i>E. coli</i>	No deben ser detectables en 100 mL de agua

Fuente: COGUANOR 29001, (2013)

### 1.2.8. Muestreo

La validez de todo examen bacteriológico se apoya en una apropiada toma de muestra (con un recipiente estéril de boca ancha y metodología precisa), y en las adecuadas condiciones de transporte desde el lugar de la fuente de agua hacia el laboratorio (refrigeración, tiempo) (Apella y Araujo, S.F.).



La obtención de muestras constituye el primer eslabón del proceso de muestreo y por ende es el que condiciona las etapas siguientes del análisis hasta llegar al resultado. Debido a la carencia o falta de normas con respecto al muestreo, se emplean protocolos de diversas procedencias siguiendo el criterio y los principios de química analítica (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2002).

La cantidad de muestra que se debe recolectar tiene que ser suficiente para que se pueda efectuar los análisis correspondientes. Se debe resaltar la importancia del tipo y tamaño de los contenedores, instrucciones de rotulado (identificación), condiciones de embalaje y transporte; además de transmitir los conocimientos de identificación a los encargados de llevar a cabo los muestreos (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2002).

La toma de muestras debe respetar la composición microbiológica de la misma. La recolección, preservación y envío de muestras es fundamental, y por ende, la misma debe ser analizada inmediatamente o al cabo de un corto período entre extracción y análisis para evitar la degradación de la muestra (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2002).

En todo momento se debe preservar la integridad de las muestras por lo que se debe considerar dos factores de suma importancia:

- Recipiente de transporte: recipientes en los que se transporta las muestras. Uno primario en el que se vierte la muestra directamente, y uno secundario en el que se transporta los recipientes primarios (Ministerio de Salud, 2002).
- Temperatura de transporte: la muestra se debe almacenar en refrigeración hasta efectuar el análisis (Ministerio de Salud, 2002).

Dentro de las técnicas de muestreo se pueden resaltar ciertos procedimientos para la toma de muestra como:

- En caso de recoger la muestra de un grifo se debe secar y dejar abierto por un minuto antes de recoger la muestra (Universidad de Salamanca, S.F.).

➤ **Material de toma de muestra**

La selección de los envases para el muestreo de agua potable y sus fuentes de captación se basa en el parámetro a determinar, el tamaño, forma, y el uso. El material de los envases debe ser inerte, de manera que no produzca alteraciones en la composición de la muestra. Por lo general, los materiales más utilizados son el vidrio neutro y el polietileno de alta densidad. Los recipientes deben ser tratados previo a su uso mediante un correcto lavado, enjuague, y esterilización (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2007). Para la toma de muestra se debe emplear siempre recipientes estériles como: botellas de vidrio (de borosilicato), envases de polietileno no tóxico y resistente a calor, bolsas de plástico herméticas “Whirl – Pak” (estériles). A continuación se muestra uno de los recipientes más comunes y los que se emplearán para la toma de muestras de agua:

**Imagen No. 1** Recolectores de muestra



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

➤ **Toma de muestras de agua**

La toma de muestras de agua para analizar sus parámetros de calidad y así determinar las condiciones del recurso hídrico es de vital importancia para el consumidor y/o usuarios. Dentro de los factores que se deben de considerar a la hora de tomar una muestra están:

- **Llenado de Envases:** tomar en cuenta el volumen de la muestra y el tamaño del recipiente que contendrá la misma. No se debe llenar el

recipiente, siempre se debe dejar un espacio entre la muestra y la tapa del mismo para permitir la agitación de la muestra y la existencia de cámara de aire (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2007).

- **Identificación:** cada muestra debe ser etiquetada e identificada con la debida información relevante como:
  - Lugar en el que se tomó la muestra.
  - Fecha
  - Hora
  - No. De muestra
  - Nombre de persona que toma la muestra
- **Preservar Muestra:** toda muestra debe ser remitida de inmediato al lugar en el cual se llevará a cabo los respectivos análisis. Por lo general, los métodos para preservar una muestra de agua potable y sus fuentes de captación, se limitan a control de pH, adición de compuestos químicos, y refrigeración. La función primordial de preservar una muestra es evitar, o disminuir las reacciones químicas, físicas, o biológicas que se puedan producir durante el transporte y almacenamiento de las muestras en el período transcurrido entre su recolección y análisis (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2007). Los preservantes más utilizados son:
  - Agentes decolorantes como el tiosulfato de sodio.
  - Refrigeración a  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- **Condiciones y Tiempo de Almacenamiento:** lo ideal es minimizar el tiempo transcurrido entre la recolección y el análisis de las muestras. En caso de que el tiempo entre recolección y análisis sea prolongado existe riesgo de que ocurran cambios en la composición original de las muestras dando lugar a resultados erróneos. Se debe resaltar los parámetros de preservación de las muestras. La forma más común de conservar muestras de agua es empleando la refrigeración y la adición de agentes decolorantes (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2007).
  - **Refrigeración:** las muestras que serán sometidas a análisis bacteriológicos deben ser preservadas en refrigeración durante la

recolección, el transporte, y la espera hasta que son analizadas a una temperatura entre 1 °C y 4 °C. Evitando la congelación de las muestras. (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2007).

- **Tiempo Máximo de Almacenamiento:** este tiempo se debe reducir al mínimo posible. El tiempo de preservación se contabiliza desde la toma de muestra hasta la realización del análisis. En el caso de muestras en las que se desea hacer análisis microbiológicos, *E. coli* y coliformes totales específicamente, el tiempo máximo de almacenamiento se estima en 20 horas, sin embargo, en casos calificados por las autoridades competentes, se acepta un máximo de 30 horas bajo condiciones adecuadas de preservación y transporte (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2007).

→**Nota:** dentro de los principales requisitos de envase para muestras de agua en las que se desea analizar parámetros bacteriológicos (*E. coli* y Coliformes totales), se requiere de un envase de polietileno de alta densidad o de vidrio estéril.

Además, si hay probabilidad que el agua que se desea analizar contenga trazas de cloro, cloraminas, u ozono, es necesario neutralizar el efecto bactericida en el momento de muestreo. Para ello antes de la esterilización del recipiente de muestreo se añade tiosulfato de sodio. Si el agua no contiene cloro, la presencia de tiosulfato en pequeñas concentraciones no posee efectos nocivos sobre el contenido bacteriano del agua. Por lo que se añade 0.1 mL de tiosulfato de sodio al 10% por cada 120 mL de muestra de agua sometida a cloración (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2007).

- **Tiosulfato de sodio:** el tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) es un agente reductor moderado, estable al aire. Como se mencionó con anterioridad, si la fuente de agua está clorada es necesario desactivar el cloro. Para ello se adiciona el tiosulfato de sodio, ya que este impide que el cloro actúe sobre los microorganismos (bacterias) mientras la muestra de agua

es analizada, además de asegurar la misma carga microbiológica tanto al momento de tomar la muestra como al momento de efectuar los análisis (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1989, p. 34). Es decir, este funciona como un agente neutralizador de cloro. Este se encuentra presente en los envases en los que se recolecta las muestras en estado sólido, en forma de pastillas incoloras.

➤ **Frecuencia de los análisis**

**OMS:** la frecuencia con la que se llevan a cabo los análisis depende de factores como los recursos económicos o humanos disponibles. La OMS establece los siguientes estándares:

**Tabla No. 7** Frecuencia de análisis según OMS

Menos de 5000 habitantes	1 muestra mensual
De 5000 a 100000 habitantes	1 muestra al mes por cada 5000 habitantes
Más de 100000 habitantes	20 muestras al mes más una muestra mensual por cada 10000 habitantes.

**Fuente:** Organización Mundial de la Salud, 2015

**Acuerdo Ministerial No. 523-2013:**

- **Artículo 15. Vigilancia microbiológica.** La frecuencia con que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social deberá efectuar la vigilancia de los parámetros “coliformes totales” y “Escherichia coli”, en cada uno de los sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano, es la siguiente:
  - a) Para sistemas urbanos que abastezcan a más de cien mil (100,000) habitantes, al menos una vez al día.
  - b) Para los sistemas urbanos que abastezcan a menos de cien mil (100,000) habitantes; debe consultarse la siguiente tabla:

**Tabla No. 8** Frecuencia de análisis vigilancia microbiológica

Habitantes abastecidos	Muestreos por mes		Habitantes abastecidos	Muestreos por mes
1 – 5000	1		50001 - 55000	11
50001 – 10000	2		55001 – 60000	12
10001 – 15000	3		60001 – 65000	13
15001 – 20000	4		65001 – 70000	14
20001 – 25000	5		70001 – 75000	15
25001 – 30000	6		75001 – 80000	16
30001 – 35000	7		80001 – 85000	17
35001 – 40000	8		85001 – 90000	18
40001 – 45000	9		90001 - 95000	19
45001 - 50000	10		95001 - 100000	20

**Fuente:** Acuerdo Ministerial No. 523 – 2013, Guatemala

c) Para los sistemas rurales, al menos una vez por bimestre.

- **Artículo 13. Vigilancia por el programa de análisis mínimo.** La frecuencia con que el Ministerios de Salud Pública y Asistencia Social deberá efectuar la vigilancia por medio de la aplicación del “programa de análisis mínimo” recomendado por la Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR NTG 29001 “Agua para consumo humano (agua potable). Especificaciones”; en cada uno de los sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano, es la siguiente:
  - a) Para sistemas urbanos que abastezcan a más de cien mil (100,000) habitantes, al menos dos veces por mes.

- b) Para los sistemas urbanos que abastezcan menos de cien mil (100,000) habitantes; al menos una vez por año, por cada cinco mil (5,000) habitantes servidos.
- c) Para los sistemas rurales, al menos una vez por año.
- **Artículo 15. Control microbiológico.** La frecuencia con que los prestadores del servicio de abastecimiento de agua para consumo humano deberán efectuar el control de los parámetros “coliformes totales” y “Escherichia coli”, en cada uno de los sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano a su cargo, es la siguiente:
  - a) Para sistemas urbanos que abastezcan a más de veinte mil (20,000) habitantes, al menos una vez al día.
  - b) Para los sistemas urbanos que abastezcan menos de veinte mil (20,000) habitantes; debe consultarse la siguiente tabla:

**Tabla No. 9** Frecuencia de análisis control microbiológico

Habitantes abastecidos	Muestras por semana	Habitantes abastecidos	Muestras por semana
1 – 5000	1	10001 - 15000	3
50001 – 10000	2	15001 – 20000	4

**Fuente:** Acuerdo Ministerial No. 523 – 2013, Guatemala

- c) Para los sistemas rurales, al menos una vez por mes.
- **Artículo 16. Control por el programa de análisis mínimo.** La frecuencia con que los prestadores del servicio de abastecimiento de agua para consumo humano deberán efectuar el control de la calidad del agua, por medio de la aplicación del programa de análisis mínimo” recomendado por la Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR NTG 29001 “Agua para consumo humano (agua potable). Especificaciones”; en cada uno de los sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano a su cargo, es la siguiente:

- a) Para sistemas urbanos que abastezcan a más de veinte mil (20,000) habitantes, al menos una vez por mes.
- b) Para los sistemas urbanos que abastezcan menos de veinte mil (20,000) habitantes; al menos una vez por semestre, por cada cinco mil (5,000) habitantes servidos.
- c) Para los sistemas rurales, al menos una vez por semestre.

#### 1.2.9. Técnica de análisis de *E. coli* empleando test Petrifilm™

Es difícil estudiar el crecimiento de la célula individual, especialmente en los microorganismos, debido a que los métodos analíticos no son lo suficientemente sensibles como para ser aplicados a estructuras tan pequeñas. Es por esto que habitualmente para evaluar el crecimiento se analiza el aumento de la población microbiana, el mismo tiene lugar en forma exponencial (Apella y Araujo, S.F.).

El intervalo de tiempo requerido para que una población se duplique se define como tiempo de generación o tiempo de duplicación. No todas las bacterias tienen el mismo tiempo de generación. Para algunas, como *E. coli*, el tiempo de duplicación es de 20 min. El tiempo de generación depende de los nutrientes y de las condiciones fisicoquímicas del medio. A pesar que las bacterias son capaces de crecer en un amplio rango de condiciones ambientales y utilizar diversos nutrientes, el crecimiento máximo, para una dada especie, se lleva a cabo bajo condiciones óptimas de temperatura (Apella y Araujo, S.F.).

Las Placas Petrifilm™ para el recuento de *E. coli* / Coliformes (Placa Petrifilm™ EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las cepas de *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las cepas de *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con



burbujas de gas atrapado en la Placa Petrifilm™ EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia). Las placas suelen ahorrar tiempo, y generan costes más bajos en comparación con métodos convencionales de análisis microbiano. Las Placas 3M™ Petrifilm™ son métodos reconocidos por la AOAC™ International como Métodos Oficiales de Análisis (OMA). (3M™, S.F.).

Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm™ EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia (3M™, S.F.).

La placa para recuento de *E.coli* y coliformes está compuesta por una lámina de papel con una cuadrícula impresa recubierta de polipropileno conteniendo nutrientes del medio VRBG, el indicador 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-glucurónido (BCIG) y un agente gelificante soluble en agua fría. El área donde se desarrollan los microorganismos está definida por una película intermedia de espuma. Se complementa en la parte superior con otra lámina de polipropileno que contiene gel soluble en agua fría y tricoloruro de trifenil tetrazolio (ó TTC) como indicador (3M™, S.F.).

Las placas cuentan con una vida útil de 18 meses a partir de su fecha de manufactura, la cual es vigente mientras las bolsas no se abran y se mantengan refrigeradas. Una vez abiertas las bolsas cuentan con una vida útil de 30 días a temperatura ambiente (3M, S.F.).

#### 1.2.10. Técnica de análisis presencia - ausencia de *E. coli* y coliformes totales empleando el test Readycult®

**Readycult® Coliformes:** coliformes Readycult® 100 es una prueba rápida para la detección simultánea de coliformes totales y *Escherichia coli* en el agua potable. Si en dado caso hay presencia de coliformes en la muestra de agua, sus enzimas  $\beta$ -galactosidasas hidrolizan la X-Gal incolora y el medio de cultivo vira de color amarillo a azul verdoso. Si *E. coli* está presente entre los coliformes, sus enzimas  $\beta$ -glucuronidasas hidrolizan el sustrato MUG (4-metilumbeliferil- $\beta$ -glucurónido)

contenido, produciendo fluorescencia azul, que es visible a la luz UV (366 nm). Esta reacción del MUG no es completamente específica de *E. coli*. Otras pocas especies de bacterias también pueden hidrolizar el MUG (MUG positivas) y se sabe que ciertas cepas de *E. coli* son MUG negativas; por lo que puede realizarse directamente una prueba bioquímica para *E. coli* en la muestra añadiendo el reactivo indol según KOVACS. El reactivo reacciona con el indol y muestra un anillo color rosa intenso (en la superficie) cuando hay *E. coli*, debido a la capacidad de este microorganismo para producir indol a partir del aminoácido triptófano. Un resultado positivo demuestra la presencia de *E. coli* con una certidumbre del 99% y elimina la necesidad de etapas de confirmación añadidas que duran de 24 a 48 horas. (Merck Millipore, S.F.).

Solo se necesita un frasco estéril y el reactivo para confirmar la presencia o ausencia de *E. coli* (reactivo de indol según KOVACS). Los resultados suelen ser rápidos únicamente se debe adicionar la mezcla de ReadyCult® a la muestra de agua directamente desde la cápsula y se debe dejar incubar durante 18 – 24 horas. Pasado el tiempo de incubación se debe proceder a la lectura e interpretación de resultados. El medio detecta con fiabilidad la presencia de *E. coli* mediante cambios de color a un rango de viraje entre azul – verde; la reacción de indol según KOVACS muestra la presencia de *E. coli* (I.C.T, S.L., 2017).

El medio se presenta en un color amarillento y posee un pH entre 6.6 – 7. Está diseñado para el crecimiento y desarrollo de coliformes totales y *E. coli* para posteriormente llevar a cabo la prueba confirmativa con indol. El tiempo de incubación estipulado es de 24 horas a temperaturas entre 35 °C y 37 °C. Mientras que a temperatura ambiente puede aumentar a 48 horas (Merck Millipore, S.F.).

**Tabla No. 10** Evaluación e identificación de E. coli y coliformes totales empelando el Test ReadyCult®

	Viraje de color a verde - azul	Fluorescencia	Reacción de Indol
<b>Coliformes Totales</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b>E. Coli</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)
<b>Negativo</b>	Color amarillo (No hay cambio)		

**Fuente:** Merck Millipore, (S.F.)

#### 1.2.11. Desinfección del agua

La desinfección juega un papel muy importante en el suministro de agua potable. La destrucción de microorganismos patógenos es esencial y es común el uso de agentes químicos como el cloro. La desinfección es una barrera para muchos agentes patógenos (especialmente bacterias) durante el tratamiento de agua potable y debe ser utilizada para aguas superficiales y subterráneas sujetas a contaminación fecal (OMS, 2011).

La desinfección química de un suministro de agua reduce el riesgo de contraer enfermedades, sin embargo, no garantiza la seguridad a la hora de realizar la distribución. Altos niveles de turbidez pueden proteger los microorganismos del efecto de la desinfección, estimular el crecimiento de bacterias, y aumentar los requerimientos de cloro.

Es esencial que se aplique una estrategia general de gestión en la que se utilicen múltiples barreras, incluida la protección de las fuentes de agua y los procesos de tratamientos adecuados, así como la protección durante el almacenamiento y la distribución, junto con la desinfección para prevenir o eliminar la contaminación microbiana (OMS, 2011).

➤ **Tratamiento de aguas**

El tratamiento del agua podría aplicarse en una planta de tratamiento de agua potable (tratamiento central) a sistemas de tuberías, en el hogar, o en el punto de uso en entornos distintos de los suministros por tubería.

Las aguas subterráneas de acuíferos confinados pueden considerarse como de muy alta calidad. Más típicamente, se requiere tratamiento de agua para eliminar o destruir microorganismos patógenos. En muchos casos (por ejemplo, agua superficial de mala calidad), se requieren etapas de tratamiento múltiples, que incluyen, por ejemplo, coagulación, floculación, sedimentación, filtración y desinfección. Generalmente la eficacia del tratamiento para la reducción microbiana difiere entre grupos microbianos como resultado de las propiedades de los microbios (por ejemplo, tamaño, naturaleza de las capas externas protectoras, propiedades fisicoquímicas de la superficie) (OMS, 2011).

➤ **Tratamiento de agua en el hogar**

Las tecnologías de tratamiento de aguas residenciales comprenden una serie de opciones que permiten a individuos y comunidades tratar el agua recolectada o el agua contaminada para eliminar o inactivar patógenos microbianos. Muchos de estos métodos se combinan con el almacenamiento seguro del agua tratada para prevenir o minimizar la contaminación después del tratamiento doméstico (Wright, Gundry & Conroy, 2003).

No todas las tecnologías domésticas de tratamiento de agua son altamente efectivas en la reducción de todas las clases de patógenos transmitidos por el agua (bacterias, virus, protozoos y helmintos). A continuación se enlistan y se detallan diversas tecnologías domésticas de tratamiento del agua para la contaminación microbiana:

- **Desinfección Química:** cualquier tecnología basada en cloro, ozono, oxidantes, y ácidos o bases fuertes; excepto para el ozono; la dosificación adecuada de desinfectantes químicos está destinada a mantener una

concentración residual en el agua para proporcionar cierta protección contra la contaminación posterior al tratamiento durante el almacenamiento. La desinfección del agua potable en los países en desarrollo se hace principalmente con cloro libre, ya sea en forma líquida como ácido hipocloroso (blanqueador doméstico comercial o solución más diluida de hipoclorito sódico entre 0,5% y 1% de hipoclorito comercializado para uso doméstico) o en forma seca como hipoclorito de calcio o dicloroisocianurato sódico. Esto se debe a que estas formas de cloro libre son convenientes, relativamente seguras de manejar, económicas y fáciles de dosificar. La dosificación adecuada del cloro para el tratamiento del agua en el hogar es fundamental para proporcionar suficiente cloro libre para mantener un residuo durante el almacenamiento y el uso. Las recomendaciones son dosificar con cloro libre a aproximadamente 2 mg/L para limpiar agua (<10 unidades de turbidez nefelométrica [NTU]) y dos veces (4 mg/L) a agua turbia (> 10 NTU). Aunque estas dosis de cloro libre pueden dar lugar a residuos de cloro que exceden el residuo de cloro recomendado para el agua que se trata centralmente en el punto de administración, 0.2-0.5 mg/L, estas dosis se consideran adecuadas para el tratamiento del agua doméstica para mantener un residuo libre de cloro de 0.2 mg/L en agua doméstica almacenada tratada por cloración (OMS, 2011).

- **Desinfección Solar:** algunos usan la radiación solar para inactivar los microbios en recipientes oscuros u opacos al confiar en el calor de la energía solar. Otros, como la desinfección solar de agua, utilizan recipientes de plástico transparente penetrados por la radiación UV de la luz solar y dependen de la acción combinada de la radiación UV, la actividad oxidativa asociada con el oxígeno disuelto y el calor (OMS, 2011).
- **Tecnologías Térmicas:** son aquellas cuyo principal mecanismo para la destrucción de microbios en el agua es el calor producido por la quema de combustible. Estos incluyen la ebullición y calentamiento a temperaturas de

pasteurización (típicamente > 63 ° C durante 30 minutos). El procedimiento recomendado para el tratamiento del agua es elevar la temperatura de manera que se logre una ebullición de rodadura, retirar el agua del calor y permitir que se enfríe de forma natural, y luego protegerla de la contaminación posterior al tratamiento durante el almacenamiento. Llevar el agua a punto de ebullición es la manera más simple y eficaz de matar a todos los microorganismo patógenos que causan enfermedades, incluso en aguas turbias. El agua luego de ser calentada debe dejarse enfriar sin la adición de hielo. Si en dado caso el agua a tratar necesita ser clarifica, debe llevarse a cabo el proceso previo a hervir la misma (OMS, 2011).

**Figura No. 2** Métodos de tratamiento en el hogar



Desinfección  
Química (1)



Desinfección  
Solar (2)



Tecnologías  
Térmicas (3)

**Fuente:** (1) Rodríguez, J. (2003); (2) CSA Entransición 2.0 (20112); (3) Omicrono (S.F.).

**Tabla No. 11** Métodos rápidos para la desinfección de agua

Método	Recomendación	Qué Hace?	Qué no hace?
<b>Hervir</b>	Llevar agua a punto de ebullición y dejar enfriar.	Mata a todos los microorganismos patógenos.	No elimina la turbiedad. No deja residuos ni trazas de químicos.
<b>Compuestos Clorados</b> <b>1. Cloro Comercial (Hipoclorito de Sodio)</b> <b>2. Dicloroisocianurato Sódico</b> <b>3. Hipoclorito de Calcio</b>	Para temperatura ambiente típica y temperatura del agua de 25 ° C, el tiempo mínimo de contacto debe ser de 30 min; Aumentar el tiempo de contacto para agua más fría. Para mayor efectividad debe ser agregado posterior a una clarificación. Preparar de acuerdo a las instrucciones. 1. Blanqueador (cloro comercial 5%) 4 gotas por litro. 2. 1 tableta por dosis del paquete. 3. Solución al 1% - 4 gotas por litro.	Efectivo para matar la mayoría de bacterias y virus.  Tiempo de contacto más largo requerido para matar los quistes de Giardia, especialmente cuando el agua está fría.	No es efectivo contra Cryptosporidium.
<b>Tabletas o sobres de Cloro - floclantes</b>	Dosis por indicaciones de paquete.	Eficaces para matar o eliminar la mayoría de los patógenos transmitidos por el agua (los coagulantes - floclantes eliminan parcialmente Cryptosporidium).	El agua floclada debe ser decantada en un recipiente limpio, de preferencia a través de un filtro de tela limpio.

Fuente: OMS, (2011)

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Guatemala es un país que posee abundantes recursos naturales, dentro de los cuales se puede destacar los recursos hídricos. Los mismos no son renovables por lo que no pueden ser cultivados, producidos, o generados. Existe en cantidades fijas.

En diversas comunidades del interior del país existe una deficiencia en la administración de recursos hídricos potables y aptos para el consumo. Por lo general, no se cuenta con fuentes de tratamiento para el vital líquido, causando así muchas enfermedades debido a la calidad de vida que se lleva bajo dichas circunstancias.

Se debe resaltar que cualquiera que sea la fuente de la cual se obtiene el agua, ésta contendrá impurezas y agentes no aptos para el consumidor ya que no hay agua natural totalmente pura. Partiendo de dicha premisa, en las fuentes de aguas se pueden encontrar diversidad de impurezas físicas, químicas y biológicas (microbiológicas).

Es fundamental asegurar que el agua que se usa para consumo tenga una calidad adecuada. Se sabe que las enfermedades ligadas al consumo de agua contaminada son numerosas; consumir agua potable permite reducir de forma significativa la exposición de las poblaciones a dichas enfermedades y los beneficios en la salud son considerables.

La seguridad que un agua contaminada puede ser causal de enfermedades, ha conducido a la necesidad de controlar rutinariamente la calidad microbiológica de muestras de diversos orígenes.

Según la OMS, en países en desarrollo, como Guatemala, cuatro quintos de las enfermedades son transmitidas por el agua, siendo la diarrea causa principal de muerte infantil. Es una enfermedad común en todo el mundo y causa 4% de las muertes y 5% de pérdida de salud o incapacidad. Las comunidades rurales se



encuentran en permanente riesgo de contraer enfermedades hídricas porque comúnmente viven sin acceso a agua segura y a servicios de saneamiento.

En la actualidad, en el municipio de Antigua Guatemala, ubicado en el departamento de Sacatepéquez, Guatemala no existe ni se han desarrollado métodos aplicados para el análisis de la calidad del agua. Específicamente para la evaluación de calidad microbiológica. Por lo que se planteó la siguiente pregunta, ¿Se podrá evaluar la calidad microbiológica de agua implementando un método práctico en el municipio de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala?

Esta pregunta se contestará con la ayuda de las siguientes preguntas complementarias:

- ¿Cuáles serán los puntos susceptibles para evaluar la calidad microbiológica del agua?
- ¿Qué métodos o tecnologías son las más apropiadas que se pueden implementar en el análisis microbiológico del agua para comunidades de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala?
- ¿Se podrá establecer un procedimiento sencillo que las personas en las comunidades puedan aplicar para controlar la calidad del agua que consumen?

## **2.1. Objetivos**

### **2.1.1. Objetivo general**

Evaluar un método práctico para la determinación de la calidad microbiológica del agua distribuida a las comunidades de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala.

### **2.1.2. Objetivos específicos**

1. Identificar puntos susceptibles a evaluar para determinar la calidad microbiológica del agua en el municipio de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala.
2. Recopilar información sobre métodos prácticos (tecnología apropiada) que se pueden emplear en comunidades de Guatemala para la evaluación microbiológica de las fuentes de agua en el sitio como indicador de contaminación.
3. Establecer un procedimiento sencillo que las personas en las comunidades puedan aplicar en el sitio y sin equipo especial de laboratorio para controlar la calidad del agua que consumen.

## **2.2. Hipótesis**

Es posible implementar un método práctico, descriptivo, para el análisis de la calidad microbiológica de agua.

## **2.3. Variables**

A continuación se enlistan las variables que poseen incidencia en el tema desarrollado, de las cuales dependen los resultados:

- Presencia de microorganismos en agua
- Tipo de microorganismos en agua

## **2.4. Definición de Variables**

### **1.4.1. Definición conceptual**

- Presencia de microorganismos en agua: la determinación de microorganismos intestinales normales como indicadores de contaminación fecal, en lugar de patógenos, es un principio de aceptación universal en la vigilancia y evaluación de la seguridad microbiana en los sistemas de abastecimiento de agua. (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, y Heydrich, 2013).
- Tipo de microorganismos en agua: la variabilidad microbiológica de las aguas naturales abarca numerosos organismos e incluye células eucariotas (algas, protozoarios, hongos), células procariotas (bacterias), y virus. (Apella & Araujo, S. F.).

### **1.4.2. Definición operacional**

- Presencia de microorganismos en agua: es una variable cualitativa y a la vez dicotómica o binaria. La identificación de presencia o en su defecto ausencia de microorganismos en agua lleva a una simple respuesta, sí o

no. Es decir, existe o no presencia a de microorganismos en el medio. Se puede determinar empleando pruebas específicas para la verificación con tests presencia – ausencia (OMS, 211).

- Tipo de microorganismos en agua: es una variable cualitativa que a la vez puede ser cuantificada. Se determina mediante la coloración específica que poseen las colonias y se expresa como número de UFC por centímetro cuadrado, o bien por placa. Se determina empleando métodos diseñados para determinar el tipo de microorganismos presentes en el medio (Sanabria & Mercedes, 2001).

## 2.5. Alcances y Límites

### 2.5.1. Alcances

Se desarrolló un método para la evaluación de la calidad microbiológica de agua para proporcionar a comunidades alejadas y en riesgo un procedimiento con el cual puedan determinar la aptitud de agua para consumo ya sea humano o para fines hortícolas.

A partir del método se pueden determinar las condiciones del agua en función de bacterias indicadoras presentes en la misma.

Los resultados de los análisis proporcionan información confiable sobre la presencia – ausencia de microorganismos patógenos que indican si se puede consumir agua o si debe de aplicarse algún tratamiento previo al consumo como: desinfección química, desinfección solar, o bien métodos térmicos.

El trabajo de investigación se desarrolló únicamente en el municipio de Antigua Guatemala, departamento de Sacatepéquez, Guatemala.

### 2.5.2. Límites

Para el desarrollo del método se combinaron dos análisis microbiológicos uno para un Test de presencia – ausencia empleando un caldo de cultivo conocido como ReadyCult®, y un Test para recuento de UFC en Placas Petrifilm™ para *E. coli* de 3M™.

La metodología desarrollada se fundamenta en la identificación de Coliformes totales, y *E. coli*, enfocándose únicamente en análisis microbiológicos como el recuento y pruebas de presencia ausencia. Es decir, el proyecto únicamente analiza la calidad microbiológica de agua con la ayuda de dos pruebas, una de presencia – ausencia, y otra para recuento de microorganismos. Todo ello con el fin de que los

usuarios puedan definir y evaluar las condiciones de las fuentes de agua de las que disponen.

Durante el diseño y desarrollo una limitante fue la disposición de materiales y equipo. La instrumentación, equipo y reactivos se obtuvieron de distribuidores de material y equipo de laboratorio como lo son DILAB, S.A. Guatemala, y PCL, S.A. Guatemala; sin embargo, se puede cambiar al proveedor.

La metodología se desarrolló para el municipio de Antigua Guatemala, departamento de Sacatepéquez, Guatemala. La misma proporciona una alternativa para la evaluación de calidad microbiológica del agua.

## 2.6. Aporte

La elaboración y desarrollo de este trabajo de graduación tiene como fin proporcionar una alternativa funcional y de bajo costo para el análisis microbiológico de aguas a través de kits que pueden ser llamados “Laboratorios Portátiles de Microbiología”. Va dirigido tanto para comunidades rurales como urbanas que por falta de recursos ya sea económicos, de tiempo, de recursos humanos, entre otros tienen la dificultad de evaluar la calidad de agua, o bien no cuentan con las condiciones y metodologías óptimas para llevar a cabo los análisis.

También se propone la metodología a las autoridades del municipio de Antigua Guatemala, departamento de Sacatepéquez, Guatemala como una herramienta para la evaluación de la calidad microbiológica de agua. . De igual manera el documento puede ser considerado para muchas otras comunidades alrededor de la república.

Asimismo brinda un aporte para las siguientes instituciones u organizaciones:

- Municipalidad de Antigua Guatemala.
- COCODES
- Comunidades Rurales y Urbanas
- Empresas

La metodología es económica y técnicamente factible ya que no requiere de grandes inversiones ni de expertos en el tema para poder realizar los análisis microbiológicos del agua. Por lo que con este proyecto se brindará una metodología que se puede difundir y publicar para ser utilizada por comunidades rurales y urbanas.

Como una contribución adicional, se desarrolló un manual sobre la metodología a seguir para efectuar los análisis microbiológicos de agua empleando las pruebas Petrifilm™ y Readycult® junto a un apartado para interpretación de resultados y una evaluación de riesgos.

## III. MÉTODO

### 3.1. Tipo de estudio

El tipo de método de investigación utilizado fue el método descriptivo que, según Del Cid, Méndez y Sandoval (2007) tiene como finalidad definir, clasificar, catalogar o caracterizar el objeto de estudio. Esta metodología se vale de herramientas o instrumentos que la validan como la observación, cuestionarios, entrevistas, entre otros.

El tipo de estudio realizado para el presente trabajo de graduación es un estudio mixto (cualitativo - cuantitativo), descriptivo. El fin del mismo es proporcionar una metodología para el análisis de la calidad microbiológica de agua para comunidades rurales y urbanas de Guatemala.

### 3.2. Instrumentos de validación

Los instrumentos de validación son herramientas que ayuda a determinar la información oportuna de acuerdo a los objetivos de la investigación. Para lograr los resultados esperados se hizo uso de cuestionarios, entrevistas, observación del entorno y las actividades de la comunidad.

#### 3.2.1. Observación

La observación consiste en recibir conocimientos del exterior a través de los sentidos o el registro de información empleando herramientas e instrumentos científicos (Ortiz & García, 2205). Entre las herramientas que se utilizaron para el trabajo de graduación están la observación de fuentes de abastecimiento de agua así como visitas a los lugares involucrados con el trabajo.

#### 3.2.2. Cuestionarios

Los cuestionarios son herramientas que se utilizan para poder recopilar información de utilidad para el investigador; mediante el cual la gente proporciona información



por escrito. Una de las ventajas es que con poco tiempo se puede reunir información de importancia.

### 3.2.3. Entrevista

Es una herramienta con la cual se puede obtener información de forma directa de la persona entrevistada.

### 3.3. **Sujetos y unidades de análisis**

El sujeto de análisis es el agua y la calidad de la misma, que será evaluada con la ayuda de métodos que se basan en la microbiología para la identificación y observación de microorganismos patógenos.

Para la realización de la investigación se recabó información de diversas fuentes o personas involucradas como:

- **Ingeniero Julio Martínez:** ingeniero encargado del departamento de aguas de la municipalidad de Antigua Guatemala.
- **Sr. Hugo Pereira:** jefe de unidad del departamento de calidad del agua del municipio.
- **Usuarios:** personas que utilizan el agua distribuida en el municipio para sus actividades diarias.

Dentro de las unidades de análisis se pueden destacar:

- Directrices para la calidad del Agua Potable, guías de referencia que proporcionan información referente a agua para consumo humano, métodos de desinfección, entre otros (OMS).
- Norma nacional de calidad de Agua Potable, COGUANOR NGO 29001.
- Resultado de análisis microbiológicos: análisis por los cuales se identificó la presencia – ausencia de microorganismos patógenos, y la cantidad de UFC de *E. coli* en una muestra de agua de 100 y 1 mL de agua respectivamente.

### 3.3.1. Normas de Referencia

- COGUANOR NTG 29001: en Guatemala la norma que rige en materia de calidad del agua para consumo humano (Agua Potable) es la norma COGUANOR NTG 29001. La norma trata del agua para consumo humano (agua potable). La misma tiene por objeto fijar los valores de las características que definen la calidad del agua potable.
- Organización Mundial de la Salud: la Organización Mundial de la Salud con el apoyo de profesionales de distintas áreas ha desarrollado directrices con respecto al agua potable. Las misma proporcionan valores de referencia; además describe un marco orientado a garantizar la inocuidad del agua potable y aborda las funciones y responsabilidades de los diferentes interesados, incluidas las funciones complementarias de los órganos nacionales de reglamentación, los proveedores de agua, las comunidades y los organismos de vigilancia independientes
- FAO: la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ha colaborado con la OMS en diversos estudios en relación a la calidad de agua para consumo humano y para uso hortícola. Proporciona lineamientos de importancia con respecto al agua que se usa tanto para consumo humano como para agricultura.
- Manuales, especificaciones y fichas técnicas de las pruebas (Petrifilm™ de 3M™ y Readycult® de Merck) empleadas para el análisis microbiológico de agua.

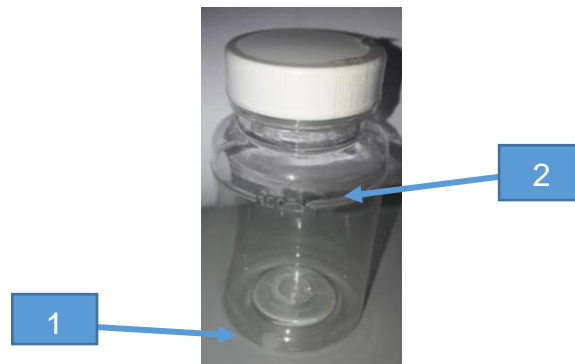
### **3.4. Instrumentos**

El trabajo de graduación fue realizado utilizando recursos propios; debido a esta limitante se buscó el menor de los costos y un fácil acceso al equipo y materiales que se requieren. A continuación se muestra el equipo que se necesita para poder realizar los análisis microbiológicos del agua.

### 3.4.1. Materiales

- **Recolectores de Muestra:** frascos plásticos, estériles, y desechables. Son utilizados para la toma de 100mL de muestras. Cuentan con una medida de volumen que indica la cantidad de muestra que se debe recolectar.
  - Para los análisis se hará uso de frascos; cada uno con 0.1 mL de Tiosulfato de sodio para Test Presencia – Ausencia. Los mismos en presentación individual.

**Imagen No. 2** Recolector de muestra



1 → Pastillas de tiosulfato de sodio

2 → Medida de volumen de muestra (100 mL)

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

- **Pipetas Esterilizadas:** equipo esterilizado que se utiliza para tomar muestras con volúmenes específicos; cuenta con una escala definida. Para el análisis que se realizará se utilizarán pipetas de 1mL desechables.
  - Para los análisis se hará uso de pipetas graduadas de poliestireno de 1 mL, las cuales vienen en empaques individuales esterilizados.

**Imagen No. 3** Pipetas estériles



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

- **Bulbo para Pipeta:** equipo empleado para realizar la succión de líquido a través de las pipetas, ajustable para tomar muestras de 1 hasta 10 mL.

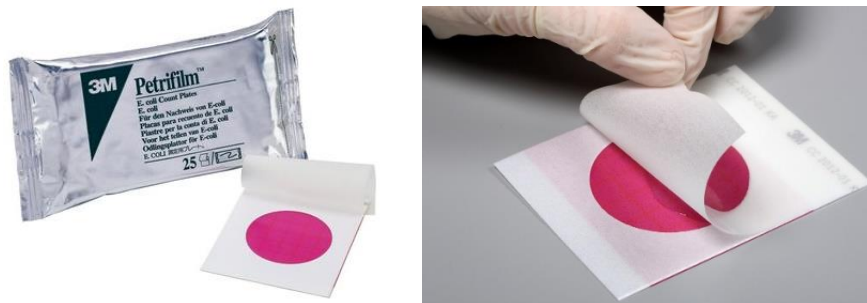
**Imagen No. 4** Bulbo para pipetas



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

- **Petrifilm E. Coli:** son placas que facilitan el recuento de coliformes y de E. Coli en una sola prueba. Ahorran tiempo, aumentan la productividad, e implica menores costos que métodos convencionales de análisis microbiano.
  - Las Placas Petrifilm™ son un producto patentado por 3M™. Se encuentra en presentación de paquete de 25 unidades individuales.

**Imagen No. 5** Placas de Petrifilm®



De izquierda a derecha: Placas de Petrifilm® en presentación de 25 unidades,  
Placa de Petrifilm®.

**Fuente:** 3M™, (2017)

- **Dispersores:** también llamados aplicadores, son discos con los cuales se homogeniza la muestra de agua dentro de las Placas Petrifilm® para distribuir el inóculo por toda la zona circular.

**Imagen No. 6** Kit Petrifilm®



1 → Paquete con 25 placas de Petrifilm® para E. Coli

2 → Placa de Petrifilm®

3 → Dispersor

**Fuente:** 3M™, (2017)

- **Readycult® Coliformes:** es un test de presencia/ausencia para la detección simultánea de coliformes totales y E. Coli en el análisis de aguas. Método aprobado por US-EPA
  - Para los análisis se hará uso de Readycult®. Producto patentado por Merck. Se encuentra en presentación de paquete con 20 unidades. Cada una para llevar a cabo una prueba de 100 mL de agua.

**Imagen No. 7** Empaque individual de Readycult



**Fuente:** Merck, (2017)

- **Reactivo de Kovacs:** reactivo empleado en la prueba de indol (prueba bioquímica realizada en especies bacterianas).
  - Se encuentra en presentación de un frasco con 25 mL de reactivo. El cual debe almacenarse en frío (Temperatura menor o igual a 8 °C) para mantener las propiedades y conservar el reactivo.

**Imagen No. 8** Reactivo de Kovacs



De izquierda a derecha: reactivo de Kovacs, Prueba indol negativa y prueba indol positiva

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

### 3.5. Procedimiento

#### 3.5.1. Muestreo

El muestreo se efectúa directamente de la fuente de agua a evaluar. En este caso, tomas directas de pozos municipales en funcionamiento.

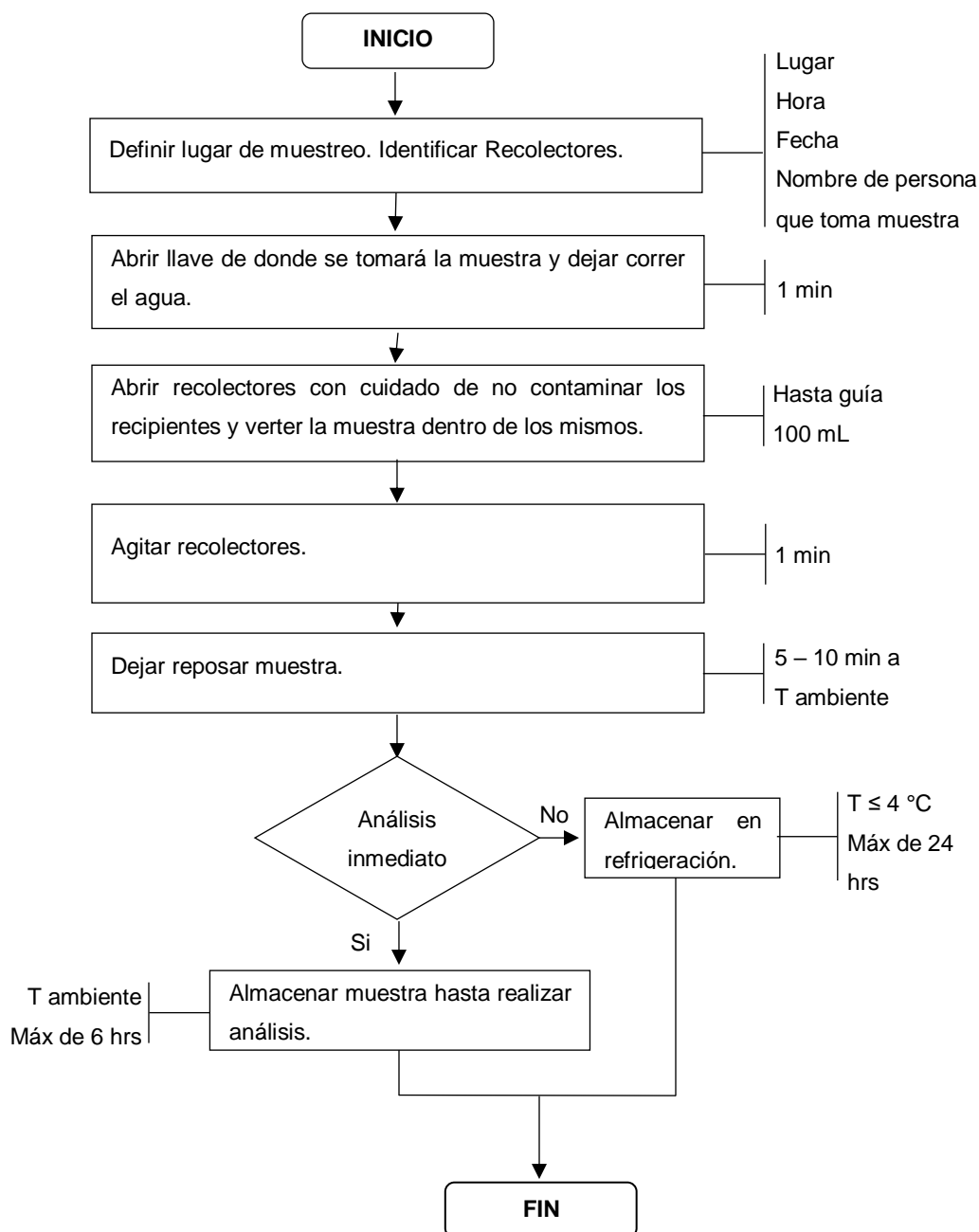
Para el muestreo se debe de seguir los siguientes pasos:

1. Definir el lugar del cual se tomará la muestra.
2. Identificar los recolectores con información como lugar, hora, fecha, e información relevante.
3. Abrir llave de donde se tomará muestra y dejar correr agua por 1 minuto.
4. Llenar los recolectores hasta el volumen indicado en los frascos de 100 mL.
5. Una vez tomada la muestra se debe agitar y esperar entre 15 – 30 min para que el tiosulfato haga efecto.

\*En el caso de que el test no pueda realizarse “in situ”, se recomienda y es conveniente que se inicie el análisis antes de que transcurran seis horas desde la toma de la muestra si se guarda a temperatura ambiente. Sin embargo, se puede almacenar la muestra hasta 24 horas siempre cuando se conserve en refrigeración (Temperatura menor o igual a los cuatros grados centígrados).

➤ **Muestreo**

**Diagrama No. 1** Diagrama para toma de cada muestra



### 3.5.2. Test Petrifilm™

Las placas de Petrifilm ofrecen una solución lista para usar. Para poder realizar el análisis se debe seguir el siguiente procedimiento:

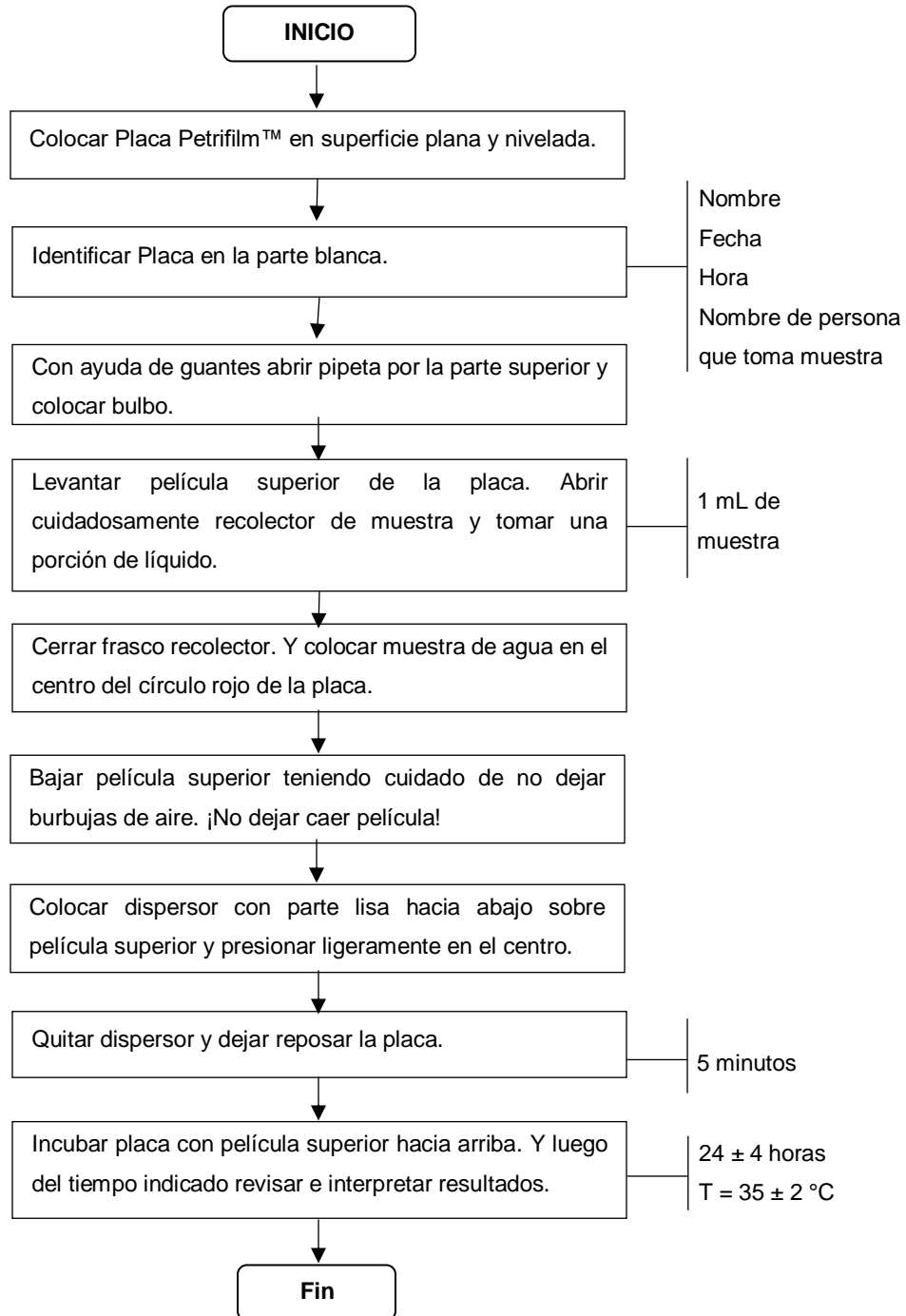
1. Colocar placa de petrifilm (para recuento de *E. Coli*) en una superficie plana y nivelada.
2. Identificar la placa con nombre, fecha, hora, y nombre de persona quien toma muestra.
3. Levantar película superior de la placa de Petrifilm™.
4. Con ayuda de guantes de preferencia, abrir por la parte superior la pipeta estéril, colocarle el bulbo y sacarla del empaque.
5. Abrir frasco de recolección cuidadosamente y tomar una porción de líquido (muestra) equivalente a 1 mL con la ayuda de la pipeta.
6. Tapar frasco teniendo cuidado en todo momento para evitar contaminación de la muestra.
7. Depositar con la ayuda de la pipeta 1 mL de muestra de agua en el centro del círculo rojo de la placa.
8. Bajar película superior con cuidado de no dejar burbujas de aire. (No dejar caer película superior).
9. Colocar dispersor con la parte lisa hacia abajo sobre la película superior.
10. Presionar ligeramente en el centro del dispersor para distribuir la muestra de agua uniformemente dentro del círculo. (No se debe deslizar el dispersor sobre la película).
11. Con cuidado quitar el dispersor.
12. Dejar reposar la placa para que el gel solidifique.
13. Incubar las placas con la película superior hacia arriba a  $35 \pm 2$  °C por  $24 \pm 4$  horas.

**\*\*Observaciones:** en el momento de colocar la muestra de agua en las placas, ésta se debe colocar únicamente en el centro de la placa. Las colonias azules usualmente son visibles en 8 a 12 horas, las colonias crecen a un tamaño más grande y produce burbujas de gas con más tiempo de incubación. Los parámetros ideales de temperatura son de 35 a 44 °C. Más de 44 °C pueden destruir la bacteria previo a que se complete la incubación.



➤ **Test Petrifilm™**

**Diagrama No. 2** Diagrama de proceso para análisis en cada Placa Petrifilm™



**Diagramador:** Sergio Daniel Santizo Morales, (2017)

### 3.5.3. Test Readycult®

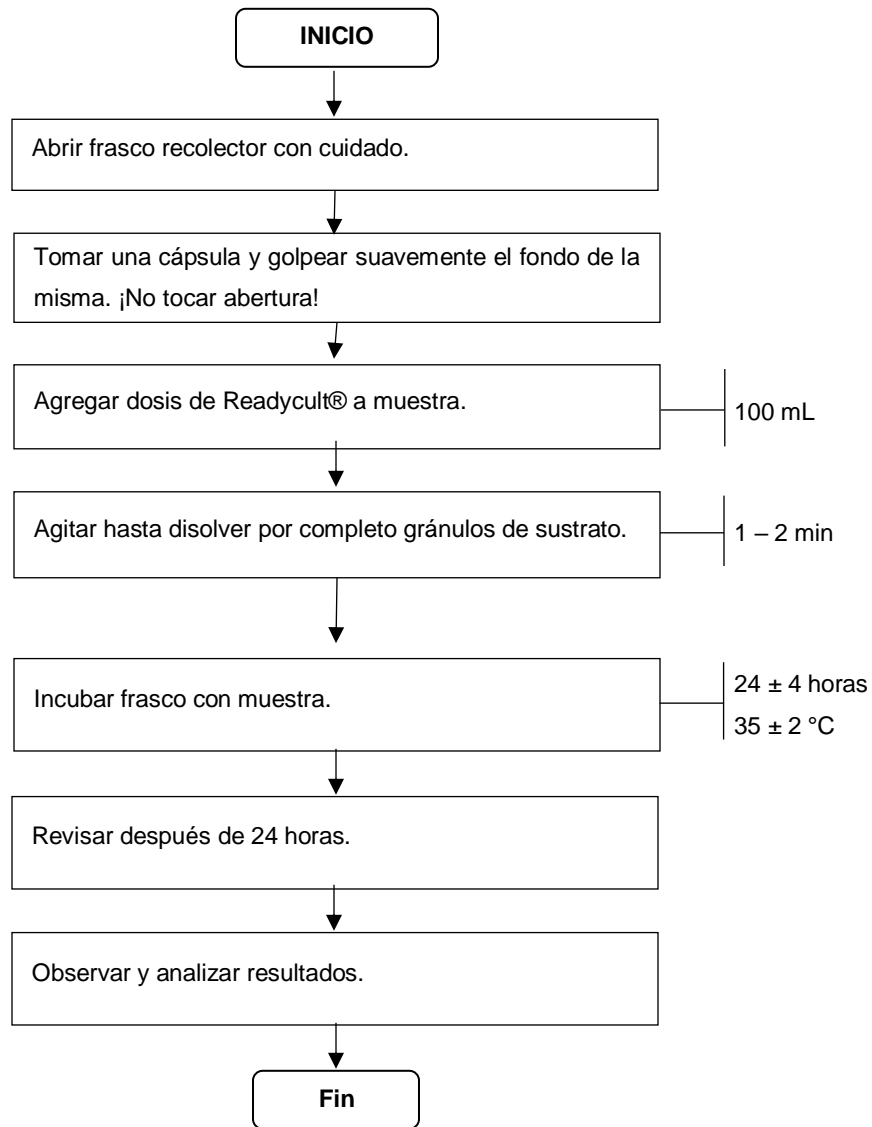
Para realizar el análisis con el medio Readycult® se debe realizar el siguiente procedimiento:

1. Abrir el frasco recolector cuidadosamente para evitar su contaminación.
2. Tomar una cápsula, golpear suavemente para bajar todos los gránulos y doblar la parte superior hasta que se rompa y se abra.
  - i. ¡Para Evitar riesgo de contaminación no tocar la abertura!
3. Agregar una dosis de Readycult® a la muestra de 100 mL de agua.
4. Tapar el frasco teniendo cuidado y evitando en todo momento la contaminación de las muestras.
5. Agitar frasco por varios segundos para disolver por completo los gránulos de sustrato.
6. Incubar frasco:
  - i.  $24 \pm 4$  horas
  - ii.  $35 \pm 37$  °C
7. Revisar después de  $24 \pm 4$  horas.
  - i. Si existe alta contaminación, resultados se observan después de 10 horas de incubación, si la contaminación es menor los resultados se observan después de 18 horas.

**\*\*Observaciones:** los parámetros ideales de temperatura son de 35 a 44 °C. Más de 44 °C pueden destruir la bacteria previo a que se complete la incubación.

➤ **Test Readycult®**

**Diagrama No. 3** Procedimiento para cada análisis en Readycult®



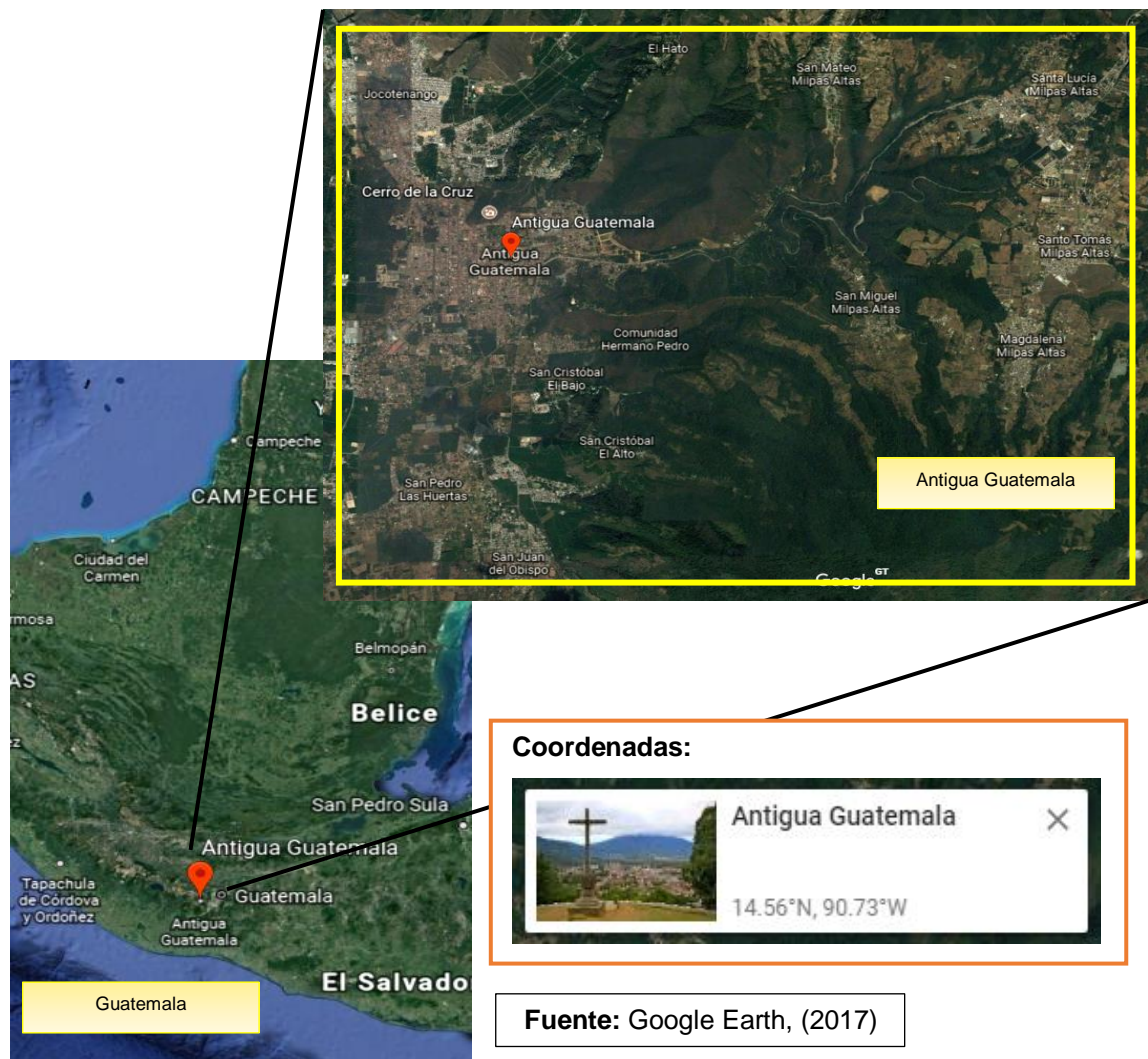
**Diagramador:** Sergio Daniel Santizo Morales, (2017)

### 3.6. Diseño y metodología estadística

#### 3.6.1. Localización

La metodología propuesta se evaluó en el municipio de Antigua Guatemala, ubicado en el departamento de Sacatepéquez, Guatemala como se observa en la Figura No. 3.

**Figura No. 3** Localización del municipio de Antigua Guatemala



### 3.6.2. Cálculo del tamaño muestral

Para poder realizar los análisis microbiológicos se determinó una muestra poblacional, conjunto de elementos representantes al universo total, que permite un estudio viable y creíble. Para el trabajo realizado se tomó una muestra representativa considerando como universo de estudio los *pozos municipales* (pozos en uso y que sirven a los habitantes). Dentro de los pozos considerados en el universo están los 19 que se encuentran en funcionamiento de los 22 que abastecen al municipio.

Conociendo el universo de investigación (población finita) se procede al cálculo de del tamaño de la muestra. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

**Fórmula No. 1** Fórmula para el tamaño de muestra de una población finita conocida.

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{i^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

En donde:

n = tamaño de la muestra

N = tamaño de población

$Z_{\alpha}$  = valor correspondiente a la distribución de gauss según el intervalo de confianza deseado

P = probabilidad de éxito, o proporción esperada

q = probabilidad de fracaso

i = precisión (error máximo admisible en términos de proporción)

Para efectos de la presente evaluación, se definió los siguientes valores: un nivel de confianza del 90% ( $\alpha = 0.10$ ); se espera que el parámetro a evaluar tenga una prevalencia de 0.1 (se estima que la variable evaluada, presencia de *E. coli*, estará en la minoría de muestras analizadas) y se evalúa una mínima probabilidad de que se dé el caso que la muestra analizadas manifiesten presencia del microorganismo;

y finalmente se define un error permitido del 20% debido a los posibles errores de muestreo (humano) o de inferencia.

$$Z_{0.10} = 1.65$$

$$p = 0.1$$

$$q = 0.9$$

$$i = 17\%$$

$$N = 19 \text{ (pozos en funcionamiento)}$$

$$n = \frac{19 * (1.65)^2 * 0.1 * 0.9}{(0.17)^2 * (19 - 1) + 1.65^2 * 0.1 * 0.9}$$

$$n = 6.08$$

$$n \approx 6$$

Se determinó que la cantidad mínima de muestras que se deben analizar para poder hacer inferencias de importancia sobre la población (pozos municipales) es de 6. Conociendo el número de muestra representativo, se utilizó para cada una de las pruebas (Readycult® y Petrifilm™), finalmente se realizaron los análisis respectivos.

### 3.6.3. Criterios de selección puntos de muestreo

Ya que no es posible ni conveniente analizar cada toma de agua del municipio se determinó y seleccionó puntos de muestreos. Para ello se tomó como universo de estudio agua proveniente de pozos municipales que distribuyen agua a varias familias residentes del municipio; los mismos están distribuidos a lo largo de las aldeas de Antigua Guatemala. Se enfatizó en las unidades ubicadas en la zona periurbana. Se debe resaltar que los pozos municipales reciben tratamiento de desinfección mediante la cloración.

#### 3.6.4. Diseño experimental

**Tabla No. 12** Pruebas realizadas para evaluar la metodología propuesta

No. De Prueba	Nombre	Descripción	Tratamiento	Repetición
1	Test Readycult®	Análisis microbiológico de agua con prueba Readycult®. El objetivo es evaluar la presencia o ausencia de <i>E. coli</i> en muestra.	Incubación de 100 mL de muestra de agua a temperatura ambiente. (23 ± 3 °C por 48 horas).	Triplicado de muestra a evaluar.
2	Test Petrifilm™	Análisis microbiológico de agua con prueba Petrifilm™. El objetivo es identificar y cuantificar la presencia o ausencia de <i>E. coli</i> en muestra.	Incubación de 1 mL de muestra de agua temperatura corporal. (34 ± 2 °C por 27 ± 3 horas).	Triplicado de muestra a evaluar

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

#### 3.6.5. Descripción de unidades experimentales

- Test Readycult® se evaluó cambio de color y formación de anillo rosa intenso al adicionar reactivo de Kovacs para identificación de *E. coli*.
- Test Petrifilm™ se evaluó formación de colonias, cambios de color, y formación de burbujas de gas (puntos que se forman en el gel).

#### 3.6.6. Variables de respuesta

Partiendo de las pruebas realizadas se obtuvo resultados para los análisis microbiológicos para cada ensayo. Cada resultado es importante para evaluar las pruebas propuestas por la metodología desarrollada tomando en cuenta las condiciones de cada análisis.

**Tabla No. 13** Variables de respuesta para cada prueba

No. De Prueba	Nombre	Variables de Respuesta
1	Test ReadyCult®	Luego de 48 horas de incubación a $23 \pm 3$ °C se realizó observaciones con respecto a cambios de color de cada prueba (de amarillo a verde-azul) y formación de anillo color rosa intenso al adicionar reactivo de kovacs.
2	Test Petrifilm™	Luego de 24 horas de incubación a $34 \pm 2$ °C se realizó observaciones y conteo de colonias formadas, colonias con cambio de color, y colonias con formación de burbujas de gas.

### 3.6.7. Metodología de análisis

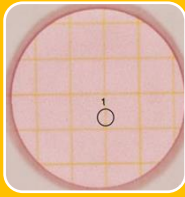
El análisis de resultados obtenidos se orientó a la evaluación de la calidad microbiológica de agua, para lo cual fue necesario identificar presencia o ausencia de microorganismos indicadores de contaminación, específicamente *E. coli*. Se utilizó la misma metodología de análisis para cada prueba realizada.

#### ➤ Prueba Petrifilm™

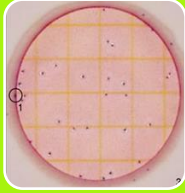
- Puntos de color azul con burbujas de gas → presencia de colonias de *E. Coli*. El agua está contaminada y debe ser tratada antes de consumirse.
- Colonias de color rojo o sin gas → no hay presencia de colonias de *E. Coli*, sin embargo hay presencia de coliformes totales.
- Petrifilm™ de color azul → altas concentraciones de colonias de *E. Coli*.



**Figura No. 4** Interpretación de resultados de placas de petrifilm™

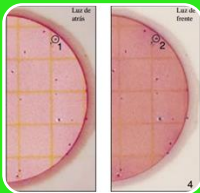


No se observa crecimiento de *E. Coli* ni de coliformes.



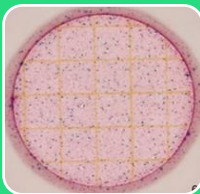
Se observa crecimiento de *E. Coli* y de Coliformes.

- No se toman en cuenta colonias que aparecen sobre la barrera de espuma. Ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo (Colonias como la del punto).



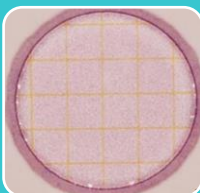
Se observa Presencia de *E. Coli*

- Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. Coli*.



MNPC

- Las placas con colonias que son MNPC (Muy numerosas para contar), tienen una o más de las siguientes características:
  - Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura (Recuento aproximado  $10^6$ ).



MNPC

- Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura (el color se intensifica)
- Recuento aproximado de  $10^8$ .



Organismos No Coliformes

- Cuando un número alto de organismos no coliformes están presentes en las placas, el gel puede volverse amarillo (pseudomonas).

Fuente: 3M™, (S.F.)

- **Método de Recuento:** para efectuar el conteo en placas Petrifilm™ se debe considerar tres casos:
  - Cuando la cantidad de colonias se puede observar a simple vista, el recuento se simplifica enumerando cada colonia.
  - Cuando el conteo se dificulta, se puede hacer una estimación del recuento. Para ello se determina el número de colonias en uno o más de los cuadros (cuadrícula inferior de la placa) representativos y al determinar el promedio por cuadrado se multiplica por el 20, determinando así el conteo estimado por placa.
  - Cuando se observa muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura, el recuento no se puede realizar debido a la elevada cantidad de colonias ( $10^6 - 10^8$ ); por lo que se identifica la placa como Muy Numerosas Para Contar (MNPC).

➤ **Prueba Readycult®**

- **Negativo:** sin cambio de color. El caldo permanece ligeramente amarillo indicando así ausencia de Coliformes y *E. Coli*.
- **Coliformes Totales:** cualquier cambio de color del caldo a azul – verdoso, aunque sea solo en su parte superior, confirma la presencia de coliformes.
- **E. Coli:**
  - Para confirmar la presencia de *E. Coli* en el recipiente (donde hubo cambio de color a verde – azul), añadir de 15 a 20 gotas de reactivo de Kovacs (reacción de Indol). Un anillo color rojo – fucsia confirma la presencia de *E. Coli*.
  - Si no hay cambio de color de la muestra en el frasco, la prueba confirmativa con reactivo de Kovacs no se debe realizar.

**Figura No. 5** Interpretación de resultados Test ReadyCult®



**NEGATIVO**

El caldo permanece claro después de 24 horas de Incubación.



**NEGATIVO**

El caldo se pone turbio después de la incubación, pero permanece ambar.  
 •Posible crecimiento de bacterias no coliformes.



Comparativo Positivo Vrs  
 Negativo



E. Coli / Coliformes  
 •Cualquier cambio de color es considerado como resultado positivo.



Positivo coliformes totales / E. Coli  
 •El caldo se torna de color azul verdoso.



E. Coli Positivo  
 •Indol Positiva

Fuente: PCL Guatemala, S.A., (2017)

➤ **Análisis de resultados en agua para consumo humano**

Los resultados pueden proporcionar una evaluación del riesgo para la salud por el uso de las fuentes de agua que están contaminadas y pueden producir alguna alteración en la salud humana.

Los datos se pueden correlacionar con los establecidos por las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para agua potable que:

- ➔ Establece como valor guía ausencia de *E. Coli* en 100 mL de agua para considerar como apta para consumo humano.

Cabe destacar que los análisis con Readycult® están validados y aprobados por US EPA, y cumple con las normas COGUANOR 29001 para Agua potable y las normas de la OMS.

**Tabla No. 14** Evaluación del riesgo de fuentes de agua para uso potable

Nivel de Riesgo para la Salud	E. Coli / Muestra	Resultados del Análisis Readycult® (Indol)	Resultados del Análisis de Petrifilm™ (UFC <i>E. coli</i> )
<b>Bajo</b>	< 1 / 100 mL	Negativo (-)	0
<b>Medio</b>	1 – 10 / 100 mL	Positivo (+)	0
<b>Alto</b>	1 – 10 / mL	Positivo (+)	1-10
<b>Muy Alto</b>	> 10 / mL	Positivo (+)	> 10

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

- Se dice que el riesgo de enfermedad es “bajo” cuando no hay crecimiento de colonias azules con burbujas de gas en las Placas de Petrifilm™, y la prueba con reactivo de Kovacs en Readycult® es Negativa.
- El riesgo será “medio” cuando el análisis con Kovacs en Readycult® es positivo pero las placas de Petrifilm™ se mantienen claras (sin aparición de colonias indicadoras de crecimiento de *E. Coli*).

- Si el análisis con Kovacs en Readycult® da positivo y el Petrifilm™ muestra de 1 a 10 colonias indicadoras de *E. Coli* (colonias azules con gas), el riesgo es “alto”.
- Si el análisis con Kovacs en Readycult® es positivo y se observa más de 10 colonias azules con gas en el Petrifilm™ el riesgo es “muy alto”

➤ **Análisis de resultados de agua para agricultura**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que para el riego de hortalizas de consumo en fresco se recomienda una concentración de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) de *E. Coli* menor o igual a 10 / mL. Por otra parte, legislaciones establecen dos valores límite diferentes: para el riego de hortalizas de consumo en fresco en función de si el sistema de riego evita el contacto con las partes comestibles de la planta (< 10 UFC de *E. Coli* / mL) o si el contacto no se evita (< 1 UFC de *E. Coli* / mL). Basándose en los resultados con el Readycult® y el Petrifilm™ se puede realizar una evaluación del riesgo tal y como se muestra a continuación:

**Tabla No. 15** Evaluación del riesgo para la salud de fuentes de agua para riego de hortalizas

Nivel de Riesgo para la Salud	<i>E. Coli</i> / Muestra	Resultados del Análisis Readycult® (Indol)	Resultados del Análisis de Petrifilm (azul & gas)
<b>Muy Bajo</b>	< 1 / 100 mL	Negativo (-)	0
<b>Bajo</b>	1 – 10 / 100 mL	Positivo (+)	0
<b>Medio</b>	1 – 10 / mL	Positivo (+)	1-10
<b>Alto</b>	> 10 / mL	Positivo (+)	> 10

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

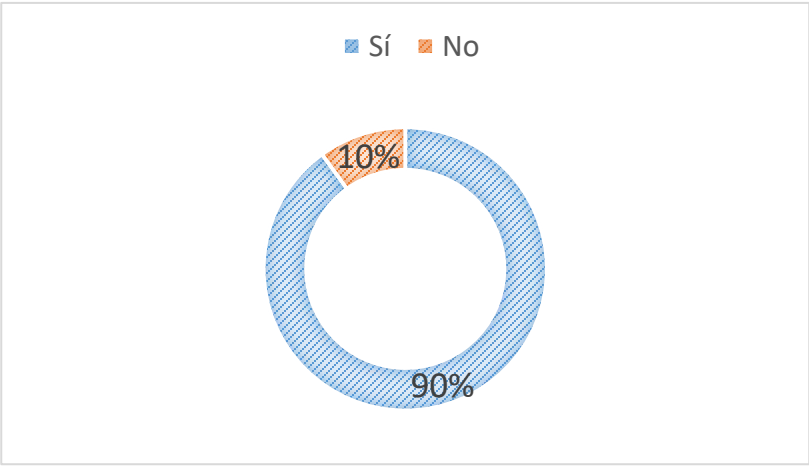
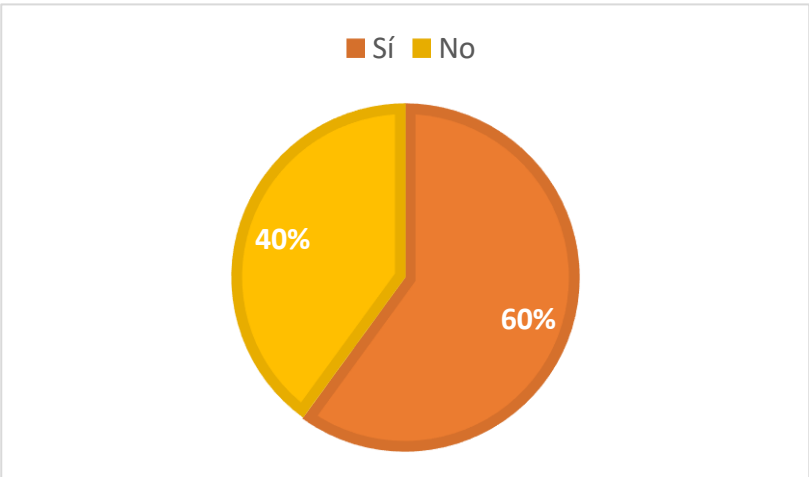
En el caso de que exista un riesgo medio o alto, el agua puede ser utilizada para horticultura solo con la aplicación de medidas que impidan o reduzcan al máximo la presencia de patógenos sobre los cultivos como por ejemplo:

- Técnicas que minimicen el contacto con las partes comestibles de las plantas como el riego por goteo o la hidroponía.
- Desinfección y / o cocinado del producto final.

Si el riesgo es “medio” se sugiere realizar al menos una de las recomendaciones anteriores, y si el riesgo es “alto” se recomienda usar una combinación de dos o más barreras consecutivas antes descritas.

## IV. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla No. 16 Cuestionario No. 1

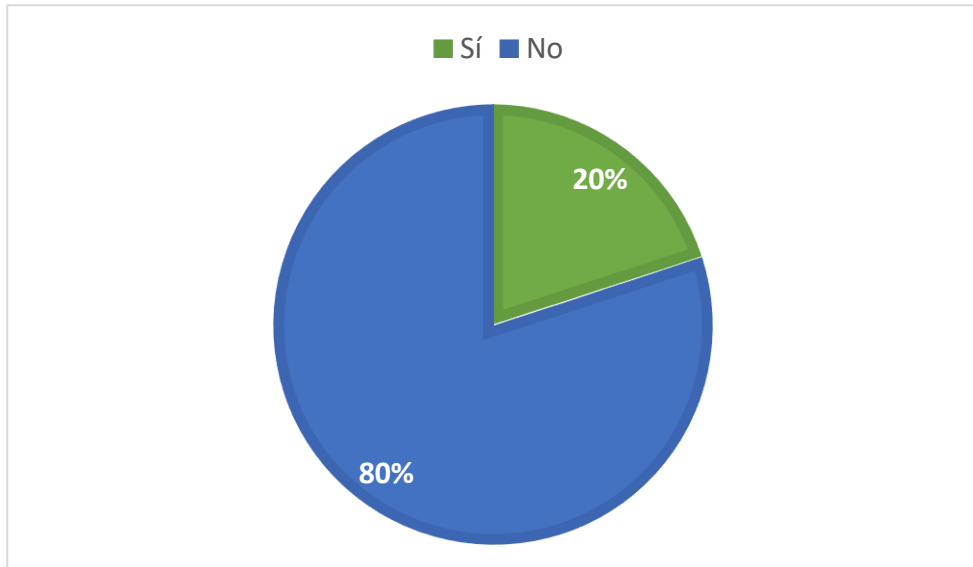
No.	Pregunta						
1	<p>¿Conoce usted la importancia de consumir agua potable?</p> <p>A esta pregunta la mayoría de encuestados creen que el consumo de agua potable es importante sobre todo por cuestiones relacionadas con la salud.</p> <p><b>Gráfico No. 1</b> Conocimiento de la importancia de consumir agua potable</p>  <p>A donut chart with a legend at the top. The legend shows a blue square for 'Sí' and an orange square for 'No'. The chart is divided into two segments: a large blue segment representing 90% and a smaller orange segment representing 10%.</p> <table border="1"><thead><tr><th>Respuesta</th><th>Porcentaje</th></tr></thead><tbody><tr><td>Sí</td><td>90%</td></tr><tr><td>No</td><td>10%</td></tr></tbody></table>	Respuesta	Porcentaje	Sí	90%	No	10%
Respuesta	Porcentaje						
Sí	90%						
No	10%						
2	<p>¿Cuenta usted con servicio de agua potable en su hogar?</p> <p>La mayoría de encuestados cuentan con el servicio. Sin embargo existen sectores donde la distribución y el servicio son irregulares.</p> <p><b>Gráfico No. 2</b> Servicio de agua potable</p>  <p>A pie chart with a legend at the top. The legend shows an orange square for 'Sí' and a yellow square for 'No'. The chart is divided into two segments: a larger orange segment representing 60% and a smaller yellow segment representing 40%.</p> <table border="1"><thead><tr><th>Respuesta</th><th>Porcentaje</th></tr></thead><tbody><tr><td>Sí</td><td>60%</td></tr><tr><td>No</td><td>40%</td></tr></tbody></table>	Respuesta	Porcentaje	Sí	60%	No	40%
Respuesta	Porcentaje						
Sí	60%						
No	40%						

¿Sabe usted las condiciones del agua que utiliza?

La mayoría de encuestados no conoce las condiciones del agua que utiliza para sus actividades.

**Gráfico No. 3** Condiciones del agua utilizada

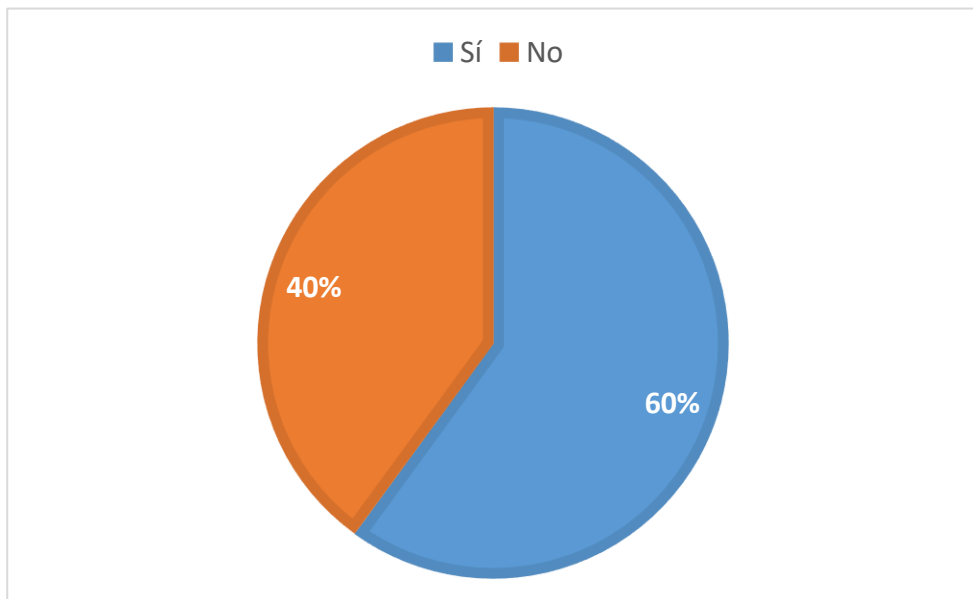
3



¿Hace usted uso de alguna toma de agua comunal?

**Gráfico No. 4** Uso de tomas comunales

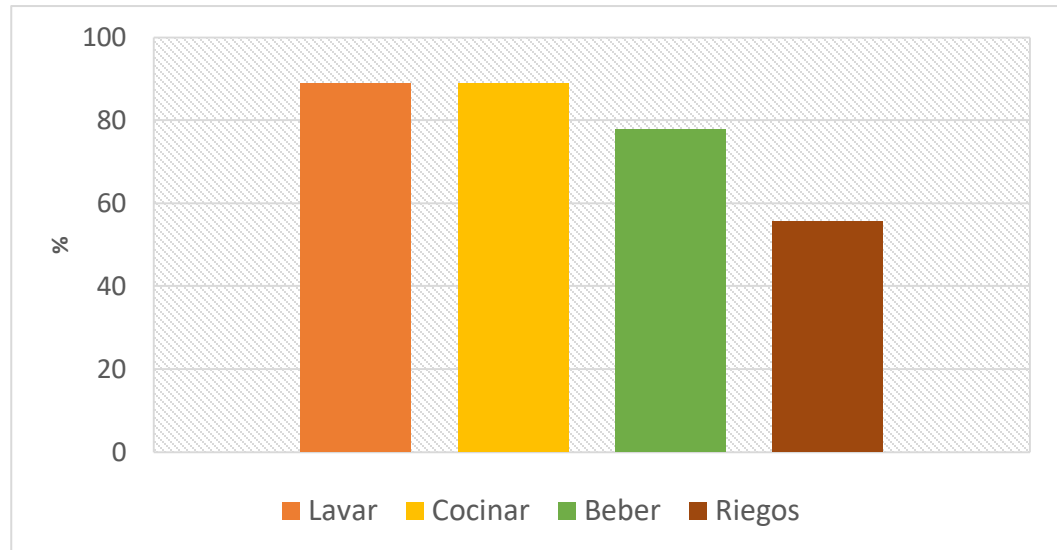
4





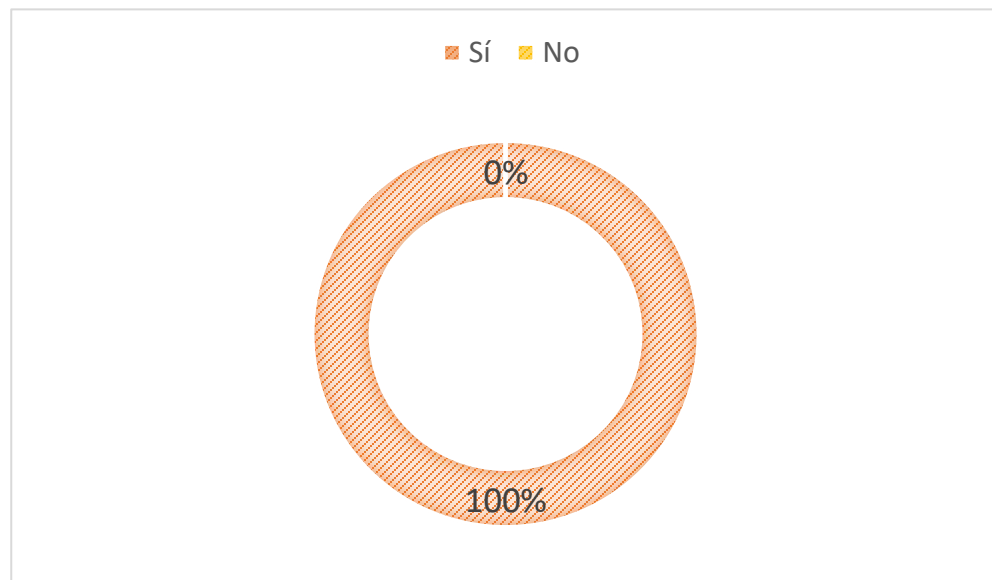
A la vez los encuestados indicaron que usos le dan al agua que obtienen de tomas comunales.

**Gráfico No. 5 Usos de agua**



¿Le interesaría conocer un método fácil para determinar la calidad del agua?

**Gráfico No. 6 Interés del encuestado**



5

**Tabla No. 17** Datos de muestreo

<b>Número de Muestra</b>	<b>Lugar de Muestreo</b>
1.1	Caserío el Guayabal, Aldea San Felipe de Jesús.
1.2	
1.3	
2.1	Aldea San Juan Gascón.
2.2	
2.3	
3.1	Aldea Santa Inés del Monte Pulciano.
3.2	
3.3	
4.1	Aldea San Cristóbal el bajo.
4.2	
4.3	
5.1	Aldea San Pedro las Huertas
5.2	
5.3	
6.1	Cumbre de Aldea San Mateo Milpas Altas.
6.2	
6.3	

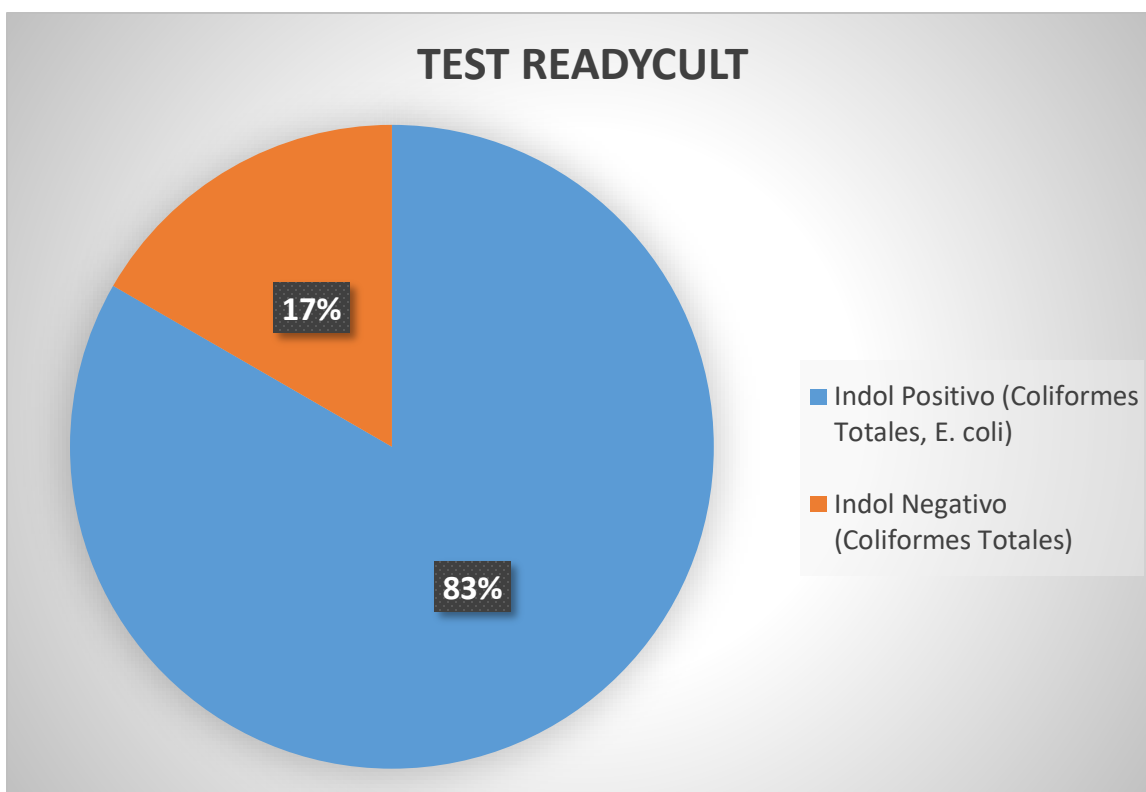
**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Tabla No. 18** Resultados de Test Readycult®

Número de Muestra	Test Readycult®		
	Cambio / viraje de color a verde – azul (Positivo + / Negativo -)	Reacción de Indol (Positivo + / Negativo -)	Microorganismo Identificado
1	Positivo (+)	Positivo (+)	Coliformes Totales ; E. coli
2	Positivo (+)	Positivo (+)	Coliformes Totales ; E. coli
3	Positivo (+)	Positivo (+)	Coliformes Totales ; E. coli
4	Positivo (+)	Negativo (-)	Coliformes Totales ;
5	Positivo (+)	Positivo (+)	Coliformes Totales ; E. coli
6	Positivo (+)	Positivo (+)	Coliformes Totales ; E. coli

Fuente: elaboración propia, (2017)

**Gráfico No. 7** Resultados Test Readycult®



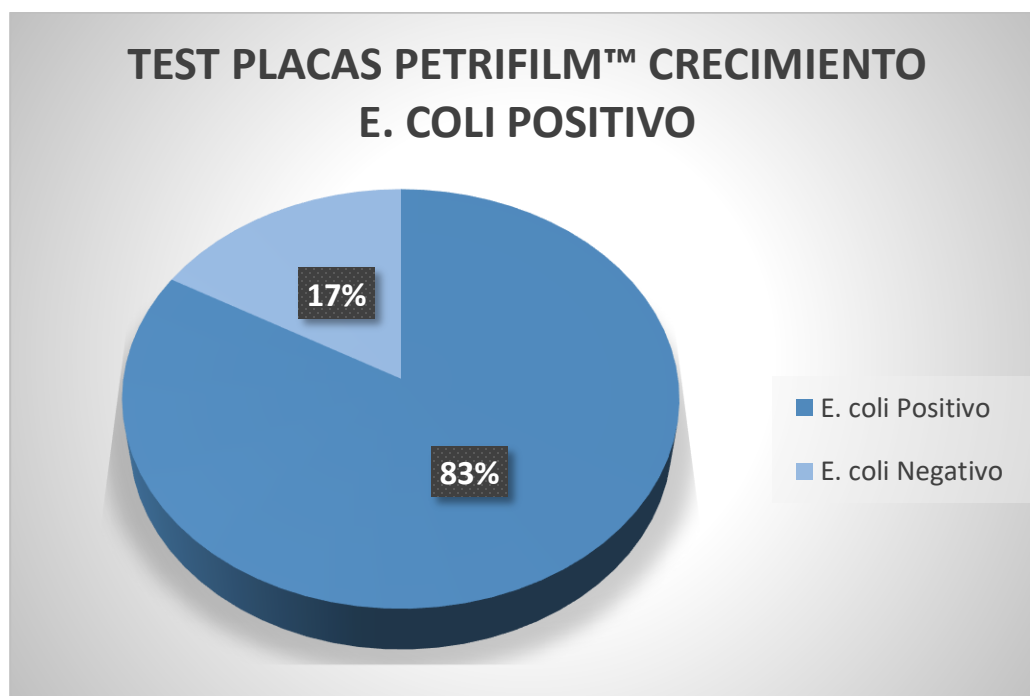
Fuente: elaboración propia, (2017)

**Tabla No. 19** Evaluación e identificación de colonias promedio en Placas Petrifilm™

Test Petrifilm™			
Número de Muestra	Crecimiento de Colonias (Positivo + / Negativo -)	Cantidad de Coliformes (Número UFC Observadas)	Cantidad de UFC con Formación de Burbujas de Gas y / o Coloración azul (# de Colonias <i>E. coli</i> )
1	Positivo (+)	21	10
2	Positivo (+)	5	4
3	Positivo (+)	8	5
4	Negativo (-)	9	0
5	Positivo (+)	12	7
6	Positivo (+)	76	25

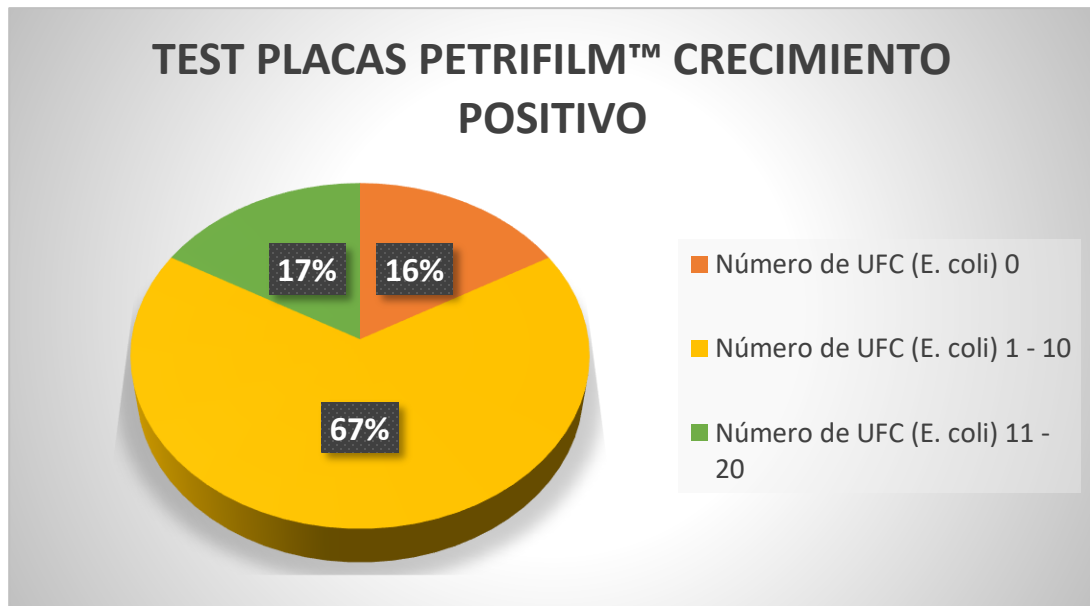
**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Gráfico No. 8** Test Placas Petrifilm™ crecimiento *E. Coli* positivo promedio



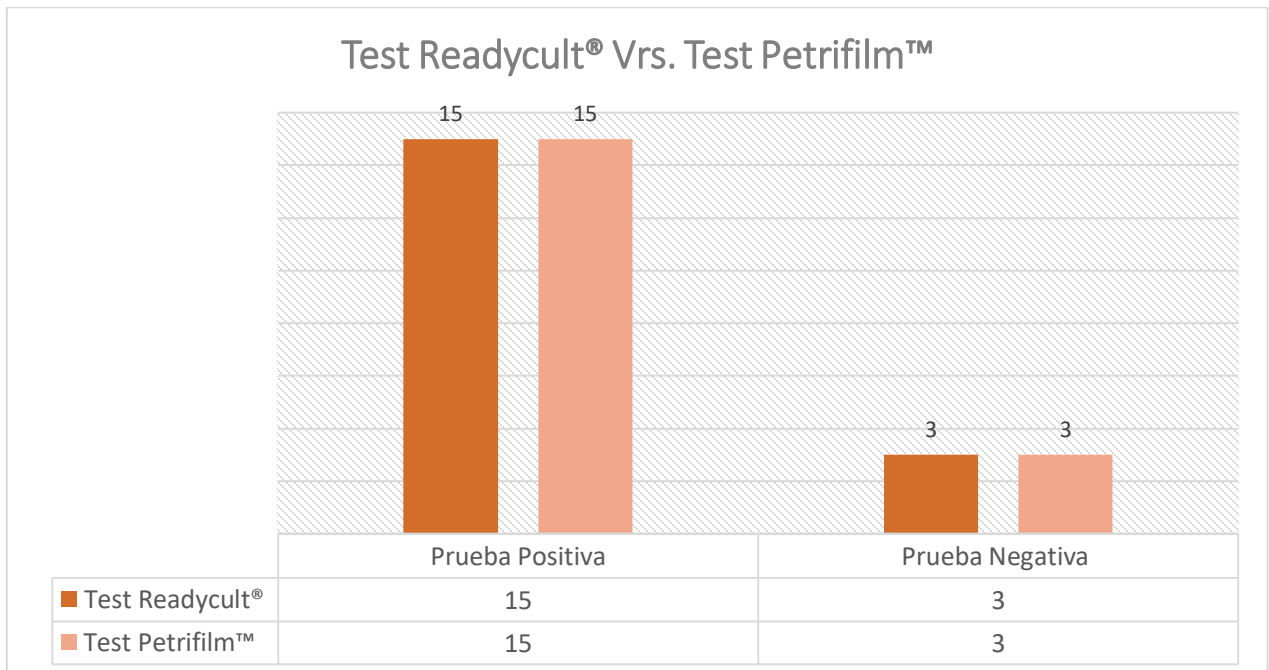
**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Gráfico No. 9** Test Placas Petrifilm™ crecimiento positivo promedio



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Gráfico No. 10** Test Readycult® indol positivo Vrs Test Placa Petrifilm™ *E. coli* positiva (total de pruebas realizadas)



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Tabla No. 20** Resultados de análisis (Readycult® y Petrifilm™)

Número de Muestra	Punto de Muestra	Test Readycult®	Test Placa Petrifilm™
		Negativo (-) / Positivo (+)	Cantidad UFC <i>E. coli</i>
1	Caserío el Guayabal, Aldea San Felipe de Jesús	+	10
2	Aldea San Juan Gascón	+	4
3	Aldea Santa Inés del Monte Pulciano	+	5
4	Aldea San Cristóbal el bajo	-	0
5	Aldea San Pedro las Huertas	+	7
6	Cumbre de Aldea San Mateo Milpas Altas	+	25

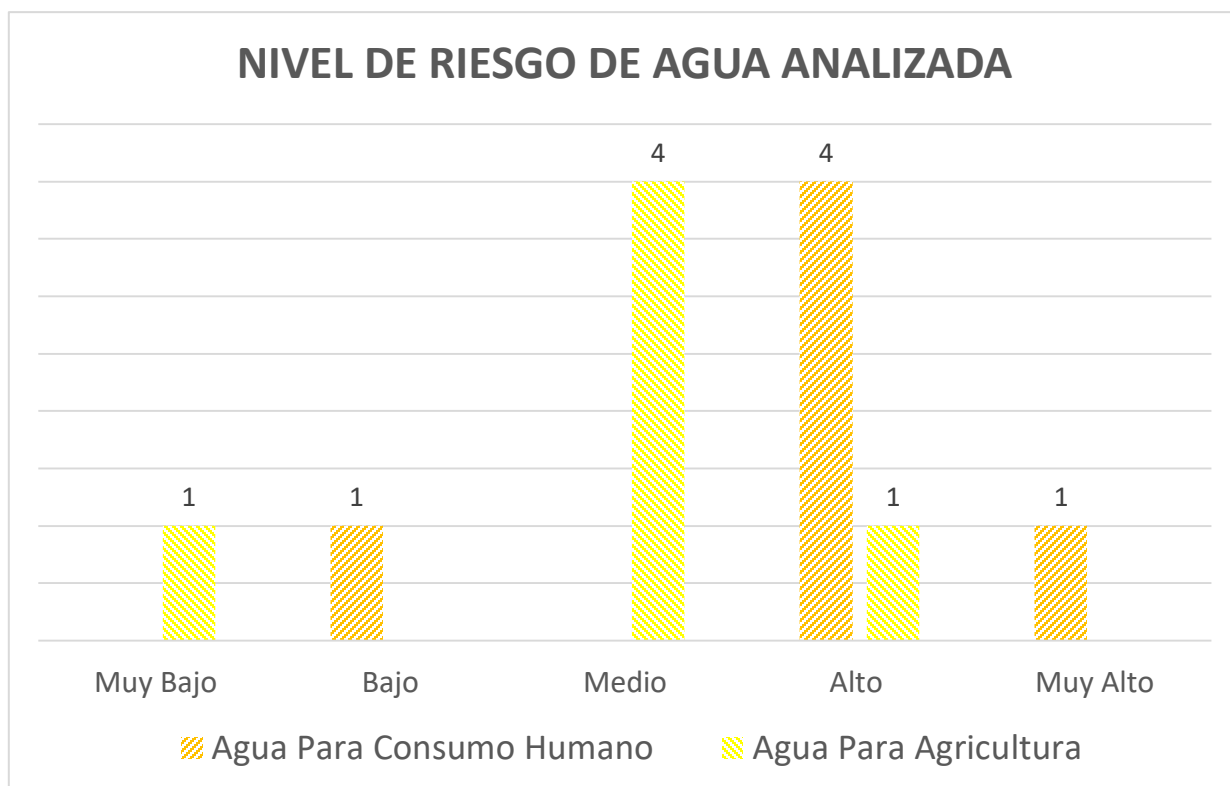
**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Tabla No. 21** Nivel de riesgo de agua analizada según tabla No. 14 y 15 respectivamente

#	Punto de Muestreo	Riesgo de Agua Para Consumo Humano	Riesgo de Agua Para Agricultura
1	Caserío el Guayabal, Aldea San Felipe de Jesús	Alto	Medio
2	Aldea San Juan Gascón	Alto	Medio
3	Aldea Santa Inés del Monte Pulciano	Alto	Medio
4	Aldea San Cristóbal el Bajo	Bajo	Muy Bajo
5	Aldea San Pedro las Huertas	Alto	Medio
6	Cumbre de Aldea San Mateo Milpas Altas	Muy Alto	Alto

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Gráfico No. 11** Análisis de riesgo de agua analizada



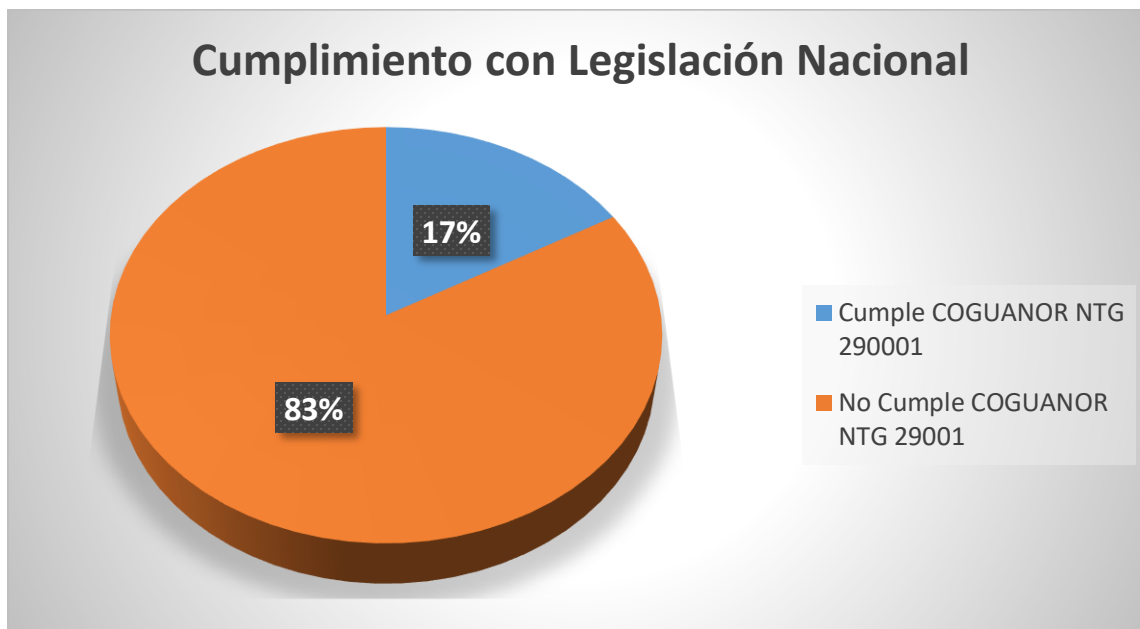
**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Tabla No. 22** Evaluación de resultados según cumplimiento con Acuerdo Ministerial No. 523-2013 (Norma COGUANOR NTG 29001)

#	Punto de Muestreo	COGUANOR NTG 29001
		Cumple / No Cumple
1	Caserío el Guayabal, Aldea San Felipe de Jesús	No Cumple
2	Aldea San Juan Gascón	No Cumple
3	Aldea Santa Inés del Monte Pulciano	No Cumple
4	Aldea San Cristóbal el Bajo	Cumple
5	Aldea San Pedro las Huerta	No Cumple
6	Cumbre de Aldea San Mateo Milpas Altas	No Cumple

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Gráfico No. 12** Evaluación de resultados según cumplimiento con Acuerdo Ministerial No. 523-2013 (Norma COGUANOR NTG 29001)



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

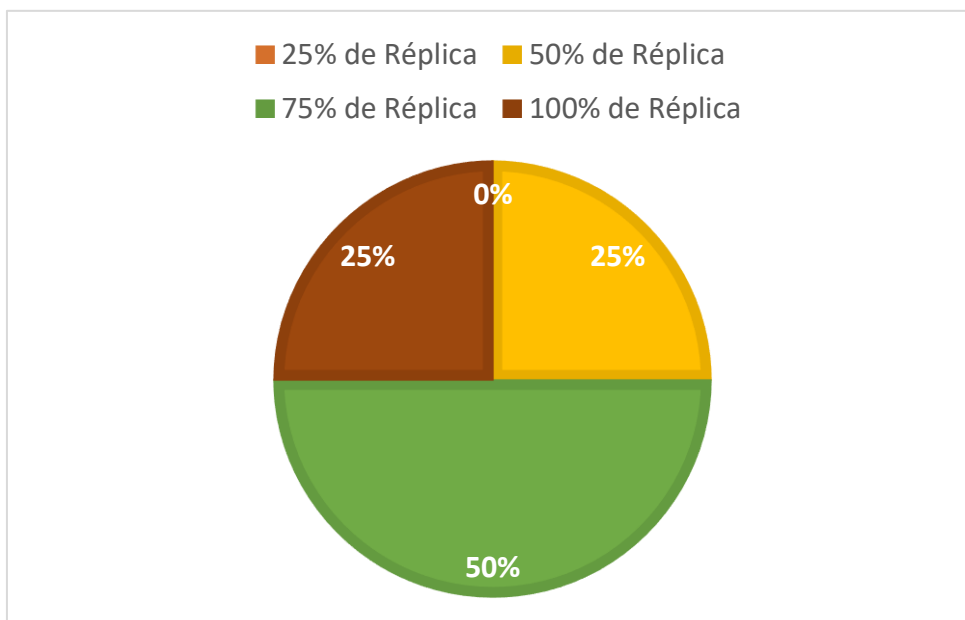
**Tabla No. 23** Cuestionario No. 2

No.	Pregunta										
1	<p data-bbox="329 1209 943 1245">¿Qué le pareció la metodología propuesta?</p> <p data-bbox="329 1304 980 1339"><b>Gráfico No. 13</b> Calificación de la metodología</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Calificación</th> <th>Porcentaje</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mala</td> <td>0%</td> </tr> <tr> <td>Buena</td> <td>50%</td> </tr> <tr> <td>Muy Buena</td> <td>50%</td> </tr> <tr> <td>Excelente</td> <td>0%</td> </tr> </tbody> </table>	Calificación	Porcentaje	Mala	0%	Buena	50%	Muy Buena	50%	Excelente	0%
Calificación	Porcentaje										
Mala	0%										
Buena	50%										
Muy Buena	50%										
Excelente	0%										



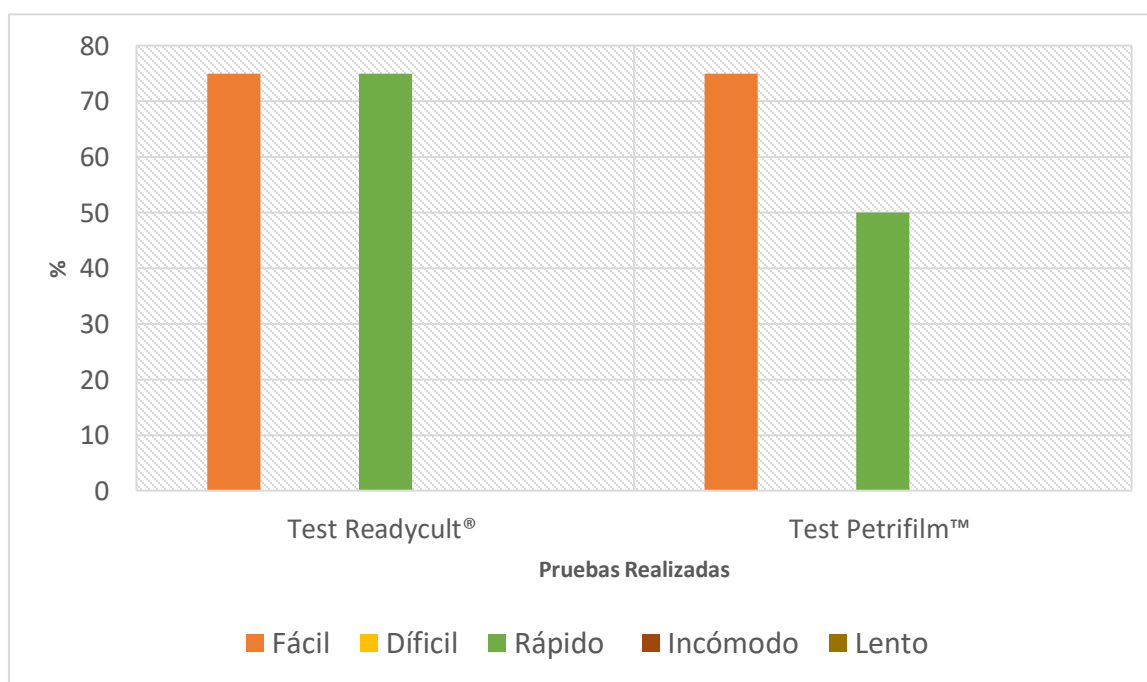
2 ¿En qué porcentaje podría implementar por su cuenta la metodología propuesta?

**Gráfico No. 14** Porcentaje de réplica



3 ¿Con qué características califica las pruebas realizadas?

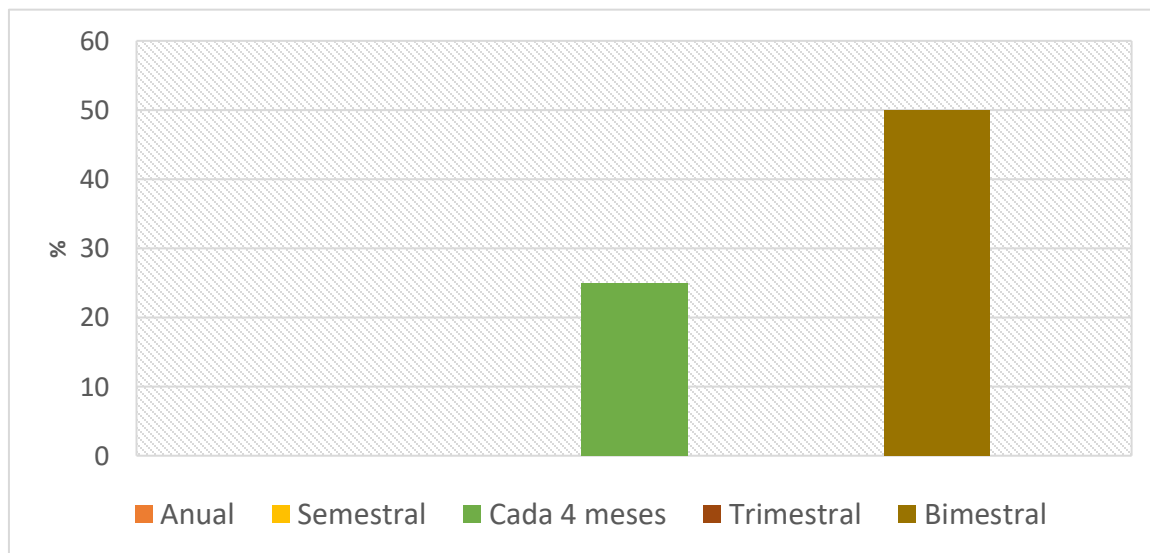
**Gráfico No. 15** Características otorgadas a cada prueba



4 ¿Necesitaría Usted más capacitaciones para poder aplicar a cabalidad la metodología propuesta? ¿Con qué frecuencia?

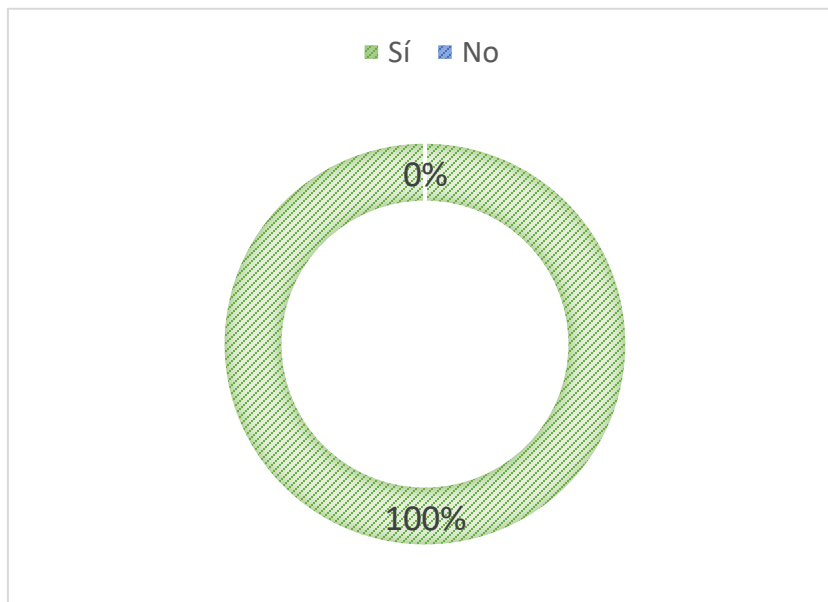
A esta pregunta la mayoría de encuestados (75%) indicaron que sí sería de gran ayuda más capacitaciones. A la vez indicaron la periodicidad con la que les gustaría tal y como se muestra a continuación.

**Gráfico No. 16** Frecuencia de capacitación

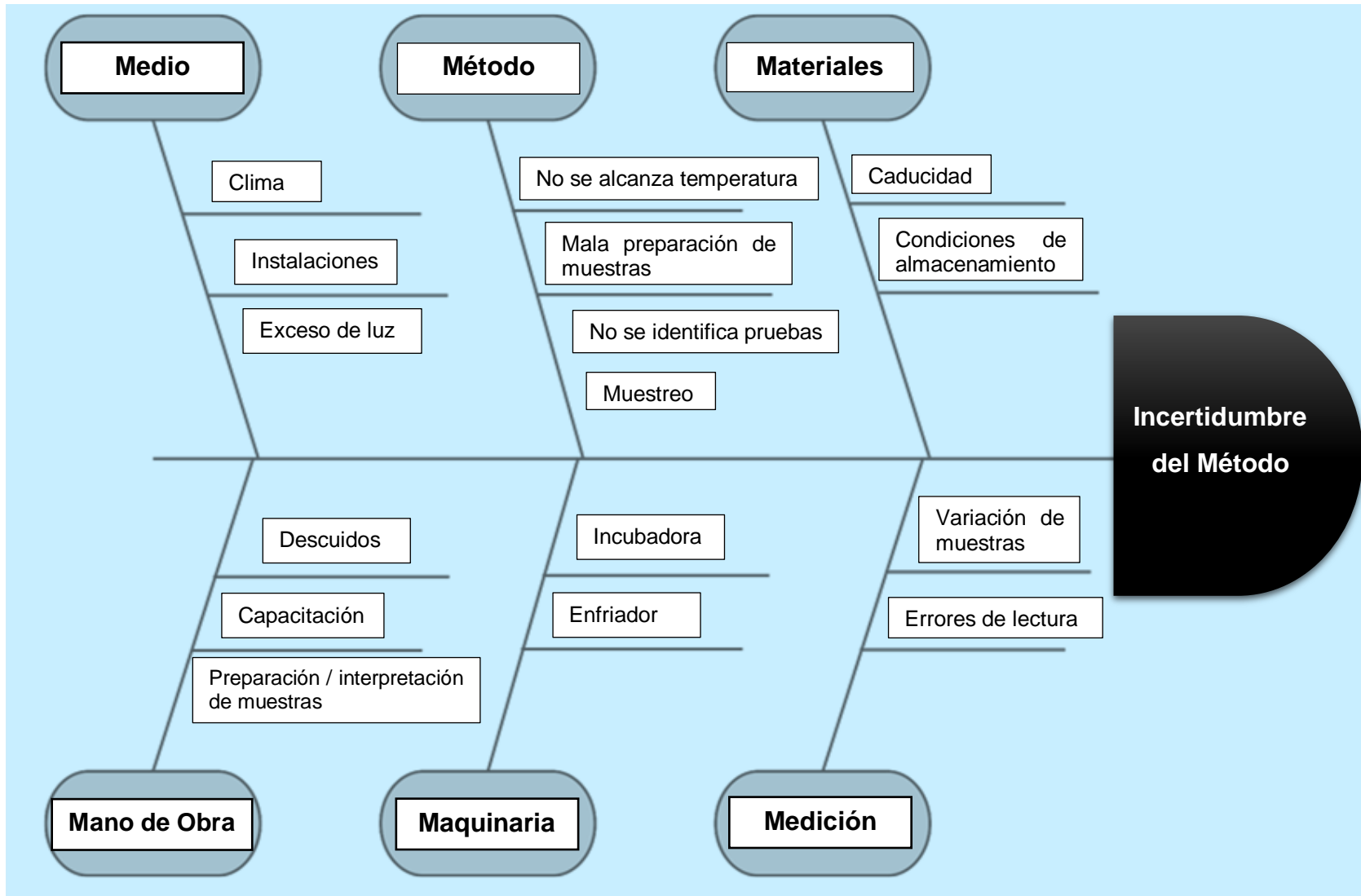


5 ¿Le gustaría conocer más de la metodología propuesta?

**Gráfico No. 17** Interés en el método



**Diagrama No. 4** Diagrama de Ishikawa (causa y efecto) para evaluar posibles causas de incertidumbre en el método



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para desarrollar el método se investigó y analizó tanto métodos como técnicas para el análisis de agua. Llegando a un método que no solo fuese práctico sino que a la vez eficaz y rápido. A través de la exploración y trabajo de campo se desarrolló el método para que comunidades o personas con algunos o pocos recursos pudieran determinar las condiciones del agua que llevan hasta su mesa.

Se planteó dos pruebas en simultáneo, un análisis cualitativo con uno cuantitativo para evaluar el nivel de riesgo que poseen las fuentes de agua analizadas, de acuerdo a la normativa nacional que refiere a la Norma COGUANOR NTG 29001 como parámetros base y a las directrices establecidas por la OMS con respecto al agua potable.

Para el diseño del método se tomó en cuenta factores sumamente relevantes como el acceso a los recursos tanto económicos como humanos. Por lo que se adaptó un método que no usara equipo que necesita mantenimiento o conocimiento previo de microbiología. Es un método sencillo que con la debida capacitación y conocimiento es fácil de realizar.

Con la ayuda de tecnologías apropiadas para el análisis microbiológico de agua se pudo adaptar el método para determinar las condiciones bacteriológicas del agua mediante dos pruebas; una de presencia – ausencia de bacterias indicadoras de contaminación, y otra mediante un recuento de las mismas en agua para consumo humano. Para ello se propone dos pruebas, una con un caldo de cultivo comercializado por Merck, Readycult®, y la otra por 3M™, Placas Petrifilm™. Dichos tests pueden ayudar a evaluar el nivel de riesgo en el que se incurre al emplear agua contaminada con *Escherichia coli*.

A partir de la investigación y desarrollo se pudo establecer el método para el análisis de la calidad microbiológica de agua. El mismo, como se indicó con anterioridad, es sencillo, sin embargo requiere de una inducción y capacitación para conocerlo y poder desarrollarlo de la mejor manera posible.

Como contribución adicional, ajeno al trabajo de graduación, se desarrolló un manual con el cual se pretende dar a conocer la metodología que se utilizó para el análisis microbiológico y proporcionar a las personas una herramienta para la evaluación bacteriológica de agua. El mismo presenta la información básica mínima que se debe conocer para el efectuar los análisis a las muestras de agua como lo son: equipo que se requiere, la preparación de muestras, la interpretación y análisis de resultados, y recomendaciones. Además de presentar métodos rápidos para la desinfección del agua y proveedores con los que se puede adquirir los materiales. (Ver Anexo 6). El manual fue una herramienta fundamental para dar a conocer el método durante las capacitaciones y el desarrollo metodológico.

Para cumplir con el primer objetivo planteado en este trabajo se utilizó herramientas de validación. En este caso específicamente se emplearon cuestionarios y entrevistas con las cuales se obtuvo información relevante para el trabajo realizado.

Inicialmente se programó una reunión con un representante del departamento de aguas de la municipalidad de Antigua Guatemala y se procedió con una serie de interrogaciones con respecto a metodologías empleadas, tipo y frecuencia de análisis realizados al agua, entre otras. Al entrevistar al encargado del departamento de calidad del agua de la municipalidad, se pudo constatar que durante el desarrollo del trabajo la municipalidad contaba con veintidós (22) sistemas de distribución de los cuales 19 se encontraban en funcionamiento. También se verificó que la municipalidad realiza análisis de cloro residual semanal a cada sistema mientras que los análisis microbiológicos se realizan una vez al mes por una entidad ajena a la institución.

De igual manera se pudo notar que la municipalidad no cuenta con herramientas que le ayuden a determinar las características, microbiológicas específicamente, del agua que distribuye, además de los análisis de cloro residual y los análisis realizados mes a mes por una entidad externa.

Con base a la información proporcionada por el encargado de la municipalidad y a su interés en una metodología que pueda ser una herramienta de

gran utilidad no solo para ellos sino que para la comunidad se procedió con el desarrollo del trabajo de graduación.

Como objetivo a corto plazo se implementó y desarrolló el trabajo con un grupo piloto para realizar las pruebas iniciales de la metodología propuesta. Cumpliendo con el primer objetivo, se procedió con la selección e identificación de los puntos susceptibles para el muestreo. Para ello se definieron ciertos parámetros y características para los puntos de muestreo susceptibles. Primero, para homogenizar la muestra se consideró como puntos loables pozos municipales considerados de áreas rurales, o bien periurbanas que abastecen de agua ya sea a un grupo de familias, o bien a pequeñas comunidades para sus actividades diarias como lavar, cocinar, beber, o bien para riego de siembras. Al definir parámetros de selección se descartaron ciertos sistemas y se redujo el tamaño de la población.

Tomando en cuenta que el encargado del departamento de calidad del agua tiene tiempo de trabajar en el municipio de Antigua Guatemala, se trabajó con su cooperación debido al conocimiento adquirido durante estos años de trabajo con respecto a la distribución de agua en el municipio. Con la ayuda del encargado de calidad del agua y con las características definidas para la selección de puntos de muestreo se procedió a puntualizar las alternativas para luego confirmarlas con ayuda de un cuestionario. Se realizó trabajo de campo, se visitó las distintas aldeas del municipio de Antigua Guatemala seleccionadas como puntos susceptibles y se procedió a seleccionar finalmente los lugares. Siguiendo el tamaño muestral definido en la sección de diseño y metodología estadística y a los principios de un muestreo no probabilístico se utilizó la información recopilada con la ayuda del cuestionario 1 para seleccionar cada muestra independientemente del resto de la población, en función del criterio personal e intencional.

Con la ayuda de información recolectada en el campo (observaciones, preguntas realizadas a los habitantes de cada zona) se determinó que un alto porcentaje (90%) conoce la importancia de consumir agua potable. Otro de los cuestionamientos importantes era si los encuestados contaban con servicio de agua potable a lo que el 40% indicó que carecía de dicha prestación. Sin embargo del

60% que indicó que cuenta con servicio de agua potable, el 100% indicó que el servicio presenta anomalías como suciedad, turbiedad, y servicio cada 4 o 5 días. (Véase Gráfico No. 1, 2, y 3).

Así mismo se pudo determinar que un gran número de personas (60%) hace uso de tomas comunales ya sea debido a la ausencia del servicio de agua potable, o bien por las anomalías que dicho servicio presenta. Con respecto a ese 60% gran parte hace uso del agua para cocinar, beber, y riegos. Por lo que es de importancia conocer las condiciones del agua que se utiliza. Por último se comprobó que el 100% de encuestados están interesados en conocer las condiciones del agua que consumen, y de igual manera están interesados en conocer sobre métodos fáciles para la determinación de la calidad microbiológica del agua.

Del total de los encuestados se determinó que únicamente el 20% conoce las condiciones (calidad) del agua que consume, sin embargo el 100% cree que es de suma importancia el determinar la calidad del agua que utilizan para sus actividades diarias, dicho factor fue fundamental y determinante ya que facilitó el desarrollo e implementación debido al interés de las personas.

Ya con las alternativas de muestreo, y la información proporcionada por la encuesta no. 1 se determinó los puntos más relevantes o susceptibles para el muestreo. Conociendo los lugares definidos para realizar los muestreos, se programó charlas con el grupo para implementar pruebas piloto. Dentro de del grupo se incluyó habitantes del sector así como representantes del departamento de calidad del agua de la municipalidad de Antigua Guatemala debido al interés de los mismos hacia el proyecto.

Con las reuniones se dio a conocer la importancia del consumo de agua potable, y se capacitó a las personas en la metodología; tanto para el muestreo como para la preparación de muestras, incubación, y lectura de resultados. Las capacitaciones contaron de una sesión inductiva donde solo se presentó la metodología desarrollada, y una segunda sesión interactiva en la que los involucrados participaron en el desarrollo de las pruebas. El fin de la primera fase

fue dar a conocer el método como una herramienta para controlar periódicamente la calidad del agua.

Una vez terminada la inducción se procedió a realizar el muestreo (de carácter discrecional) en el que se tomó en cuenta los puntos que se cree son los de mayor susceptibilidad. La información de los lugares de los cuales se tomó las muestras se puede ver en la Tabla No. 17.

Se visitó los lugares seleccionados para el muestro y se procedió al muestreo tomando así muestras de 100 mL de agua para el Test ReadyCult®, y 1 mL para el Test en placas Petrifilm™. Como se mencionó con anterioridad se recaudó las muestras de agua proveniente de pozos municipales, que a la vez obtienen el agua de nacimientos naturales. El agua proveniente de dichos puntos es utilizada por infinidad de familias en el municipio. Cuando se fue a las aldeas para la toma de muestras el camino de ciertos sectores presentó dificultades para el acceso ya que no entra vehículos hasta el punto exacto (muestreo).

De acuerdo a los cálculos del tamaño de muestra se llevó a cabo la toma de 6 muestras, cada una por triplicado para aumentar la confiabilidad de los resultados. Se realizaron seis muestreos en dos partes con los cuales se pudo analizar puntos clave del municipio.

La primera muestra se efectuó en el caserío conocido como el Guayabal ubicado en la Aldea San Felipe de Jesús. Se tomó como punto susceptible ya que aún es considerado como área rural. El tanque que abastece a las familias (aproximadamente 120) tiene un promedio de 7 años de recibir tratamiento (cloración). El agua que llega al tanque viene directamente de nacimientos. La toma de agua se hizo de la caída directa al tanque. Para poder llegar al lugar de muestreo no se puede ingresar vehículos.

El segundo punto de muestreo fue en la Aldea San Juan Gascón. De igual manera la muestra se obtuvo de la caída directa. La muestra de agua recolectada proviene de pozos municipales, y éstos a la vez obtienen el agua de nacimientos. El acceso al punto de muestreo facilitó la toma de la muestra.



El tercer punto de muestreo fue cerca del segundo punto de muestreo, aproximadamente a 1 kilómetro de distancia en la aldea Santa Inés del Monte Pulciano. La muestra se captó de una de las caídas directas (de los manantiales) que llega al pozo municipal. El camino hacia el punto de muestreo es accesible, sin embargo la toma de la muestra se dificultó debido a la ubicación de la caída de agua. En el sector, vecinos afirmaron que algunas familias que viven cerca del sector no cuentan con el servicio de abastecimiento de agua potable por lo que acuden al tanque para abastecerse de agua.

La cuarta muestra fue captada de la caída directa (del nacimiento) de agua proveniente de pozos municipales. La muestra fue tomada en el sector aun considerado como rural de la aldea San Cristóbal el Bajo. Para llegar a dicho punto se debe realizar una caminata aproximada de 15 minutos. El punto cuenta con un acceso difícil ya que al lugar no entran vehículos. Aproximadamente 100 familias hacen uso del servicio.

Cerca de San Cristóbal el Bajo se tomó la quinta muestra. Ésta se obtuvo del tanque ubicado en la aldea San Pedro las Huertas. La misma se obtuvo de una de las caídas directas. El agua proviene de un pozo considerado rural.

La sexta y última muestra que se captó fue en la cumbre de la aldea San Mateo Milpas Altas. Para llegar al punto de muestreo se debe recorrer entre 15 y 20 minutos en vehículo, y entre 10 y 15 minutos de caminata. Una vez en el punto se tomó la muestra de la caída directa que llega al tanque que distribuye agua a las familias del sector. Según información proporcionada por los habitantes, muchas familias de la aldea no cuentan con servicio de agua potable en el hogar por lo que dependen del agua que llega al tanque. Motivo por el cual los habitantes deben acudir a puntos comunales en los que se abastecen de agua que llevan hasta sus hogares.

En los seis (6) puntos descritos con anterioridad se identificaron características que los califican como óptimos para entrar a la lista de sitios de muestreo y así realizar los análisis microbiológicos del agua. Debido a la necesidad de determinar las condiciones del agua que las personas consumen pudiendo así

evitar en cierto grado enfermedades transmitida por el consumo de agua contaminada se definió como punto susceptible para el muestro aquellos lugares a los cuales acuden familias en busca de agua para sus actividades diarias, de origen rural, o en la periferia de la ciudad ya que aún existen zonas en el municipio donde hay dificultades con el acceso al agua potable.

Se realizó un total de seis muestreos por triplicado para dar un total de 18 muestras en las cuales se evaluó la calidad microbiológica, y por ende su aceptación de acuerdo a la normativa nacional vigente referente al agua potable (Acuerdo Ministerial No. 523-2013, COGUANOR NTG 29001).

Las pruebas se realizaron en dos fases; durante la primera se muestreo los primeros tres puntos y durante la segunda los tres restantes. Cada punto se muestreo por triplicado para tener mayor confianza de que los resultados obtenidos son certeros. El procedimiento para cada muestra desde la captación de la muestra hasta la interpretación de resultados es el mismo.

Una vez tomada la muestra se procedió a prepararla para la incubación. Ya que la muestra fue preparada con no más de 3 horas de demora no se hizo uso de refrigeración para las muestras. Con las muestra lista se buscó un lugar en el cual preparar las muestras, una superficie plana y sin desnivel. Para los análisis se utilizó el procedimiento planteado en este trabajo. Se siguió la metodología paso a paso, desde el muestreo, preparación de muestras, inoculación, incubación, lectura de resultados, y pruebas confirmativas (ver Tabla No. 27).

Una vez listas las muestras se procedió a la incubación de las mismas. En el caso del Test ReadyCult® el tiempo de incubación fue mayor ( $48 \pm 4$  horas) ya que la temperatura a la que se realizó la misma fue la ambiente ( $20 \pm 4$  °C). Mientras que para el Test Petrifilm™ el tiempo de incubación fue menor ( $24 \pm 4$  horas) a temperatura corporal ( $35 \pm 3$  °C). Para lograr la temperatura corporal, la muestra se incubó dentro de un sobre de papel, en una bolsa junto al pecho de las personas que realizaron los análisis. La placa permaneció junto al cuerpo durante las 24 horas aproximadas de incubación. Después de haber incubado las muestras se realizaron las respectivas observaciones de cada muestra. En cada prueba se puede ver como

ciertas muestras presentan cambios que indican que la prueba es positiva mientras que otros no muestran cambio alguno (ver Tabla No. 29).

En el caso de Test Readycult® se observa como después de las 48 horas a  $20 \pm 4$  °C se presenta un cambio de color del caldo de cultivo en las muestras que resultan positivas en el crecimiento de coliformes totales y *Escherichia coli*. En las muestras que resultaron positivas se observó que el caldo de cultivo cambio de color amarillo a verde – azul. El olor péptico de la prueba es característico y luego de las 48 horas de incubación el olor se intensifica. En las pruebas que resultaron negativas se observó cambio de color en el caldo sin embargo la prueba confirmativa dio negativo para *E. coli*, únicamente en algunas muestras se percibió turbiedad y cambio parcial de color.

Después de las 48 horas de incubación del test Readycult® se obtuvo resultados para la prueba presuntiva ya que el cambio de color del caldo significa presencia de coliformes totales y / o *Escherichia coli*. Se debe resaltar que cualquier cambio de color parcial o total del caldo de cultivo se debe de considerar para la prueba confirmativa ya que en ocasiones únicamente cambia de color parte del frasco, pero la prueba presuntiva debe considerarse como positiva. Sin embargo, se tuvo que realizar la prueba confirmativa para determinar la presencia de *E. coli* en las muestras de agua. Todas las pruebas fueron sometidas a confirmación con la prueba de Indol ya que en todas se observó cambio de color (en algunas total y en otras parcial) por lo que se adicionó a cada muestra (con cambio de color en el caldo de cultivo de amarillo a verde - azul) 20 gotas de reactivo de Kovacs, observando así la formación de un anillo con color característico (rojo – rosa intenso) en la superficie de la muestra para pruebas positivas y un anillo color naranja para pruebas negativas (ver Tabla No. 30). Las pruebas positivas para *E. coli* dieron como resultado la formación de un anillo en la superficie color rosa intenso, esto debido a la capacidad que poseen los microorganismos de romper el indol. Confirmando así la presencia de *E. coli* en el 83% de las muestras recolectadas. Al tener como resultado pruebas indol positivas ya existe un riesgo para las personas, especialmente para los niños. (Ver Gráfico No. 7)

De igual manera, terminado el tiempo establecido de incubación se observó las Placas Petrifilm™ para proceder con el conteo de UFC, totales, e indicadoras de presencia de *E. coli*. En la Tabla No. 19 se muestra la cantidad promedio de colonias totales por muestras de agua, y la cantidad de colonias promedio asociadas a presencia de *E. coli*. Se contó cada colonia con presencia o formación de burbujas de gas y/o coloración característica azul como colonia positiva para crecimiento de *E. coli*.

Las colonias de coliformes totales incluye el grupo de coliformes fecales, *E. coli*. Sin embargo las colonias que no cambiaron de color ni presentaron formación de burbujas no se les presta mayor atención porque no son un parámetro que indique contaminación en el agua, porque el grupo de coliformes totales puede estar por causas naturales en el agua.

En el Gráfico No. 8 se visualiza la cantidad de pruebas en Placas Petrifilm™ que dieron positivo en el crecimiento de colonias de *E. coli* (15; 83%). Finalmente en el Gráfico No. 9 se clasifica las muestras *E. coli* positivo en el crecimiento de colonias. Los resultados indican que la mayoría de muestras analizadas (67%) presentan un crecimiento de colonias promedio en un rango entre 1 y 10 colonias por mL de muestra.

En el Gráfico No. 10 se puede observar la concordancia entre pruebas ya que ambas pruebas dieron positivo con presencia de *E. coli* y negativo en su ausencia. Ambas pruebas fueron eficientes y efectivas con la metodología y la aplicación propuesta. Destacando que no se utilizó equipo sofisticado de laboratorio durante el desarrollo.

En la Tabla No. 20 se observa el resultado de ambas pruebas para cada una de las muestras. Pudiendo así en base a las Tablas No. 14 y 15 determinar el nivel de riesgo de agua para consumo humano, y agua para uso hortícola respectivamente.

Se determinó el nivel de riesgo que posee cada muestra analizada. El análisis de agua para consumo humano indicó que una (17%) muestra poseen un nivel de

riesgo bajo, mientras que cuatro (66%) poseen un nivel de riesgo alto, y una (17%) un nivel de riesgo muy alto. Por otra parte, para el agua de uso hortícola, una (17%) muestra presentó un nivel de riesgo muy bajo, cuatro (66%) presentaron un nivel de riesgo medio, y una (17%) un nivel de riesgo alto. (Ver Gráfico No. 11)

Los resultados confirman las inferencias con respecto al nivel de contaminación o de riesgo que presentan las muestras de agua. En los casos que se observó mayor contaminación, la cantidad de UFC de *E. coli* en los test Petrifilm™ fue mayor. Mientras que en los tests ReadyCult® se observó en menos tiempo los virajes de color, es decir, a mayor contaminación más rápido son los cambios de color del caldo de cultivo. Dicha afirmación se observó en las muestras 6.1, 6.2, y 6.3 ya que el cambio de color fue más rápido que en el resto de muestras. De igual manera, en las placas se observó mayor crecimiento de colonias indicadoras de contaminación.

Se debe de enfatizar el tratamiento y análisis de agua a las zonas de la cumbre de la aldea San Mateo Milpas Altas ya que las muestras presentan los análisis con los niveles de riesgo más altos. Los resultados recalcan la importancia del tratamiento que se debe aplicar a las fuentes de agua, pero sobre todo el cuidado y mantenimiento de los nacimientos de agua. El encargado del departamento de calidad de la municipalidad recalcó que en ocasiones se descuidan los nacimientos y quedan expuestos a contaminación externa que puede estar afectando la calidad del agua. Otro aspecto que se resalto es el tratamiento preventivo para que el equipo de tratamiento del agua proveniente de manantiales no falle y se distribuya agua contaminada a la comunidad.

El agua procedente de pozos o fuentes municipales debe de cumplir con la normativa nacional. El método desarrollado se fundamenta en los parámetros establecidos por COGUANOR y por la OMS que indican que *E. coli* debe estar ausente en 100 mL de agua. Por lo que partiendo de los resultados se puede decir que el 83% de las muestras analizadas no cumplen con los requerimientos bacteriológicos establecidos por la legislación vigente.

A partir de los resultados se pudo determinar si las muestras de agua analizadas cumplen con los requerimientos establecidos por la legislación nacional para agua potable (COGUANOR NTG 29001). Se determinó que de las 6 muestras, el 83% no cumple, mientras que el 17% restante sí cumple con la normativa que indica que *E. coli* debe estar ausente en 100 mL de agua. (Ver Gráfica No. 12)

Los resultados se pueden emplear como una alerta con respecto al tratamiento que se le da al agua que se distribuye al usuario final ya que la presencia de *E. coli* indica que la cantidad de cloro en el agua no es suficiente para actuar sobre los microorganismos. Se sugiere poner énfasis a las operaciones y a la periodicidad con que se verifica el cumplimiento de las directrices establecidas por el Acuerdo Ministerial 523-2013. En el “Artículo 15. Control microbiológico” y “Artículo 16. Control por el programa de análisis mínimo” establecen la frecuencia con la que los prestadores del servicio de abastecimiento de agua para consumo humano deben efectuar el control de los parámetros “coliformes totales” y “*Escherichia coli*”. Con base en lo anterior se recomienda una frecuencia de uno (1) a dos (2) muestreos por mes para sistemas que abastecen a 20,000 o más usuarios. Por otra parte si se desea cumplir con directrices internacionales como la OMS se debe cumplir con las indicaciones que proporciona la organización. (Ver Tabla No. 7)

En los sectores donde no se cumple con los requerimientos mínimos, el agua debe recibir un tratamiento (filtración – desinfección) previo a ser consumida evitando así riesgos para la salud. Ya sea un calentamiento (65 °C ó más), o bien cloración (ver Tabla No. 11). En los casos en los que se da un riesgo muy alto se debe informar a las autoridades para que las fuentes reciban un tratamiento adecuado previo al consumo.

Al presentar los resultados se recomendó efectuar tratamientos al agua utilizada como lo son la cloración y hervir el agua (Según Tabla No. 11). Una vez finalizadas las sesiones y teniendo pleno conocimiento de la metodología se efectuó un segundo cuestionario a los usuarios con el cual se pudo recopilar información con respecto a la metodología implementada. (Ver Tabla No. 23). Con dicha

herramienta se pudo tomar en cuenta la opinión de la comunidad con respecto a las pruebas. Los resultados indican que el 50% calificó la metodología como excelente, mientras que el 50% restante muy buena. Lo que confirma la aceptación del método implementado con el grupo piloto.

Así mismo se determinó que el 25% del grupo podría implementar la metodología en un 50%, 25% en un 100%, y un 50% en un 75%. Por lo que se infiere que más capacitaciones podría ser una solución para los problemas que presentaron los usuarios durante la implementación. A mayor práctica más fácil será para las personas la implementación de la metodología. Con respecto a las capacitaciones el 75% indicó que las cree necesarias con una frecuencia bimestral.

Los encuestados indicaron que no preferirían una prueba sobre la otra, sin embargo creen que cada prueba tiene sus características. (Ver Gráfica No.15). Se observó interés por parte del grupo que implementó la metodología y ello facilitó el proceso. Con el segundo cuestionario se pudo confirmar el interés de las personas ya que el 100% indicó que le interesaría conocer más sobre la metodología y sus aplicaciones.

Desde el punto de vista económico, en cada análisis de prueba combinada (Readycult® y Petrifilm™) se incurre en un costo aproximado de Q 56.00 y un costo de Q 1,117.00 por Kit. El kit, o laboratorio portátil de microbiología consta de veinte pruebas para el análisis de la calidad microbiológica de agua.

Una prueba convencional de laboratorio en la que se analiza parámetros bacteriológicos de agua para consumo humano oscila entre los Q150.00 y Q200.00 (Laboratorio de Agua de Instituto de Fomento Municipal, INFOM, 2017). Como se puede observar en las Tablas No. 24 y 25 (Anexo 1), los costos son menores a los de pruebas de laboratorio usuales, igualmente los resultados se obtienen con menores tiempos de respuesta.

Otra de las ventajas del método es la confiabilidad con la que se obtienen los resultados. En el caso del Test Readycult® se obtiene respuesta con una certeza del 99%, mientras que con las Placas Petrifilm™ *E. coli* se obtiene respuesta con

un 95% de certidumbre. Ambos métodos dan resultados con altos niveles de seguridad.

Con base en el trabajo de campo se determinó que uno de los métodos es más práctico y fácil de emplear para los usuarios, al mismo tiempo presentó menos dificultad durante la preparación de muestras e interpretación de resultados. Se observó menos complicaciones para la prueba que se realiza con Readycult®. La prueba Readycult® puede incubarse en un rango amplio de temperatura (20 – 25 °C; 35 - 37 °C), el único parámetro que varía es el tiempo de respuesta de la prueba ya que a menor temperatura se requiere más tiempo; obteniendo resultados a las 24 horas a  $35 \pm 2$  °C y a las 48 horas de 22 a 25 °C. Otra ventaja que posee la prueba es la fácil detección tanto de coliformes totales como *E. coli*; primero, con la prueba presuntiva con el cambio de color de la muestra de amarillo a verde – azulado se puede encontrar en la muestra coliformes totales mas no es definitivo que haya presencia de *E. coli* por lo que la prueba confirmativa indica la presencia o ausencia del microorganismo en la muestras analizadas. Las pruebas de identificación son sencillas ya que son netamente visuales, no son complejas, y no requieren de mayor conocimiento microbiológico o científico previo. Las pruebas Readycult® que dan un resultado positivo demuestra la presencia de *E. coli* con una certidumbre del 99 % y elimina la necesidad de etapas de confirmación añadidas que duran de 24 a 48 horas. Así mismo se observó cierto grado de incomodidad por parte de algunas personas del grupo debido a la forma de incubar las placas Petrifilm™, sin embargo al finalizar la prueba los usuarios indicaron que no fue tan incómodo como se imaginaban.

En el caso del test Readycult® se observó un alto nivel de aceptación ya que es fácil, rápido, y no necesita mayor cuidado durante el tiempo de incubación, a diferencia de las pruebas con las placas Petrifilm™ que se deben mantener junto al cuerpo durante la incubación. Sin embargo un aspecto negativo por parte de los usuarios fue el olor característico del caldo de cultivo luego de la incubación ya que es fuerte y penetrante que puede ofender la sensibilidad de ciertas personas.



Durante el análisis de resultados se discutió los tiempos de incubación para cada prueba y la temperatura que debe alcanzar cada muestra ya que el método está diseñado para ser empleado por personas que no poseen equipo especializado. Sin embargo la metodología puede tener algunas modificaciones y ser adaptada para cumplir con las necesidades del usuario.

Por último, se analizó distintos escenarios y posibles problemas que el método pudiese presentar ya que no se puede dejar a un lado factores que pueden generar incerteza en el método. Se procedió a realizar un diagrama de Ishikawa (causa y efecto), utilizando el método de las 6M's, para señalar las posibles causas de la variación e incerteza que pueden afectar el desempeño de la metodología. De igual manera se debe de poner atención a las causas para evitar ocurrencias y tener soluciones para problemas que se pueden presentar en el futuro (ver Diagrama No. 4, p.85).

En el caso del medio se encontraron tres (3) factores que pueden afectar como lo son el clima, las instalaciones, y el exceso de luz solar. El clima es importante ya que las variaciones que este presenta durante el año puede ser ventaja y a la vez desventaja para la incubación de las muestras. El clima frío no permite el desarrollo óptimo ni la identificación de los parámetros microbiológicos bajo las condiciones requeridas por los microorganismos. Otra causa que se debe considerar es la lluvia, la misma puede provocar contaminación en las muestras por lo que se debe de evitar que la misma entre en contacto con las muestras. Por otra parte se considera que es relevante la exposición de muestras a la luz por lo que también se incluyó. Un exceso de luz puede degradar las muestras antes de ser analizadas dando resultados poco confiables por lo que se debe utilizar algún contenedor cerrado para almacenar las muestras.

Consecutivamente, se debe enfatizar en el método ya que es de vital importancia cumplir al pie de la letra las indicaciones para obtener resultados confiables. Primero, el muestreo es importante ya que de él dependen las etapas posteriores; un mal muestreo puede conducir a resultados erróneos. Otra parte importante es la identificación de cada muestra. Es sumamente importante

identificar cada muestra para que no se confundan resultados y para que cada muestra tenga una trazabilidad. Finalmente, la correcta preparación de las muestras es imprescindible puesto que un mal procedimiento podría representar una prueba fallida, por lo tanto perdida.

Luego se analizó los materiales donde se señaló la importancia del tiempo de vida del producto y el almacenaje de los materiales bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad.

Posteriormente se evaluaron las causas de que la mano de obra provoque incerteza en el método. En primer plano se pueden mencionar aspectos como la capacitación, la preparación e interpretación de muestras, y los descuidos. La capacitación es muy importante ya que a través de ella se da a conocer el método, se resuelven dudas, y la importancia de la verificación de la calidad del agua. De igual manera, se debe subrayar la preparación de muestras y la lectura o interpretación de resultados, porque una buena interpretación es esencial para determinar la calidad microbiológica de las muestras. El método no es complicado, sin embargo los resultados indicaron que se necesita más de una muestra ejemplo para relacionarse con el procedimiento.

La metodología se puede emplear como una herramienta que proporcione resultados que puedan ser utilizados como una alerta directa para los usuarios. La metodología como bien se indica, no trata de sustituir ni reemplazar procedimientos existentes ni acreditados; más bien, trata de complementar y ser de ayuda para evaluar la calidad microbiológica de agua, evitando así contraer enfermedades transmitidas a través del agua contaminada.

## VI. CONCLUSIONES

1. A partir de las pruebas realizadas y con el apoyo de las herramientas de validación se sugiere la implementación de la prueba Readycult® debido a las ventajas que posee en los usuarios como una fácil preparación, incubación, y sobre todo, interpretación de resultados.
2. Con base en un muestreo no probabilístico, de tipo discrecional y con la ayuda de herramientas de validación (cuestionarios) se identificaron 6 puntos susceptibles para llevar a cabo la evaluación de la calidad microbiológica del agua en el municipio de Antigua Guatemala, proveniente de pozos municipales, que a la vez la obtienen directamente de nacimientos.
3. Se demostró un alto grado en la aplicación de la metodología desarrollada e implementada en los usuarios que realizaron las pruebas (Readycult® y Petrifilm™) para el análisis microbiológico del agua, mismas que representan una herramienta de bajo costo y alta credibilidad en la evaluación de parámetros de contaminación en las fuentes de agua.
4. Se estableció un procedimiento sencillo para el análisis microbiológico del agua que con una inversión aproximada de Q56.00 brinda resultados rápidos con pruebas que pueden ser realizadas in situ y sin necesidad de equipo de laboratorio, dicha metodología se plasmó en un manual que el usuario puede utilizar para efectuar paso a paso el procedimiento a seguir desde el muestreo hasta la lectura de resultados.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Se debe realizar análisis periódicos de la calidad del agua para proveer al usuario agua libre de contaminantes que puedan afectar al consumidor.
2. Verificar la efectividad de los tratamientos realizados a las fuentes de agua que se utilizan en el municipio de Antigua Guatemala ya sea para consumo humano o bien, para uso hortícola.
3. Considerar frecuencias de análisis sugeridas por el Acuerdo Ministerial No. 523-2013 que toma como referencia la norma COGUANOR NGO 29001 para llevar a cabo la evaluación de las condiciones de las fuentes de agua.
4. Darle seguimiento a los casos en los que las pruebas dieron positivo para *E. coli* con el fin de resolver el problema y determinar las causas que están afectando las fuentes de agua.
5. Reforzar la importancia del consumo de agua potable y el tratamiento de desinfección al agua que se utiliza sobre todo para beber y cocinar.
6. Realizar capacitaciones periódicas donde se trate temas relevantes como el muestreo, preparación de muestras, así como lectura y análisis de resultados.

## VIII. REFERENCIAS

- Acuerdo Ministerial No. 523 – 2013. Diario de Centro América, Guatemala, 3 de octubre de 2013.
- American Water Works Association. (1ra Ed). (2002). *Calidad y tratamiento del agua*. España: McGraw-Hill.
- Andueza, F. (2014). *Microbiología del Agua* [PowerPoint slides]. Recuperado de: [http://www.cff.org.br/userfiles/file/Pasta%20-%20Costa%20Rica/\\_XVI%20Congreso%20Farmac%C3%A9utico%20Nacional%20\(PDF\)\\_\\_\\_/Clase%201%20M%C3%A9todos%20fisicoqu%C3%ADmicos%20y%20microbiol%C3%B3gicos%20para%20garantizar%20la%20calidad%20del%20agua.pdf](http://www.cff.org.br/userfiles/file/Pasta%20-%20Costa%20Rica/_XVI%20Congreso%20Farmac%C3%A9utico%20Nacional%20(PDF)___/Clase%201%20M%C3%A9todos%20fisicoqu%C3%ADmicos%20y%20microbiol%C3%B3gicos%20para%20garantizar%20la%20calidad%20del%20agua.pdf)
- Apella, M. y Araujo P. (S.F.). *Microbiología de agua. Conceptos básicos*. Consultado el día 15 de marzo de 2017. Recuperado de: [https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02\\_Capitulo\\_02.pdf](https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf)
- Apha et. Al. (21. Ed.). (2005). *Standard methods for examination of water and wastewater*. Estados Unidos: Joint Editorial Board.
- Britanialab. (2011). *Indol Reactivo* [Hoja Técnica]. Recuperado de: [http://www.britanialab.com/productos/180\\_hoja\\_tecnica\\_es.pdf](http://www.britanialab.com/productos/180_hoja_tecnica_es.pdf)
- Buelta, A. & Martínez, R. (S.F.) *Guía Básica de Control de Calidad del Agua*. España: ONGAWA
- Bush, L. y Schmidt, C. (s.f.). *Infecciones por Pseudomonas*. Manuales MSD (Global Medical Knowledge). Recuperado de: <http://www.msdmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas/infecciones-por-pseudomonas>
- Chan, M. y Peña, W. (2015). Evaluación de la calidad del agua superficial con potencial para consumo humano en la cuenca alta del Sis Icán, Guatemala. *Scielo*, 7(1), 19-23. (SSN: 1659-4266). Recuperado de:

[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1659-42662015000100019](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-42662015000100019)

Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR). *Norma COGUANOR NGO 29001 y sus Derivados*. Guatemala (1984).

COGUANOR NTG 29001 (1ª Revisión). *Agua para consumo humano (agua potable). Especificaciones*. Norma Técnica Guatemalteca. 9 de agosto de 2013.

Del Cid, A., Méndez, R. y Sandoval, F. (2007). *Investigación, Fundamentos y Metodología*, (1ª. Ed) México, D.F.: Pearson Educación.

División de Salud Pública de Carolina del Norte. (2009). *Hoja Informativa sobre las bacterias coliformes en los pozos de agua privada*. Recuperado de: [http://epi.publichealth.nc.gov/oee/docs/Las\\_Bacterias\\_Coliformes\\_WellWaterFactSheet.pdf](http://epi.publichealth.nc.gov/oee/docs/Las_Bacterias_Coliformes_WellWaterFactSheet.pdf)  
Dreckmann, K. Senties, A. y Núñez, M. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio (Biología de algas)*. México: Universidad Autónoma Metropolitana. Recuperado de: <http://www.izt.uam.mx/ceu/publicaciones/MBA/files/biologiadealgas.pdf>

Félix, A., Campas, O., Aguilar, M., & Meza, M. (2007). Calidad Microbiológica del Agua de Consumo Humano de Tres Comunidades Rurales del Sur de Sonora (México). *Revista Salud Pública y Nutrición (RESPYN)*, 8(3). Recuperado de:

Fotografía de CSA Entransición 2.0. (2012). Recuperado de: <https://vistoenlaweb.org/2012/11/16/desinfeccion-solar-de-agua/>

Fotografía de José Juan Rodríguez Jerez. (2003). Recuperada de: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2003/05/27/6613.php>

Fotografía de Omicrono. (S.F.). Recuperado de: <http://omicrono.elespanol.com/2016/09/agua-en-el-microondas/>

García, V. (2ª Ed.). (2004). *Introducción a la Microbiología*. Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia (EUNED).

- Gramajo, B. (2004). *Determinación de la calidad de del agua para consumo humano y uso industrial, obtenida de pozos mecánicos en la zona 11, Mixco, Guatemala* (Tesis de pregrado). Recuperado de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_0907\\_Q.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0907_Q.pdf)
- Hernández, J. (2012). *Evaluación de la calidad microbiológica de agua de pozos para consumo humano del casco urbano del departamento de Chiquimula* (Tesis de pregrado). Recuperado de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_3344.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3344.pdf)
- I.C.T, S.L. (2017). *Medios de Cultivo en Blister Readycult®, Merck*. Consultado el 20 de mayo de 2017. Recuperado de: <http://www.ictsl.net/productos/instrumental/0000009f3a132a14b.html>
- Larrea, J., Rojas, M., Romeu, B., Rojas, N., y Heydrich, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC (Ciencias Biológicas)*, 44(3), 24-34. ISSN: 2221 – 2450.
- Lenntech. (S.F.). *Estándares de calidad del agua potable*. Consultado el 20 de marzo de 2017. Recuperado de: <http://www.lenntech.es/estandares-de-calidad-del-agua.htm>
- Madigan, M., Martinko, J., y Parker, J. (10ª Ed.). (2004). *Biología de los Microorganismos*. Madrid, España: Pearson Educación, S.A.
- Mejía, R. (2005). Análisis de la calidad del agua para consumo humano y percepción local de las tecnologías apropiadas para su desinfección a escala domiciliaria, en la microcuenca El Limón, San Jerónimo, Honduras. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Costa Rica.
- Merck Millipore. (2007). *Readycult® Coliforms 100 Presence/Absence Test for Detection and Identification of Coliform Bacteria and Escherichia coli in Finished Waters*. Consultado el 20 de mayo de 2017. Recuperado de: <https://www.univie.ac.at/hygiene-aktuell/RC.pdf>
- Metcalf, B. y Onsager L. (s.f.). Un método práctico para la evaluación rápida de la calidad bacteriana del agua. *International Water and Health Alliances*. Recuperado de: [http://waterinternational.org/?page\\_id=270](http://waterinternational.org/?page_id=270)

- Ministerio de Salud (Presidencia de la Nación). (2002). *Guía de toma de muestra, conservación, y transporte para análisis toxicológicos*. Recuperado de: [http://www.msal.gob.ar/pngcam/resoluciones/msres650\\_2002.pdf](http://www.msal.gob.ar/pngcam/resoluciones/msres650_2002.pdf)
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2002). *Cartilla de cuidado salud, ambiente y uso del agua*. Guatemala.
- Norma COGUANOR NGO 29001. Agua para Consumo Humano (Agua potable). Especificaciones, Primera Revisión. Norma Técnica Guatemalteca. Guatemala: 1999.
- Norma COGUANOR NTG 29001. Agua para Consumo Humano (Agua potable). Especificaciones, Primera Revisión. Norma Técnica Guatemalteca. Guatemala: 2013.
- OCEANO. (2002). *Mentor Educativo (Enciclopedia Temática Estudiantil)*. Barcelona, España: Grupo Editorial OCEANO.
- ONU-DAES. (2014). *Calidad del Agua*. Consultado el día 20 marzo de 2017. Recuperado de: <http://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/quality.shtml>
- OMS. (2016). *E. coli*. Consultado el día 30 abril de 2017. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
- OMS. (4ª Ed.). (2011). *Guidelines for Drinking – Water Quality* [Directrices para la calidad del agua potable]. Consultado el día 13 de abril de 2017. Recuperado de: <http://www.zaragoza.es/contenidos/medioambiente/onu/624-eng-ed4.pdf>
- OMS. (2017). *Agua*. Consultado el día 16 de febrero de 2017. Recuperado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs391/es/>
- Ontiveros, M. (1983). *Pseudomonas aeruginosa como indicador de la calidad bacteriológica del agua para uso recreacional*. Secretaría de Agricultura y Recursos Hídricos. México.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (1989). *Manuales para el control de calidad de los alimentos*. Roma, Italia.



- Ortiz, F. y García, M. (2005). *Metodología de la investigación*. México, D.F.: Editorial Limusa.
- Paredes, P. (2014). *Implementación de protocolo para la determinación de coliformes totales y E. coli en agar chromocult para la asociación municipal de acueductos comunitarios AMAC* (tesis de pregrado). Recuperado de: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/4927/628161P227.pdf?sequence=1>
- Paulino, C., Apella, M., Pizarro, R., y Blesa, N. (S.F.). *La Contaminación Biológica*. Argentina: Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias. Recuperado de: <http://aargentinapciencias.org/2/index.php/grandes-temas-ambientales/agua-y-ambiente/107-contaminacion-del-agua/158-la-contaminacion-biologica>
- Pelczar, M. (4ª Ed.). (2009). *Microbiología*. México: McGraw Hill.
- Puerta, A. y Mateos, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426 – 3421. doi: [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70056-1](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70056-1)
- Resolución 2115. Diario Oficial de la República de Colombia, Bogotá, Colombia, 22 de junio de 2007.
- Rodríguez, S. (2010). *La Dureza del Agua*. Tesis Inédita. Universidad Tecnológica Nacional. Argentina. Consultado el 25 de abril de 2017. Recuperado de: [http://www.edutecne.utn.edu.ar/agua/dureza\\_agua.pdf](http://www.edutecne.utn.edu.ar/agua/dureza_agua.pdf)
- Sac, E. (2005). *Evaluación fisicoquímica y microbiológica para determinar la calidad de los abastecimientos de agua potable de la nueva red de distribución de la zona media urbana del municipio de Quetzaltenango y propuesta de un sistema de cloración* (Tesis de pregrado). Recuperado de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_0968\\_Q.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0968_Q.pdf)
- Sanabria, J. y Mercedes, D. (2001). *Curso de Microbiología Ambiental* [Manual de Laboratorio Microbiología]. Argentina: Universidad del Valle. Recuperado de: <http://www.etpcba.com.ar/DocumentosDconsulta/ALIMENTOS-PROCESOS%20Y%20QU%20C3%8DMICA/Manual-de-Microbiolog%C3%ADa.pdf>

Superintendencia de Servicios Sanitarios. (2007). *Manual de métodos de ensayo para agua potable*. Recuperado de: [http://www.siss.gob.cl/577/articulos-9648\\_recurso\\_1.pdf](http://www.siss.gob.cl/577/articulos-9648_recurso_1.pdf)

Universidad de Salamanca. (S.F.). *Toma de Muestras de Agua Para Análisis Microbiológicos*. Consultado el 16 de mayo de 2017. Recuperado de: <http://coli.usal.es/web/entrada.html>

Uribarren, T. (2017). *Cryptosporidiosis o Cryptosporidiasis o Criptosporidiosis*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/cryptosporidiasis.html>

Uribarren, T. (2017). *Giardiasis o Giardiosis*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/giardiasis.html#>

USGS. (2016). Distribución del agua de la tierra. Recuperado de: [https://www.usgs.gov/science/mission-areas/water?qt-mission\\_areas\\_l2\\_landing\\_page\\_ta=0#qt-mission\\_areas\\_l2\\_landing\\_page\\_ta](https://www.usgs.gov/science/mission-areas/water?qt-mission_areas_l2_landing_page_ta=0#qt-mission_areas_l2_landing_page_ta)

Wright, J., Gundry, S., Conroy, R. (2003) Household drinking water in developing countries: A systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use. *Tropical Medicine & International Health*, 9(1), 106-117.

3M™. (S.F.). *Placas Petrifilm™ para el Recuento de E. coli/Coliformes*. Consultado el 16 de mayo de 2017. Recuperado de: <http://multimedia.3m.com/mws/media/444950O/3m-petriefilm-e-coli-coliform-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf>

## IX. ANEXOS

### 9.1. Anexo 1

#### 9.1.1. Costeo promedio

Se armó kits a los que se les puede llamar Laboratorios Portátiles de Microbiología (LPM). Cada LPM consta del equipo necesario para realizar 20 pruebas tanto con caldo de cultivo Readycult® como Placas Petrifilm™ EC. En la siguiente tabla se detallan los costos incurridos, tanto individuales como por kit, para la realización de los análisis microbiológicos:

**Tabla No. 24** Costo promedio de materiales para análisis microbiológicos con metodología propuesta

Material / Equipo	Empaque	Precio por Empaque	Precio Unitario	Precio por Kit (20 Unidades)
Guantes de Látex*	Pack	Q 75.00	Q 0.75	Q 15.00
Petrifilm E-coli*	Pack	Q 292.00	Q 11.68	Q 233.60
Merck Coliformes 100 Readycult	Pack	Q 586.04	Q 29.30	Q 586.04
Frasco con Tiosulfato de Sodio	Unidad	Q 7.56	Q 7.56	Q 151.20
Pipeta Graduada de Poliestireno	Unidad	Q 1.95	Q 1.95	Q 39.00
Reactivo de Kovacs para Indol*	25 mL	Q 115.00	Q 4.60	Q 92.00
Pera de Caucho <sup>a</sup>	Set	Q 62.50	Q 62.50	Q 62.50

**Fuente:** elaboración propia, mayo de 2017

\*En el caso de cierto equipo y material, viene solamente en presentaciones que contienen más de lo que se requiere para armar un kit, por lo que se sugiere continuar con su uso para empezar un nuevo kit hasta que se acabe el mismo.

<sup>a</sup>En el caso de la pera de caucho es un gasto que solo se incurre una vez para un kit ya que se puede reutilizar.

**Tabla No. 25** Costos totales de método propuesto

<b>Material / Equipo</b>	<b>Precio Unitario</b>	<b>Precio por Kit (20 Unidades)</b>
Guantes de Látex	Q 0.75	Q 15.00
Petrifilm E-coli	Q 11.68	Q 233.60
Merck Coliformes 100 Readycult	Q 29.30	Q 586.04
Frasco con Tiosulfato de Sodio	Q 7.56	Q 151.20
Pipeta Graduada de Poliestireno	Q 1.95	Q 39.00
Reactivo de Kovacs para Indol	Q 4.60	Q 92.00
<b>Total</b>	<b>Q 55.84</b>	<b>Q 1,116.84</b>

**Fuente:** elaboración propia, mayo de 2017

## 9.2. Anexo 2

### 9.2.1. Datos de muestreo

**Tabla No. 26** Información de puntos de muestreo

#	Lugar de Muestreo	Muestreo 2017	Preparación de Muestra 2017	Lectura de Resultados 2017
1.1	Caserío el Guayabal, Aldea San Felipe de Jesús	17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
1.2		17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
1.3		17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
2.1	Aldea San Juan Gascón	17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
2.2		17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
2.3		17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
3.1	Aldea Santa Inés del Monte Pulciano	17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
3.2		17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
3.3		17 de octubre	17 de octubre	19 de octubre
4.1	Aldea San Cristóbal el Bajo	24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
4.2		24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
4.3		24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
5.1	Aldea san Pedro las Huertas	24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
5.2		24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
5.3		24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
6.1	Cumbre de Aldea San Mateo Milpas Altas	24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
6.2		24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre
6.3		24 de octubre	24 de octubre	26 de octubre

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

9.2.2. Lugares de muestreo

**Imagen No. 9** Mapa de departamento de Sacatepéquez



**Fuente:** <https://espanol.mapsofworld.com/continentes/norte-america/guatemala>

**Imagen No. 10** Mapa del municipio de Antigua Guatemala



**Fuente:** Google Maps, (2017)

**Imagen No. 11** Mapa de caserío el Guayabal, aldea San Felipe de Jesús

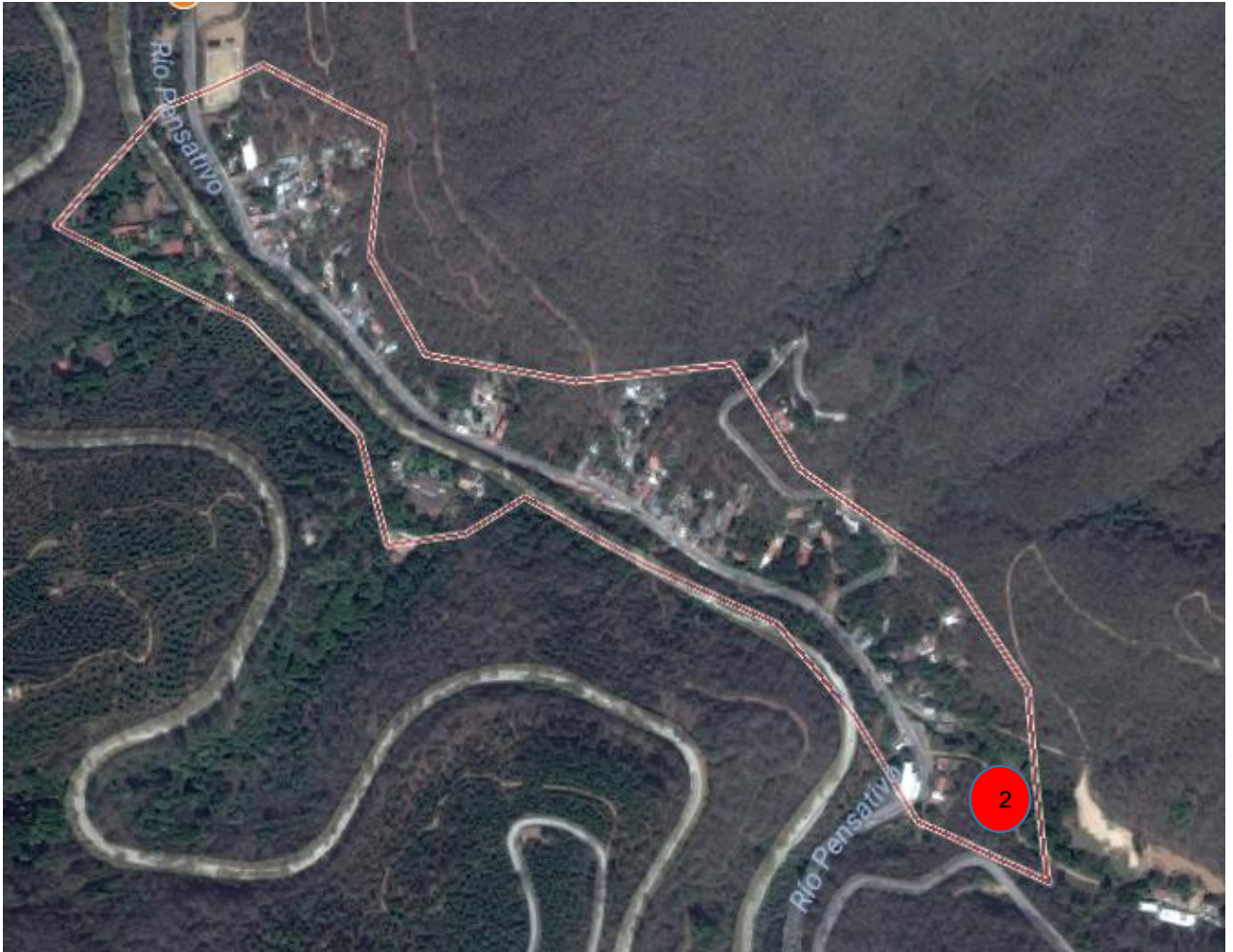


**Fuente:** Google Earth, (2017)

**Muestreo No. 1** (Muestra 1.1, 1.2, 1.3) Caserío el Guayabal, Aldea San Felipe de Jesús



**Imagen No. 12** Mapa de Aldea San Juan Gascón



**Fuente:** Google Maps, (2017)

**Muestreo No. 2** (Muestra 2.1, 2.2, 2.3) Aldea San Juan Gascón

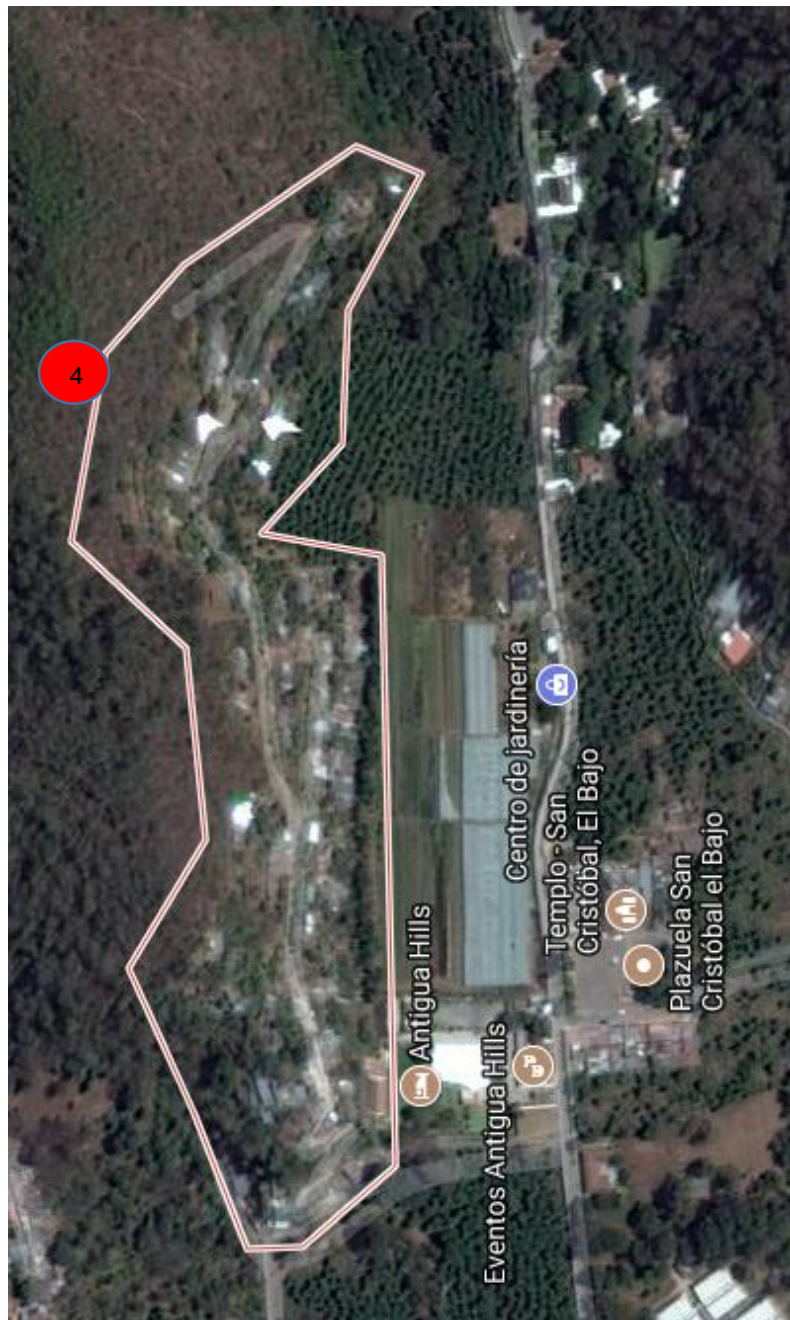
**Imagen No. 13** Mapa de aldea Santa Inés del Monte Pulciano



**Fuente:** Google Maps, (2017)

**Muestreo No. 3** (Muestra 3.1, 3.2, 3.3) Aldea Santa Inés del Monte Pulciano

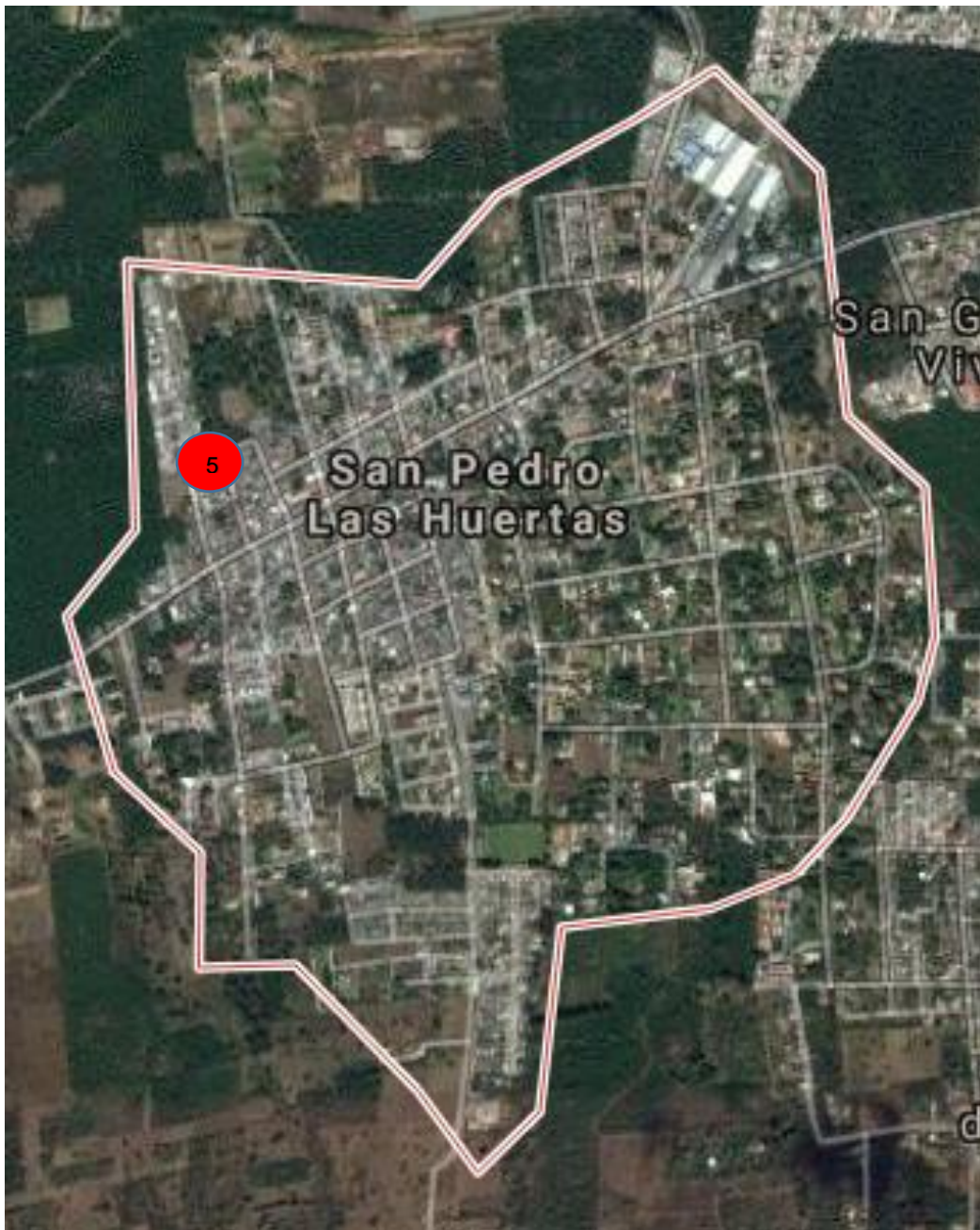
**Imagen No. 14** Mapa de aldea San Cristóbal el Bajo



**Fuente:** Google Maps, (2017)

**Muestreo No. 4** (Muestra 4.1, 4.2, 4.3) Aldea San Cristóbal el Bajo

**Imagen No. 15** Mapa de aldea San Pedro las Huertas



**Fuente:** Google Maps, (2017)

**Muestreo No. 5** (Muestra 5.1, 5.2, 5.3) Aldea San Pedro las Huertas

**Imagen No. 16** Mapa de aldea San Mateo Milpas Altas



**Fuente:** Google Maps, (2017)

**Muestreo No. 6** (Muestra 6.1, 6.2, 6.3) Cumbre de aldea San Mateo Milpas Altas.

### 9.2.3. Puntos de muestreo

1. **Caserío el Guayabal:** el caserío está ubicado en la aldea San Felipe de Jesús. La muestra fue captada de la toma directa que llega al tanque que distribuye agua a las familias que habitan en dicho sector. La muestra de agua tomada proviene de pozos municipales, y a la vez, la municipalidad obtiene el agua de nacimientos.

**Figura No. 6** Punto de muestreo No. 1



Muestreo No. 1

•El Guayabal



Muestreo No. 1

•El Guayabal



Muestreo No. 1

•El Guayabal



Muestreo No. 1

•el Guayabal



Muestreo No. 1

•El Guayabal



Muestreo No. 1

•El Guayabal

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

2. **Aldea San Juan Gascón:** la muestra fue captada de la caída principal que llega al tanque, la misma se distribuye a los habitantes del sector. El agua

proviene de pozos municipales, y a la vez, la municipalidad la obtiene de nacimientos.

**Figura No. 7** Punto de muestreo No. 2



**Muestreo No. 2**  
•Aldea San Juan Gascón



**Muestreo No. 2**  
•Aldea San Juan Gascón



**Muestreo No. 2**  
•Aldea San Juan Gascón

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

- 3. Aldea Santa Inés del Monte Pulciano:** muestra captada de unas de las dos caídas principales que llegan al tanque que distribuye agua al sector. El agua proviene de pozos municipales, y a la vez, la municipalidad obtiene el agua de nacimientos.

**Figura No. 8** Punto de muestreo No. 3



**Muestreo No. 3**  
•Aldea Santa Inés del Monte Pulciano



**Muestreo No. 3**  
•Aldea Santa Inés del Monte Pulciano

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

4. **Aldea San Cristóbal el Bajo:** muestra captada de la caída principal que llega al tanque del área “Rural” que abastece al sector. Agua proveniente de pozos municipales, misma que es obtenida por la municipalidad de nacimientos.

**Figura No. 9** Punto de muestreo No. 4



Muestreo No. 4  
•Camino a Punto de Muestreo



Muestreo No. 4  
•Camino a Punto de Muestreo



Muestreo No. 4  
•Camino a Punto de Muestreo



Muestreo No. 4  
•Camino a Punto de Muestreo



Muestreo No. 4  
•Punto de muestreo



Muestreo No. 4  
•Punto de muestreo

**Fuente:** elaboración propia, (2017)



5. **Aldea San Pedro las Huertas:** muestra captada de una de las caídas principales del tanque ubicado en la plazuela central. El agua proviene de nacimientos.

**Figura No. 10** Punto de muestreo No. 5



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

6. **Cumbre de Aldea San Mateo Milpas Altas:** muestra captada de la caída principal del tanque que distribuye agua a dicho sector. Agua proveniente de pozos municipales, que a la vez, la obtienen de nacimientos.

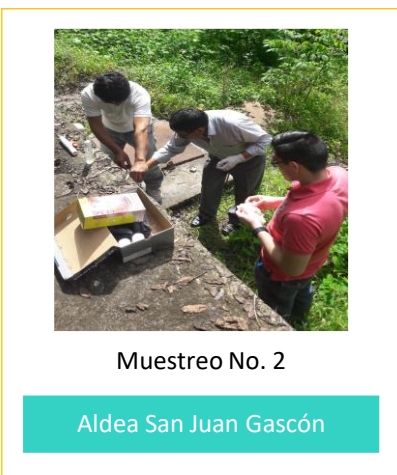
**Figura No. 11** Punto de muestreo No. 6



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

9.2.4. Muestreo

**Figura No. 12** Toma de muestras





Muestreo No. 4

Aldea San Cristóbal el Bajo



Muestreo No. 4

Aldea San Cristóbal el Bajo



Muestreo No. 4

Aldea San Cristóbal el Bajo



Muestreo No. 5

Aldea San Pedro las Huertas



Muestreo No. 6


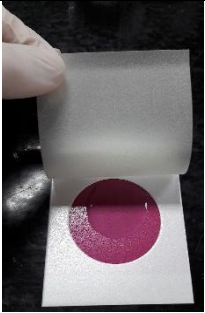

San Mateo Milpas Altas

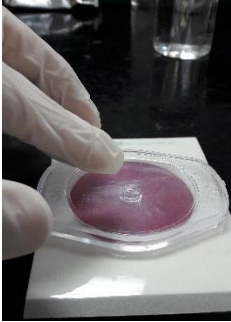

**Fuente:** elaboración propia, (2017)



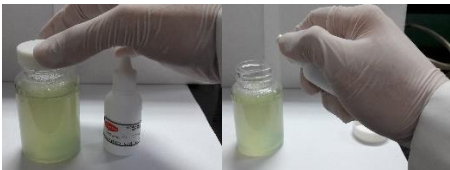

### 9.3. Anexo 3

#### 9.3.1. Preparación de muestras

**Tabla No. 27** Preparación de muestras

Paso No.	Explicación	Imagen
<b>Test Placas Petrifilm™</b>		
1	Se tomó 1 mL de muestra con la ayuda de la pipeta.	
2	Se dejó caer el mL de muestra en el centro de la Placa Petrifilm™.	
3	Con precaución se dejó caer la película superior de la Placa para evitar formación de burbujas de aire.	

Paso No.	Explicación	Imagen
4	Con ayuda de la parte lisa del dispersor se presionó sobre la placa para distribuir toda la muestra uniformemente.	
<b>Test Readycult®</b>		
1	Se golpeó la cápsula en la parte inferior para bajar todos los gránulos.	
2	Se abrió la cápsula en la parte superior evitando contaminar.	
3	Se adicionó el contenido de la cápsula al frasco.	
4	Se cerró y se agitó hasta que se disolvió todo el medio.	

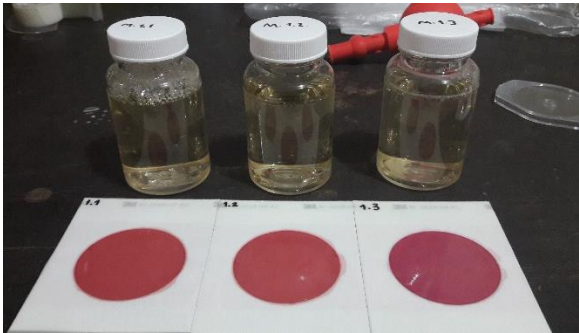
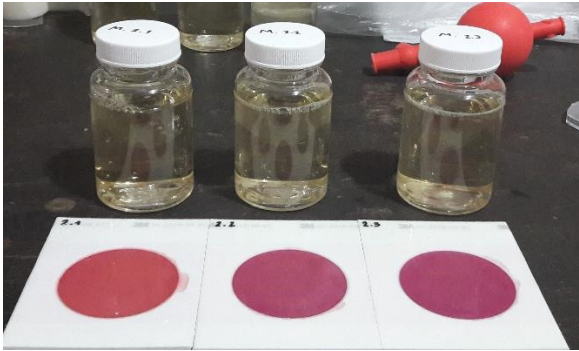
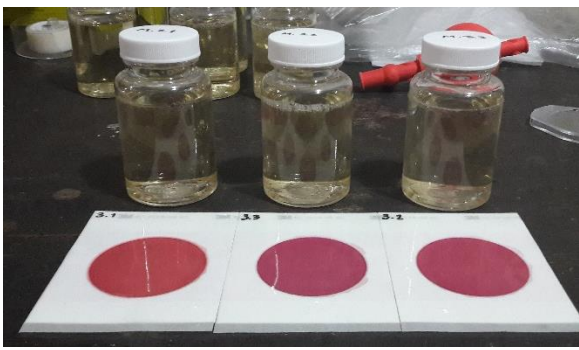
Paso No.	Explicación	Imagen
5	Se dejó muestra preparada en incubación por 24 horas.	
<b>Prueba Confirmativa</b>		
1	Se preparó reactivo y muestra para prueba de verificación.	
2	Se abrió muestra luego de 24 horas de incubación y se abrió el reactivo del reactivo de Kovacs.	
3	<p>Se adicionó 20 gotas de reactivo de Kovacs para corroborar presencia de <i>E. coli</i>.</p> <p>Se esperó para observar la formación de anillo de color característico para verificar si la prueba es positiva a o negativa para <i>E. coli</i>.</p>	

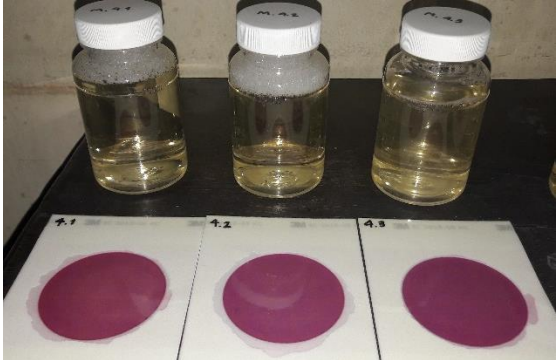
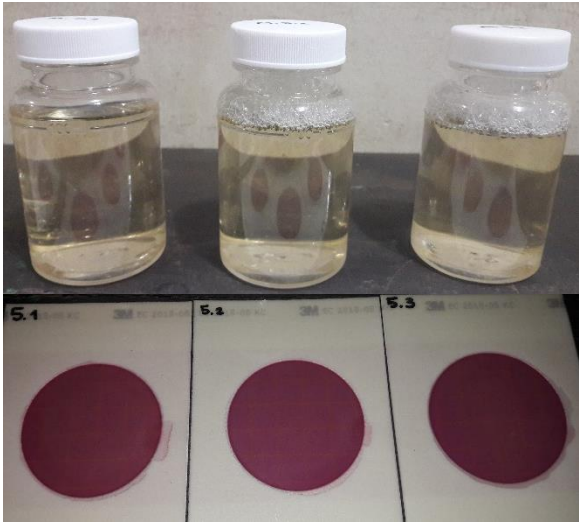
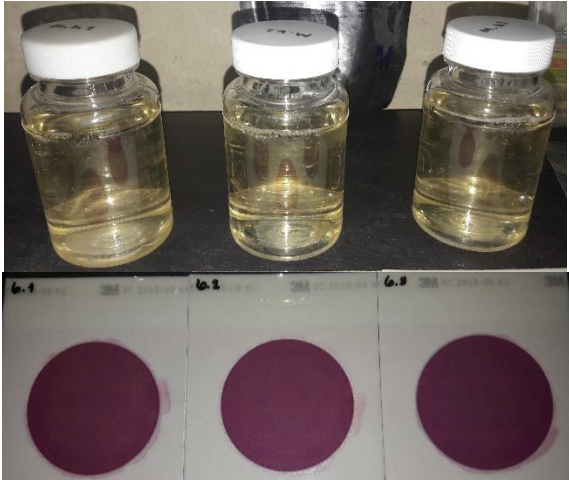
**Fuente:** elaboración propia, (2017)

### 9.3.2. Inoculación de muestras

En la siguiente tabla se presenta las pruebas preparadas para ser sometidas al proceso de incubación.

**Tabla No. 28** Muestras preparadas para la incubación

Número de Muestreo	Imagen	Descripción
1		De izquierda a derecha: muestra 1.1, 1.2, 1.3
2		De izquierda a derecha: muestra 2.1, 2.2, 2.3
3		De izquierda a derecha: muestra 3.1, 3.2, 3.3

Número de Muestreo	Imagen	Descripción
4		De izquierda a derecha: muestra 4.1, 4.2, 4.3
5		De izquierda a derecha: muestra 5.1, 5.2, 5.3
6		De izquierda a derecha: muestra 6.1, 6.2, 6.3

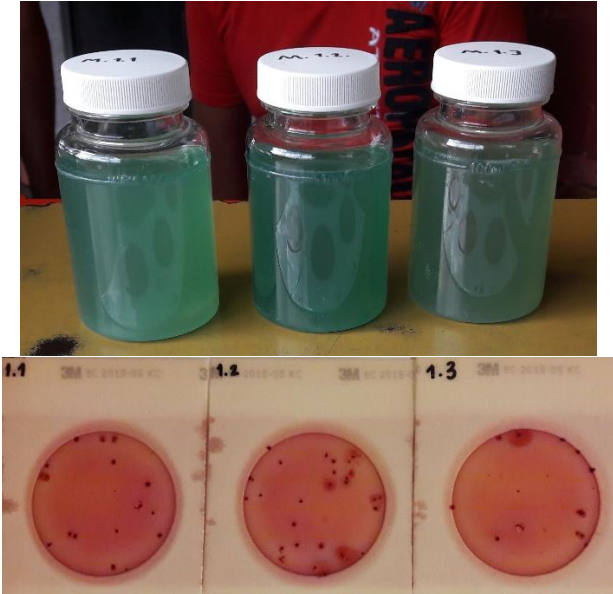
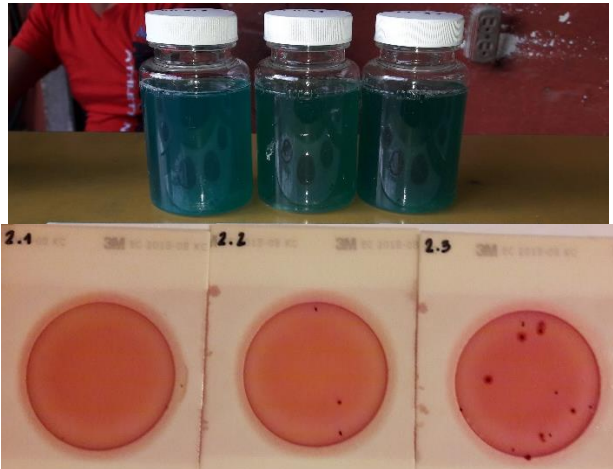
Fuente: elaboración propia, (2017)

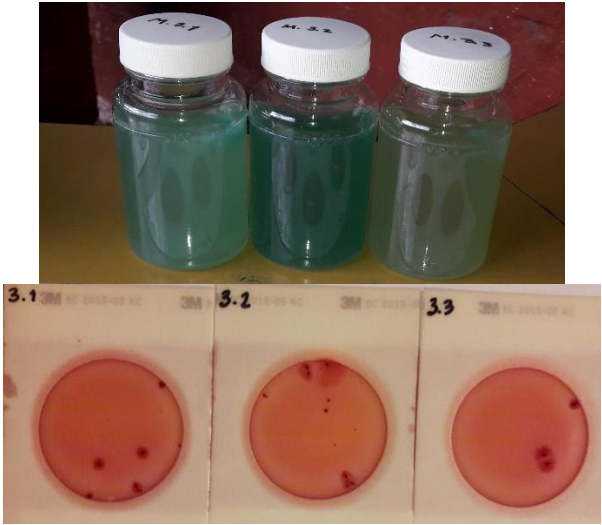
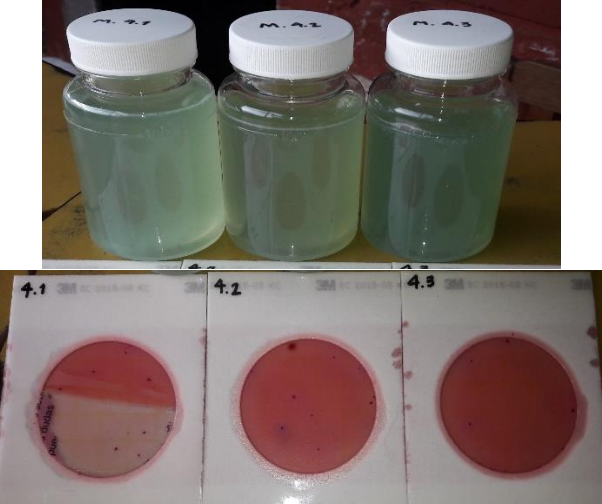
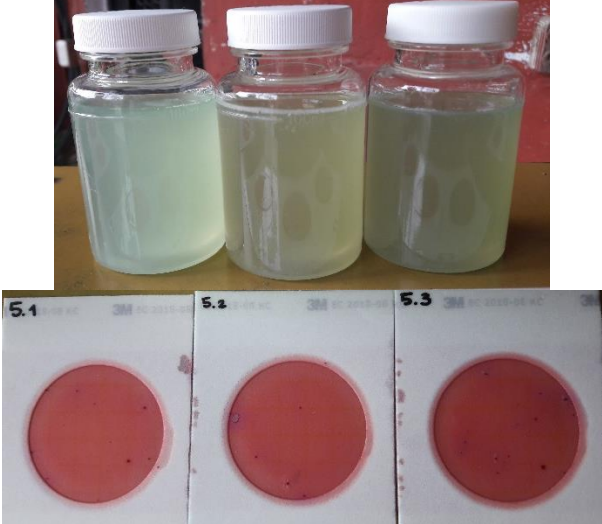


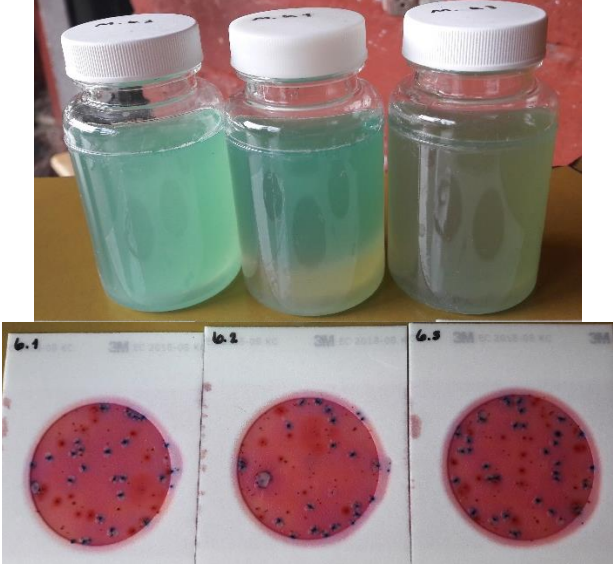
### 9.3.3. Lectura de resultados

En la siguiente tabla se presenta los resultados de ambas pruebas por muestra luego del proceso de incubación.

**Tabla No. 29** Resultados de muestras (posterior a  $48 \pm 4$  horas de incubación para prueba Readycult® y  $24 \pm 4$  horas para la prueba Petrifilm™)



Número de Muestreo	Imagen
1	 <p>The image for sample 1 shows three glass bottles containing a greenish liquid. Below them are three Petrifilm discs. The first two discs, labeled 1.1 and 1.2, show numerous small, dark, circular colonies. The third disc, labeled 1.3, shows a few scattered colonies.</p>
2	 <p>The image for sample 2 shows three glass bottles containing a blue liquid. Below them are three Petrifilm discs. The first two discs, labeled 2.1 and 2.2, show a uniform, light-colored surface with no visible colonies. The third disc, labeled 2.3, shows several dark, circular colonies.</p>









Número de Muestreo	Imagen
3	 <p>Three bottles of green liquid with white caps labeled M.21, M.22, and M.23. Below them are three circular agar plates labeled 3.1, 3.2, and 3.3, each showing a red agar surface with several small dark spots.</p>
4	 <p>Three bottles of light green liquid with white caps labeled M.21, M.22, and M.23. Below them are three circular agar plates labeled 4.1, 4.2, and 4.3, each showing a red agar surface with several small dark spots.</p>
5	 <p>Three bottles of light green liquid with white caps. Below them are three circular agar plates labeled 5.1, 5.2, and 5.3, each showing a red agar surface with several small dark spots.</p>









Número de Muestreo	Imagen
6	









Fuente: elaboración propia, (2017)









Tabla No. 30 Prueba confirmación de *E. coli* en Test Readycult®



Número de Muestra	Test Readycult®		
	Cambio / viraje de color a verde – azul (Positivo+ / Negativo-)	Reacción de Indol (Positivo + / Negativo -)	Microorganismo Identificado
1.1	 Positivo (+)	 Positivo (+)	Coliformes Totales <i>E. coli</i>

Número de Muestra	Test Readycult®		
	Cambio / viraje de color a verde – azul (Positivo+ / Negativo-)	Reacción de Indol (Positivo + / Negativo -)	Microorganismo Identificado
1.2	 Positivo (+)	 Positivo (+)	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
1.3	 Positivo (+)	 Positivo (+)	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
2.1	 Positivo (+)	 Positivo (+)	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
2.2	 Positivo (+)	 Positivo (+)	Coliformes Totales <i>E. coli</i>

Número de Muestra	Test Readycult®		
	Cambio / viraje de color a verde – azul (Positivo+ / Negativo-)	Reacción de Indol (Positivo + / Negativo -)	Microorganismo Identificado
2.3	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
3.1	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
3.2	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
3.3	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>

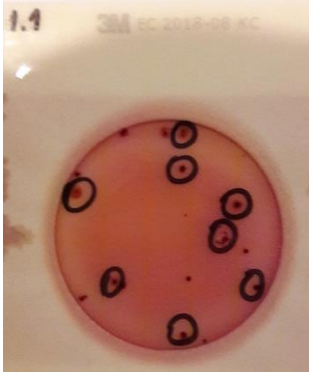
Número de Muestra	Test Readycult®		
	Cambio / viraje de color a verde – azul (Positivo+ / Negativo-)	Reacción de Indol (Positivo + / Negativo -)	Microorganismo Identificado
4.1	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Negativo (-)</p>	Coliformes Totales
4.2	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Negativo (-)</p>	Coliformes Totales
4.3	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Negativo (-)</p>	Coliformes Totales
5.1	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>

Número de Muestra	Test Readycult®		
	Cambio / viraje de color a verde – azul (Positivo+ / Negativo-)	Reacción de Indol (Positivo + / Negativo -)	Microorganismo Identificado
5.2	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
5.3	 <p>Negativo (-)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
6.1	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>
6.2	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>

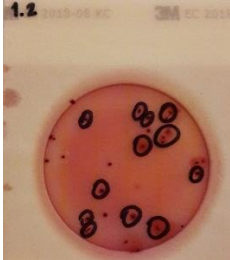



Número de Muestra	Test ReadyCult®		
	Cambio / viraje de color a verde – azul (Positivo+ / Negativo-)	Reacción de Indol (Positivo + / Negativo -)	Microorganismo Identificado
6.3	 <p>Positivo (+)</p>	 <p>Positivo (+)</p>	Coliformes Totales <i>E. coli</i>

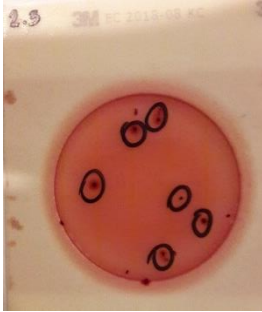
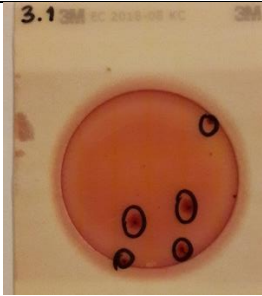


Fuente: elaboración propia, (2017)

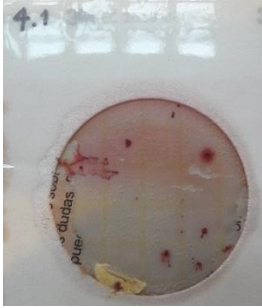
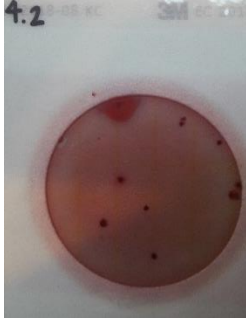
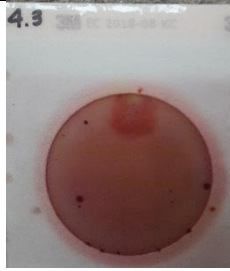

Tabla No. 31 Recuento e identificación de *E. coli* en Placas Petrifilm™

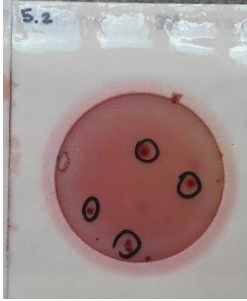
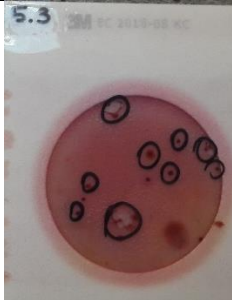

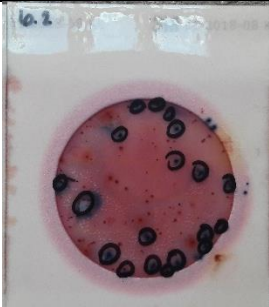
Número de Muestra	Test Petrifilm™		
	Crecimiento de Colonias Indicadoras (Positivo + / Negativo -)	Cantidad de Coliformes (Número UFC Observadas)	Cantidad de UFC con Formación de Burbujas de Gas y / o Coloración azul (# de Colonias <i>E. coli</i> )
1.1	 <p>Positivo (+)</p>	18	8

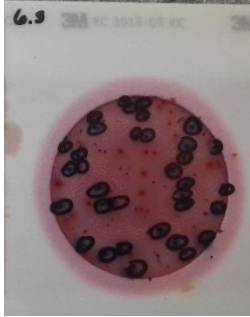


Número de Muestra	Test Petrifilm™		
	Crecimiento de Colonias Indicadoras (Positivo + / Negativo -)	Cantidad de Coliformes (Número UFC Observadas)	Cantidad de UFC con Formación de Burbujas de Gas y / o Coloración azul (# de Colonias <i>E. coli</i> )
1.2	 <p>Positivo (+)</p>	24	12
1.3	 <p>Positivo (+)</p>	20	11
2.1	 <p>Positivo (+)</p>	4	4
2.2	 <p>Positivo (+)</p>	3	3

Número de Muestra	Test Petrifilm™		
	Crecimiento de Colonias Indicadoras (Positivo + / Negativo -)	Cantidad de Coliformes (Número UFC Observadas)	Cantidad de UFC con Formación de Burbujas de Gas y / o Coloración azul (# de Colonias <i>E. coli</i> )
2.3	 <p>Positivo (+)</p>	10	6
3.1	 <p>Positivo (+)</p>	11	5
3.2	 <p>Positivo (+)</p>	9	6
3.3	 <p>Positivo (+)</p>	6	3

Número de Muestra	Test Petrifilm™		
	Crecimiento de Colonias Indicadoras (Positivo + / Negativo -)	Cantidad de Coliformes (Número UFC Observadas)	Cantidad de UFC con Formación de Burbujas de Gas y / o Coloración azul (# de Colonias <i>E. coli</i> )
4.1	 <p>Positivo (+)</p>	9	0
4.2	 <p>Positivo (+)</p>	8	0
4.3	 <p>Positivo (+)</p>	10	0
5.1	 <p>Positivo (+)</p>	12	8

Número de Muestra	Test Petrifilm™		
	Crecimiento de Colonias Indicadoras (Positivo + / Negativo -)	Cantidad de Coliformes (Número UFC Observadas)	Cantidad de UFC con Formación de Burbujas de Gas y / o Coloración azul (# de Colonias <i>E. coli</i> )
5.2	 <p>Positivo (+)</p>	9	4
5.3	 <p>Positivo (+)</p>	15	9
6.1	 <p>Positivo (+)</p>	65	23
6.2	 <p>Positivo (+)</p>	77	20

Número de Muestra	Test Petrifilm™		
	Crecimiento de Colonias Indicadoras (Positivo + / Negativo -)	Cantidad de Coliformes (Número UFC Observadas)	Cantidad de UFC con Formación de Burbujas de Gas y / o Coloración azul (# de Colonias <i>E. coli</i> )
6.3	 <p>Positivo (+)</p>	88	34

Fuente: elaboración propia, (2017)

## 9.4. Anexo 4

### 9.4.1. Datos calculados

**Tabla No. 32** Test ReadyCult®

# De Muestra	Resultado (Presencia <i>E. coli</i> )	Valor Asignado	Desviación Estándar
1	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
2	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
3	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
4	Falso	0	0
	Falso	0	0
	Falso	0	0
5	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
6	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0
	Verdadero	1	0

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Tabla No. 33** Test Petrifilm™

# De Muestra	# UFC	$\bar{X}$	S	# UFC E.	$\bar{X}$	S
		# UFC	# UFC	<i>coli</i>	# UFC	# UFC
1	18	20.52	3.06	8	10.18	2.08
	24			12		
	20			11		
2	4	4.93	3.79	4	4.16	1.53
	3			3		
	10			6		
3	11	8.41	2.52	5	4.48	1.53
	9			6		
	6			3		
4	9	8.96	1	0	0	0
	8			0		
	10			0		
5	12	11.74	3	8	6.60	2.65
	9			4		
	15			9		
6	65	76.08	11.50	23	25.00	7.37
	77			20		
	88			34		

**Fuente:** elaboración propia, (2017)

## 9.5. Anexo 5

### 9.5.1. Fichas técnicas



#### FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Fecha de revisión 10.10.2016

Versión 2.2

---

#### SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

##### 1.1 Identificador del producto

Artículo número	101298
Denominación	Coliformes 100 Readycult®
Número de registro REACH	Este producto es una mezcla. Número de registro REACH véase sección 3.

##### 1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados	Reactivo para diagnóstico in vitro Para informaciones adicionales a usos refiérase al portal Merck Chemicals ( <a href="http://www.merckgroup.com">www.merckgroup.com</a> ; for USA/Canada <a href="http://www.emdgroup.com">www.emdgroup.com</a> ).
--------------------	---

##### 1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía	Merck KGaA * 64271 Darmstadt * Alemania * Tel: +49 6151 72-0
Departamento Responsable	LS-QHC * e-mail: <a href="mailto:prodsafe@merckgroup.com">prodsafe@merckgroup.com</a>

##### 1.4 Teléfono de emergencia Instituto Nacional de Toxicología \* Madrid \* Tel: 91 562 04 20

---

#### SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

##### 2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Esta mezcla no está clasificada como peligrosa según la legislación de la Unión Europea.

##### 2.2 Elementos de la etiqueta

###### Etiquetado (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

##### 2.3 Otros peligros

Ninguno conocido.



FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD  
de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 101298  
Denominación Coliformes 100 Readycult®

---

---

**SECCIÓN 3. Composición/Información sobre los componentes**

Naturaleza química Mezcla de componentes inorgánicos y orgánicos

**3.1 Sustancia**

No aplicable

**3.2 Mezcla**

Observaciones Ningún ingrediente peligroso según la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

---

**SECCIÓN 4. Primeros auxilios**

**4.1 Descripción de los primeros auxilios**

Tras inhalación: aire fresco.

En caso de contacto con la piel: Quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas.  
Aclararse la piel con agua/ ducharse.

Tras contacto con los ojos: aclarar con abundante agua. Retirar las lentillas.

Tras ingestión: hacer beber agua (máximo 2 vasos), en caso de malestar consultar al médico.

**4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados**

No nos consta una descripción de síntomas tóxicos.

**4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente**

No hay información disponible.

---

**SECCIÓN 5. Medidas de lucha contra incendios**

**5.1 Medios de extinción**

*Medios de extinción apropiados*

Agua, Espuma, Polvo seco, Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)

*Medios de extinción no apropiados*

No existen limitaciones de agentes extinguidores para esta sustancia/mezcla.

## **5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla**

Mezcla con componentes combustibles.

En caso de incendio posible formación de gases de combustión o vapores peligrosos.

El fuego puede provocar emanaciones de:

Gas cloruro de hidrógeno, Oxidos de fósforo

## **5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios**

*Equipo de protección especial para el personal de lucha contra incendios*

Permanencia en el área de riesgo sólo con sistemas de respiración artificiales e independientes del ambiente. Protección de la piel mediante observación de una distancia de seguridad y uso de ropa protectora adecuada .

*Otros datos*

Impedir la contaminación de las aguas superficiales o subterráneas por el agua que ha servido a la extinción de incendios. Reprimir los gases/vapores/neblinas con agua pulverizada.

---

## **SECCIÓN 6. Medidas en caso de vertido accidental**

### **6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia**

Indicaciones para el personal que no forma parte de los servicios de emergencia: Evitar la inhalación de polvo. Evacúe el área de peligro, respete los procedimientos de emergencia, consulte con expertos.

Consejos para el personal de emergencia: Equipo protector véase sección 8.

### **6.2 Precauciones relativas al medio ambiente**

No tirar los residuos por el desagüe.

### **6.3 Métodos y material de contención y de limpieza**

Cubra las alcantarillas. Recoja, una y aspire los derrames.

Observe posibles restricciones de materiales (véanse indicaciones en las secciones 7 o 10).

Recoger en seco y proceder a la eliminación de residuos. Aclarar. Evitar la formación de polvo.

### **6.4 Referencia a otras secciones**

Para indicaciones sobre el tratamiento de residuos, véase sección 13.

---

## **SECCIÓN 7. Manipulación y almacenamiento**

### **7.1 Precauciones para una manipulación segura**

*Consejos para una manipulación segura*

Observar las indicaciones de la etiqueta.

*Medidas de higiene*

Sustituir la ropa contaminada. Lavar manos al término del trabajo.

### **7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades**

*Condiciones de almacenamiento*

Bien cerrado. Seco.

Temperatura de almacenaje recomendada indicada en la etiqueta del producto.

### **7.3 Usos específicos finales**

Fuera de los usos indicados en la sección 1.2 no se previenen aplicaciones finales adicionales.

## SECCIÓN 8. Controles de exposición/protección individual

### 8.1 Parámetros de control

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

### 8.2 Controles de la exposición

#### Disposiciones de ingeniería

Medidas técnicas y observación de métodos adecuados de trabajo tienen prioridad ante el uso de equipos de protección personal.

Véase sección 7.1.

#### Medidas de protección individual

Los tipos de auxiliares para protección del cuerpo deben elegirse específicamente según el puesto de trabajo en función de la concentración y cantidad de la sustancia peligrosa. Debería aclararse con el suministrador la estabilidad de los medios protectores frente a los productos químicos.

##### *Protección de los ojos / la cara*

Gafas de seguridad

##### *Protección de las manos*

Sumerción:

Material del guante: Caucho nitrilo

Espesor del guante: 0,11 mm

tiempo de penetración: > 480 min

Salpicaduras:

Material del guante: Caucho nitrilo

Espesor del guante: 0,11 mm

tiempo de penetración: > 480 min

Los guantes de protección indicados deben cumplir con las especificaciones de la Directiva 89/686/EEC y con su norma resultante EN374, por ejemplo KCL 741 Dermatril® L (Sumerción), KCL 741 Dermatril® L (Salpicaduras).

Los tiempos de ruptura mencionados anteriormente han sido determinados con muestras de material de los tipos de guantes recomendados en mediciones de laboratorio de KCL según EN374.

Esta recomendación solo es válida para el producto mencionado en la ficha de datos de seguridad, suministrado por nosotros y para el fin indicado. Al disolver o mezclar en otras sustancias y cuando las condiciones difieran de las indicadas en EN374, debe dirigirse al suministrador de guantes con distintivo CE (por ejem. KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Internet: [www.kcl.de](http://www.kcl.de))

##### *Protección respiratoria*

necesaria en presencia de polvo.

Tipo de Filtro recomendado: Filtro P 1

El empresario debe garantizar que el mantenimiento, la limpieza y la prueba técnica de los protectores respiratorios se hagan según las instrucciones del productor de las mismas. Estas medidas deben ser documentadas debidamente.

**Controles de exposición medioambiental**

No tirar los residuos por el desagüe.

---

**SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas****9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas**

Forma	granulado
Color	marrón claro
Olor	péptico
Umbral olfativo	No hay información disponible.
pH	6,6 - 7,0 a 17 g/l 25 °C
Punto de fusión	No hay información disponible.
Punto de ebullición	No hay información disponible.
Punto de inflamación	No hay información disponible.
Tasa de evaporación	No hay información disponible.
Inflamabilidad (sólido, gas)	No hay información disponible.
Límite de explosión, inferior	No hay información disponible.
Límite de explosión, superior	No hay información disponible.
Presión de vapor	No hay información disponible.
Densidad relativa del vapor	No hay información disponible.
Densidad	No hay información disponible.
Densidad relativa	No hay información disponible.
Solubilidad en agua	17 g/l a 20 °C
Coefficiente de reparto n-octanol/agua	No hay información disponible.
Temperatura de auto-inflamación	No hay información disponible.
Temperatura de descomposición	No hay información disponible.
Viscosidad, dinámica	No hay información disponible.
Propiedades explosivas	No clasificado/a como explosivo/a.

Propiedades comburentes      ningún

## 9.2 Otros datos

ningún

---

## SECCIÓN 10. Estabilidad y reactividad

### 10.1 Reactividad

Válido en general para sustancias y mezclas orgánicas combustibles: en caso de esparcimiento fino, en estado arremolinado, debe contarse en general con peligro de explosión.

### 10.2 Estabilidad química

El producto es químicamente estable bajo condiciones normales (a temperatura ambiental).

### 10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

información no disponible

### 10.4 Condiciones que deben evitarse

información no disponible

### 10.5 Materiales incompatibles

información no disponible

### 10.6 Productos de descomposición peligrosos

información no disponible

---

## SECCIÓN 11. Información toxicológica

### 11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

#### Mezcla

#### *Toxicidad oral aguda*

Esta información no está disponible.

#### *Toxicidad aguda por inhalación*

Esta información no está disponible.

#### *Toxicidad cutánea aguda*

Estimación de la toxicidad aguda : > 2.000 mg/kg

Método de cálculo

#### *Irritación de la piel*

Esta información no está disponible.

#### *Irritación ocular*

Esta información no está disponible.

#### *Sensibilización*

Esta información no está disponible.

#### *Mutagenicidad en células germinales*

Esta información no está disponible.

#### *Carcinogenicidad*

Esta información no está disponible.

*Toxicidad para la reproducción*

Esta información no está disponible.

*Teratogenicidad*

Esta información no está disponible.

*Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única*

Esta información no está disponible.

*Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas*

Esta información no está disponible.

*Peligro de aspiración*

Esta información no está disponible.

**Fuente:** Merck Millipore, (2008)

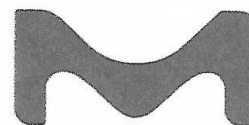
### 9.5.2. Fichas de datos de seguridad

**Tabla No. 34** Toxicidades y antídotos de reactivos

TOXICIDAD / ANTÍDOTOS				
COMPUESTO	PIEL	OJOS	INHALACIÓN	INGESTIÓN
<b>Readycult®</b>	En caso de contacto con la piel se debe retirar las prendas contaminadas. Lavar con abundante agua.	En caso de contacto directo con los ojos, lavar con abundante agua y remover lentes de contacto.	En caso de ser inhalado debe llevarse a un espacio exterior para recibir aire fresco.	En caso de ingesta, se debe dar de beber a la víctima agua (2 vasos como máximo). Consultar a un médico si malestares persisten.
<b>Reactivo de Kovacs</b>	Provoca irritación cutánea. Tras contacto con la piel lavar con abundante agua y eliminar ropa contaminada.	Provoca lesiones oculares graves. Tras contacto con los ojos lavar con abundante agua, acudir de inmediato con oftalmólogo.	Puede irritar las vías respiratorias. Tras inhalación se debe trasladar la víctima a un lugar con aire fresco.	Nocivo en caso de ingestión. Tras ingestión se debe tener cuidado con vómitos. ¡Peligro de Aspiración!

**Fuente:** Merck Millipore, (2016)

### 9.5.3. Certificado de análisis



## Certificate of Analysis

1.01298.0001 Coliforms 100 Readycult®  
Batch VM664598

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear	clear
Appearance (colour)	yellowish	yellowish
pH-value (25 °C)	6.6 - 7.0	6.8
Sterility test (48 hrs., 35 °C)	passes test	passes test

	Spec. Values	Batch Values
Inoculum on reference medium (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	10 - 100	16
Inoculum on reference medium (Citrobacter freundii ATCC 8090)	10 - 100	42
Inoculum on reference medium (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	10 - 100	27
Inoculum on reference medium (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	10 - 100	20
Inoculum on reference medium (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	≥ 1000	≥ 1000
Growth (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	+	+
Growth (Citrobacter freundii ATCC 8090)	+	+
Growth (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	+	+
Growth (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	+	+
Growth (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	no limit	+
colour change to blue-green (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	+	+
colour change to blue-green (Citrobacter freundii ATCC 8090)	+	+
colour change to blue-green (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	+	+
colour change to blue-green (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	-	-
colour change to blue-green (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	-	-
Fluorescence (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	+	+
Fluorescence (Citrobacter freundii ATCC 8090)	-	-
Fluorescence (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	-	-
Fluorescence (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	-	-
Fluorescence (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	-	-

# Certificate of Analysis

---

1.01298.0001 Coliforms 100 ReadyCult®  
Batch VM664598

---

Indole formation (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	+	+
Indole formation (Citrobacter freundii ATCC 8090)	-	-
Indole formation (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	-	-
Indole formation (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	-	-

Incubation: 24 hrs.; 35 °C; aerobic.

Date of release (DD.MM.YYYY) 06.02.2015  
Expiry date (DD.MM.YYYY) 01.07.2019

Stefanie Fischer  
Responsible laboratory manager quality control

---

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

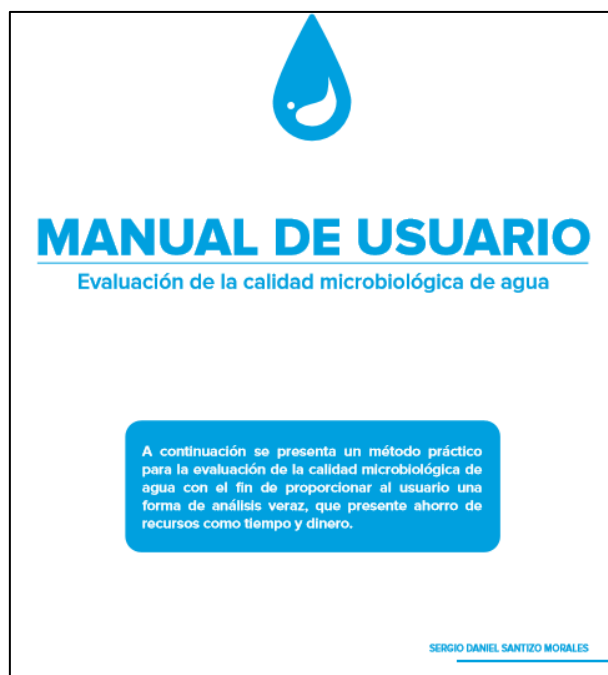
**Fuente:** Merck Millipore, (2017)



## 9.6. Anexo 6

### 9.6.1. Manual de usuario

A continuación se presenta el manual elaborado como aporte para el trabajo.



## CONTENIDO

1. Materiales / Equipo.....	3
2. Metodología.....	7
2.1. Muestreo.....	7
2.2. Preparación de Pruebas.....	8
2.3. Interpretación de Resultados.....	13
3. Recomendaciones.....	17
4. Anexos.....	19
4.1. Métodos Rápidos para la Desinfección de Agua.....	19
4.2. Productos y Proveedores.....	20

**2**

### 1. MATERIALES / EQUIPO

Para poder realizar los respectivos análisis de agua se requiere de ciertos materiales indispensables. A continuación se detalla cada uno con sus características y función.

**- Recolectores de Muestra:**

1. Frascos plásticos estériles. Son utilizados para la toma de muestras. Cuentan con escalas que indican la cantidad de muestra que se debe recolectar.
2. Para los análisis se hará uso de Frascos con Tiosulfato de sodio para Test Presencia – Ausencia. Los mismos en presentación individual.

### RECOLECTORES DE MUESTRA

**1**

← Pastilla

**Pastillas de tiosulfato de sodio**

**2**

← 100ml

**Medida de volumen de muestra (100 mL)**

**3**

**• Pipetas Esterilizadas:**

Equipo esterilizado que se utiliza para tomar muestras con volúmenes específicos. Cuentan con escalas definidas. Para el análisis que se realizará se utilizarán pipetas de 1mL desechables.

Para los análisis se hará uso de pipetas graduadas de poliestireno de 1 mL, las cuales vienen en empaques individuales esterilizados.

**PIPETAS ESTÉRILES**



**• Bulbo para Pipeta:**

Equipo empleado para realizar la succión de líquido a través de las pipetas.

**DIFERENTES TIPOS DE BULBO PARA PIPETAS**



4

**• Petrifilm E. Coll:**

Son placas que facilitan el recuento de coliformes y de E. Coll en una sola prueba. Ahorran tiempo, aumentan la productividad, e implica menores costos que métodos convencionales de análisis microbiano.

Las Placas Petrifilm® son un producto patentado por 3M®. Se encuentra en presentación de paquete de 25 unidades individuales.

**PLACAS DE PETRIFILM®**



**• Dispersores:**

También llamados aplicadores, son discos con los cuales se homogeniza la muestra de agua dentro de las Placas Petrifilm® para distribuir el inóculo por toda la zona circular.

**KIT PETRIFILM®**



5

**• ReadiCult® Coliformes:**

Es un test de presencia/ausencia para la detección simultánea de coliformes totales y E. Coll en el análisis de aguas.

Para los análisis se hará uso de ReadiCult®, Producto patentado por Merck®. Se encuentra en presentación de paquete con 20 unidades. Cada una para llevar a cabo una prueba de 100 mL de agua.

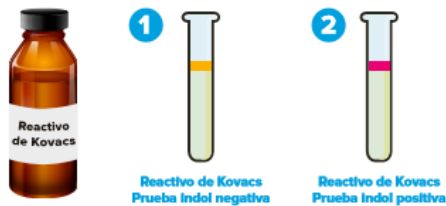
**EMPAQUE INDIVIDUAL DE READY CULT**



**• Reactivo de Kovacs:**

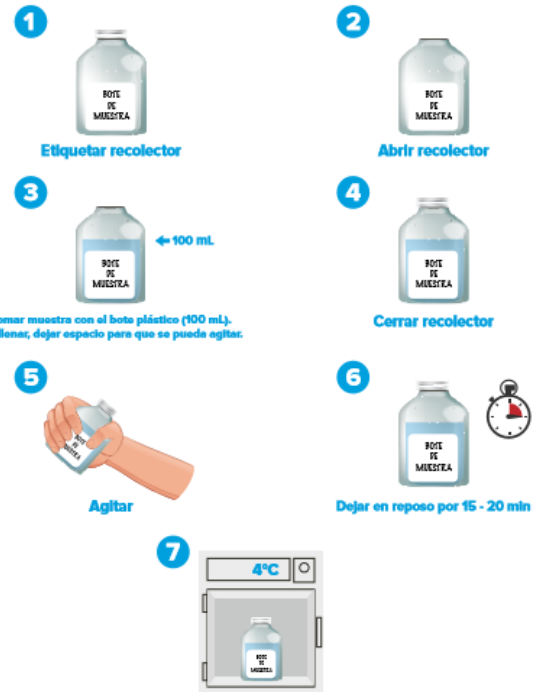
Reactivo empleado en la prueba de Indol (prueba bioquímica realizada en especies bacterianas).

Se encuentra en presentación de un frasco con 25 mL de reactivo. El cual debe almacenarse en frío (temperatura menor o igual a 8 °C) para mantener las propiedades y conservar el reactivo.



6

**MUESTREO**



7

## 2.2. PREPARACIÓN DE PRUEBAS

¡Se recomienda hacer uso de Guantes de látex para el cuidado de las muestras, evitando así la contaminación de las mismas!

→ Identificar cada prueba con nombre, fecha y hora en que se tomó la muestra.

### 2.2.1 Petrifilm

- La muestra de agua se debe colocar únicamente en el centro de la placa.
- Las colonias azules usualmente son visibles en 8 a 12 horas, las colonias crecen a un tamaño más grande y produce burbujas de gas con más tiempo de incubación.
- Los parámetros ideales de temperatura son de 35 a 44 grados centígrados.

**\*\*Observaciones:** en el momento de colocar la muestra de agua en las placas, ésta se debe colocar únicamente en el centro de la placa. Las colonias azules usualmente son visibles en 8 a 12 horas, las colonias crecen a un tamaño más grande y produce burbujas de gas con más tiempo de incubación. Los parámetros ideales de temperatura son de 35 a 44 grados centígrados pueden destruir la bacteria previo a que se complete la incubación.

8

### 2.2.2. Medio Readycult

→ Si existe alta contaminación, resultados se observan después de 10 horas de incubación, si la contaminación es menor se observa después de 18 horas.

→ Los parámetros ideales de temperatura son de 35 a 44 °C.

**\*\*Observaciones:** Los parámetros ideales de temperatura son de 35 a 44 °C. Más de 44 °C pueden destruir la bacteria previo a que se complete la incubación.

## DIAGRAMA NO. 2

### METODOLOGÍA READCULT®



- 1 • Tomar cápsula y golpear suavemente para bajar todos los gránulos.  
• Abrir Frasco.  
• Doblar parte superior.



- 2 • Agregar dosis de Readycult en 100 mL de muestra.  
• Tapar Frasco cuidadosamente.  
• Agitar frasco hasta disolver todos los gránulos.



- 3 • Incubar.  
• 24 horas a temperatura corporal (35 - 37 °C).  
• 48 horas a temperatura ambiente (20 - 25 °C).



- 4 • Pruebas de Identificación.  
• Interpretar.

Positiva Negativa E-coli confirmado E-coli confirmado

10

## DIAGRAMA NO. 1 METODOLOGÍA PETRIFILM E. COLI



- 1 Colocar placa en superficie plana y nivelada.  
Levantar la película superior



- 2 Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm, colocar muestra en el centro de película interior.



- 3 Bajar con cuidado la película superior.  
No dejar caer.



- 4 Con el lado liso hacia abajo, colocar dispersor en la película superior sobre inóculo.



- 5 Presionar suavemente para distribuir el inóculo. No deslizar Dispersor sobre película.



- 6 Levantar dispersor y esperar que solidifique el gel.



- 7 Incubar.  
Junto al cuerpo por 24 horas (30 - 37 °C).



- 8 Interpretar resultados.

9

## 2.3. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

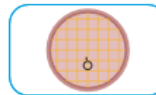
### 2.3.1 Petrifilm

• Puntos de color azul con burbujas de gas → presencia de colonias de E. Coli. El agua está contaminada y debe ser tratada antes de consumirse.

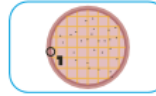
• Colonias de color rojo o sin gas → no hay presencia de colonias de E. Coli.

• Petrifilm® de color azul → altas concentraciones de colonias de E. Coli.

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE PLACAS DE PETRIFILM™

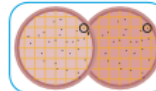


No se observa crecimiento de E. Coli ni de coliformes.



Se observa crecimiento de E. Coli y de Coliformes.

No se toman en cuenta colonias que aparecen sobre la barrera de espuma. Ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo (Colonias como la del punto 1).



Se observa Presencia de E. Coli

Cualquier punto azul es una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de E. Coli.

11

**MNPIC**  
Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPIC (Muy numerosas para contar), tienen una o más de las siguientes características:  
Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.

**MNPIC**  
Una alta concentración de E. coli puede causar que el área de crecimiento se coloree azul púrpura.

**Organismos No Coliformes**  
Cuando un número alto de organismos no coliformes están presentes en las placas Petrifilm EC, el gel puede tornarse amarillo.

**2.3.2 Readycult:**

- **Negativo:** sin cambio de color. El caldo permanece ligeramente amarillo indicando así ausencia de Coliformes y E. Coli.
- **Coliformes Totales:** cualquier cambio de color del caldo a azul – verdoso, aunque sea solo en su parte superior, confirma la presencia de coliformes.
- **E. Coli:**
  - Comprobar si hay fluorescencia en el caldo colocando frente a los frascos una lámpara UV (365 nm). Una luz fluorescente azul indica la presencia de E. Coli. ¡Proteger los ojos de la luz UV directa!
  - Para confirmar la presencia de E. Coli en el Recipiente, añadir unas gotas de reactivo de Kovacs (reacción de Indol). Un anillo color rojo – fucsia confirma la presencia de E. Coli

**12**

**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS READYCULT**

**Negativo**  
El caldo permanece claro después de 24 horas de incubación.

**Negativo**  
El caldo se pone turbio después de la incubación, pero permanece amarillo.

**Coliform Positiva**   **Coliform Negativo**  
Comparativo Positivo Vrs Negativo

**E. Coli / Coliformes**  
Cualquier cambio de color es considerado como resultado positivo.

**Positivo coliformes totales / E. Coli**  
El caldo se torna de color azul verdoso.

**E. Coli Positivo**  
Indol Positiva

**13**

**2.3.3. Interpretación Agua Consumo Humano:**

Los resultados de los análisis suelen observarse después de 12 a 18 horas de incubación a 35 °C. Los mismos pueden proporcionar una evaluación del riesgo para la salud por el uso de las fuentes de agua que están contaminadas y pueden producir alguna alteración en la salud humana.

Los datos se pueden correlacionar con los establecidos por las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para agua potable que:

- Establece como valor guía ausencia de E. Coli en 100 mL de agua para considerar como apta para consumo humano.

Cabe destacar que los análisis con Readycult® están validados y aprobados por US EPA, y cumple con las normas COGUANOR 29001 para Agua potable y las normas de la OMS.

**Tabla No. 1**

**Evaluación del Riesgo de Fuentes de Agua para uso Potable**

Nivel de Riesgo para la Salud	E. Coli / Muestra	Resultados del Análisis Readycult® (Indol)	Resultados del Análisis de Petrifilm™ (azul & gas)
<b>Bajo</b>	< 1 / 100 mL	Negativo (-)	0
<b>Medio</b>	1 – 10 / 100 mL	Positivo (+)	0
<b>Alto</b>	1 – 10 / mL	Positivo (+)	1-10
<b>Muy Alto</b>	> 10 / mL	Positivo (+)	> 10

Fuente: Elaboración propia, 2017

**14**

- Se dice que el riesgo de enfermedad es "BAJO" cuando no hay crecimiento de colonias azules con burbujas de gas en las Placas de Petrifilm™, y la prueba con reactivo de Kovacs en Readycult® es Negativa.
- El riesgo será "MEDIO" cuando el análisis con Kovacs en Readycult® es positivo pero las placas de Petrifilm se mantienen claras (sin aparición de colonias indicadoras de crecimiento de E. Coli).
- Si el análisis con Kovacs en Readycult® da positivo y el Petrifilm™ muestra de 1 a 10 colonias indicadoras de E. Coli (colonias azules con gas), el riesgo es "ALTO".
- Si el análisis con Kovacs en Readycult® es positivo y se observa más de 10 colonias azules con gas en el Petrifilm™ el riesgo es "MUY ALTO".

**2.3.4. Desinfección de Agua Contaminada Para Consumo Humano**

En el caso que los análisis sean positivos, haya crecimiento de colonias indicadoras de contaminación y que la interpretación indique un riesgo para la salud el agua analizada debe recibir algún tratamiento físico o químico previo a su consumo para disminuir las repercusiones en la salud del usuario. Dentro de las alternativas que se pueden mencionar se destacan:

- Calentamiento de agua (no es necesario hervir el agua pero se debe alcanzar al menos 65 °C) (Para más información ver anexo 4.1).
- Cloración (Para más información ver anexo 4.1).

**¡Si el análisis de agua resulta positivo en Indicadores de contaminación microbiana, no debe ser consumida sin una desinfección previa!**

**15**

### 2.3.5. Interpretación Agua para Agricultura

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que para el riego de hortalizas de consumo en fresco se recomienda una concentración de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) de E. Coli menor o igual o menor a 1000 / 100 mL.

Existen dos valores límite diferentes: para el riego de hortalizas de consumo en fresco en función de si el sistema de riego evita el contacto con las partes comestibles de la planta (< 1000 UFC de E. Coli / 100 mL) o si el contacto no se evita (< 100 UFC de E. Coli / 100 mL). Basándose en los resultados con el Readycult® y el Petrifilm™ se puede realizar una evaluación del riesgo tal y como se muestra a continuación:

**Tabla No. 2**

**Evaluación del Riesgo para la Salud de Fuentes de Agua para Riego de Hortalizas**

Nivel de Riesgo para la Salud	E. Coli / Muestra	Resultados del Análisis Readycult® (Indol)	Resultados del Análisis de Petrifilm® (azul & gas)
<b>Bajo</b>	< 1 / 100 mL	Negativo (-)	0
<b>Medio</b>	1 – 10 / 100 mL	Positivo (+)	0
<b>Alto</b>	1 – 10 / mL	Positivo (+)	1-10
<b>Muy Alto</b>	> 10 / mL	Positivo (+)	> 10

Fuente: Elaboración propia, 2017

En el caso de que exista un riesgo medio o mayor, el agua puede ser utilizada para horticultura sólo con la aplicación de medidas que impidan o reduzcan al máximo la presencia de patógenos sobre los cultivos como por ejemplo:

- Técnicas que minimicen el contacto con las partes comestibles de las plantas como el riego por goteo o la hidroponía.

16

- Desinfección y / o cocinado del producto final.

Si el riesgo es "MEDIO" se sugiere realizar al menos una de las recomendaciones anteriores, y si el riesgo es "ALTO" se recomienda usar una combinación de dos o más barreras consecutivas antes descritas.

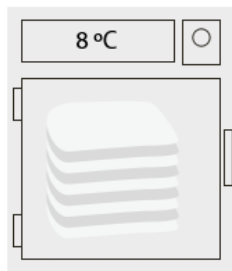
### 3. RECOMENDACIONES

- Usar guantes para minimizar contaminación de muestras.



- Tomada la muestra de agua, agitarla y esperar de 15 a 30 minutos.
- Almacenar muestras un máximo de 6 horas a temperatura ambiente y 24 horas en refrigeración (Temperatura menor a 8 °C). Realizar los análisis antes de los límites establecidos.
- Los paquetes cerrados deben almacenarse a una temperatura menor o igual a los 8 °C. Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad.

17



- Para cerrar un paquete abierto Doblar el extremo y sellarlo con cinta adhesiva para evitar ingreso de humedad, y por lo tanto la alteración de las placas.



- Mantener los empaques cerrados a una temperatura menor o igual a los 25 °C y una humedad relativa del 50%.
- No refrigerar después de que los paquetes hayan sido abiertos.

- Utilizar las Placas Petrifilm™ un máximo de un mes después de abierto el paquete.
- Inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.

18

### 4. ANEXOS

#### 4.1. MÉTODOS RÁPIDOS PARA LA DESINFECCIÓN DE AGUA

**Tabla No. 3**

**Métodos Rápidos para la Desinfección de Agua**

Método	Recomendación	¿Qué Hace?	¿Qué no hace?
<b>Hervir</b>	Llevar agua a punto de ebullición y dejar entinar	Mata a todos los microorganismos patógenos	No elimina la turbiedad. No deja residuos ni trazas de químicos.
<b>Compuestos Clorados 1. Cloro Comercial (Hipoclorito de Sodio)</b>	Para temperatura ambiente típica y temperatura del agua de 25 ° C, el tiempo mínimo de contacto debe ser de 30 min; Aumentar el tiempo de contacto para agua más fría. Para mayor efectividad debe ser agregado posterior a una clarificación. Preparar de acuerdo a las instrucciones. 1. Blanqueador (Cloro comercial 5%) 4 gotas por litro.	Efectivo para matar la mayoría de bacterias y virus. Tiempo de contacto más largo requerido para matar los quistes de Giardia, especialmente cuando el agua está fría.	No es efectivo contra Cryptosporidium.

Fuente: Directrices para la calidad de agua potable, OMS, 2011.

19

#### 4.2. PRODUCTOS Y PROVEEDORES

A continuación se muestra una lista con proveedores de los productos que se necesitan para realizar los análisis explicados con anterioridad. Existen más proveedores, únicamente se listan algunos:

##### Merck Readycult® 100

PCL Guatemala  
Km 22.5 Carretera a El Salvador  
Empresarial Eco Plaza Bodega 303 Fraijanes,  
Guatemala  
Teléfono: (502) 6669 – 9885 / 6  
Móvil: (502) 5019 – 9503

##### Frasco con tiosulfato de sodio para Test Presencia - Ausencia

PCL Guatemala  
Km 22.5 Carretera a El Salvador  
Empresarial Eco Plaza Bodega 303 Fraijanes,  
Guatemala  
Teléfono: (502) 6669 – 9885 / 6  
Móvil: (502) 5019 – 9503

##### Pipetas plásticas graduadas, estériles en empaque individual

PCL Guatemala  
Km 22.5 Carretera a El Salvador  
Empresarial Eco Plaza Bodega 303 Fraijanes,  
Guatemala  
Teléfono: (502) 6669 – 9885 / 6  
Móvil: (502) 5019 – 9503

Distribuidora de Laboratorio y  
Equipo Institucional, S. A. (DILAB)  
10ª. Calle 5-43 zona 10  
Tel: 2318-4000  
Guatemala, Guatemala, C.A.

20

##### Reactivo de Kovacs para Indol

PCL Guatemala  
Km 22.5 Carretera a El Salvador  
Empresarial Eco Plaza Bodega 303 Fraijanes,  
Guatemala  
Teléfono: (502) 6669 – 9885 / 6  
Móvil: (502) 5019 – 9503

##### Pera de caucho de 3 válvulas modelo universal para pipetas

PCL Guatemala  
Km 22.5 Carretera a El Salvador  
Empresarial Eco Plaza Bodega 303 Fraijanes,  
Guatemala  
Teléfono: (502) 6669 – 9885 / 6  
Móvil: (502) 5019 – 9503

Distribuidora de Laboratorio y  
Equipo Institucional, S. A. (DILAB)  
10ª. Calle 5-43 zona 10  
Tel: 2318-4000  
Guatemala, Guatemala, C.A.

##### 3M® Placas Petrifilm™ para el recuento de E. coli / Coliformes

Distribuidora de Laboratorio y  
Equipo Institucional, S. A. (DILAB)  
10ª. Calle 5-43 zona 10  
Tel: 2318-4000  
Guatemala, Guatemala, C.A.

*Renuncia de Responsabilidad: esta guía metodológica para analizar agua tiene el propósito de indicar el nivel de riesgo que causa la contaminación fecal. La intención de la misma no es reemplazar métodos estándar para analizar el agua o los procedimientos aprobados para analizar el agua por las entidades gubernamentales / municipales.*

21

#### 9.6.2. Presentación y desarrollo de metodología

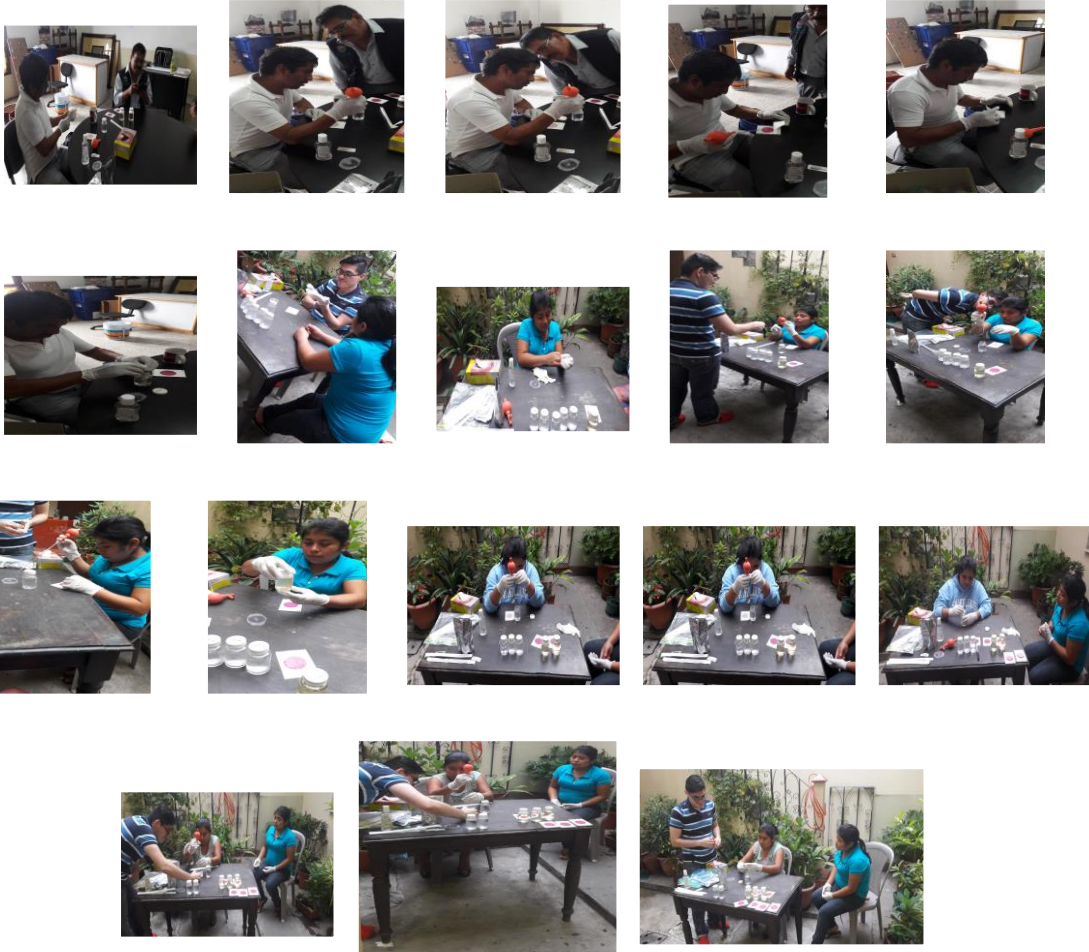
Se efectuó capacitaciones y se implementó la metodología propuesta a representantes del departamento de calidad del agua de la municipalidad así como a un grupo piloto con el cual se implementó inicialmente las pruebas para el análisis microbiológico del agua.

**Figura No. 13** Primera inducción y capacitación a usuarios y a representantes del departamento de calidad



**Fuente:** elaboración propia, (2017)

**Figura No. 14** Segunda inducción y capacitación a usuarios y a representantes del departamento de calidad



**Fuente:** elaboración propia, (2017)



## 9.7. Anexo 7

### 9.7.1. Cuestionario 1

#### **CUESTIONARIO REALIZADO A USUARIOS (PREVIO A EFECTUAR EL MUESTREO)**

1. **¿Conoce usted la importancia de consumir agua potable (apta para consumo)?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

2. **¿Cuenta usted con servicio de agua potable en su hogar?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Si su respuesta es no, ¿De dónde obtiene el agua que utiliza en su vivienda?

---

3. **¿El servicio de agua potable presenta anomalías con frecuencia?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Si su respuesta es sí, ¿Qué anomalías presenta? (servicio irregular, mal olor, etc.)

---

4. **¿Cree que es importante conocer las condiciones (calidad) del agua que utiliza para sus actividades diarias?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

5. **¿Sabe usted las condiciones (calidad) del agua que utiliza para sus actividades diarias?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

6. **¿Hace usted uso de alguna toma de agua comunal?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Si su respuesta es sí, ¿Qué otras fuentes de agua utiliza?

Tanques comunales \_\_\_\_\_  
Grifos comunales \_\_\_\_\_  
Pozos \_\_\_\_\_  
Todas las Anteriores \_\_\_\_\_  
Otras (Especifique): \_\_\_\_\_

**\*Si hace uso de agua proporcionada por tanques comunales siga el cuestionario.**

**7. ¿Qué usos le da al agua suministrada por el tanque?**

Lavar \_\_\_\_\_  
Cocinar \_\_\_\_\_  
Beber \_\_\_\_\_  
Riegos \_\_\_\_\_  
Todas las Anteriores \_\_\_\_\_  
Otras  
(Especifique): \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**8. ¿Con qué frecuencia acude usted a los tanques comunales?**

1 – 3 veces por semana \_\_\_\_\_  
4 – 5 veces por semana \_\_\_\_\_  
Más de 5 veces por semana \_\_\_\_\_

**9. ¿Efectúa usted algún tratamiento al agua que obtiene de tanques comunales?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Si su respuesta es sí, ¿Qué tratamientos aplica?

Hervir el agua \_\_\_\_\_  
Adición de cloro \_\_\_\_\_  
Todas las anteriores \_\_\_\_\_  
Otras (Especifique): \_\_\_\_\_

**10. ¿Cree que es importante conocer las condiciones (calidad) del agua que utiliza (proveniente de tanques comunales)?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**11. ¿Sabe usted las condiciones (calidad) del agua proveniente de tanques comunales?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**12. ¿Le gustaría/interesaría conocer sobre un método fácil y práctico para el análisis de la calidad del agua?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

#### 9.7.2. Cuestionario 2

### **CUESTIONARIO REALIZADO A PERSONAS CAPACITADAS POSTERIOR A LA CAPACITACIÓN, MUESTREO Y ANÁLISIS**

**1. ¿Cree usted que es importante conocer las condiciones bacteriológicas del agua?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**2. ¿Qué le pareció la metodología propuesta?**

Mala \_\_\_\_\_

Buena \_\_\_\_\_

Muy Buena \_\_\_\_\_


Excelente \_\_\_\_\_

Si su respuesta es mala, ¿Por qué? \_\_\_\_\_

**3. ¿En qué porcentaje podría implementar por su cuenta la metodología propuesta para analizar la calidad microbiológica de agua?**

25% \_\_\_\_\_ 50% \_\_\_\_\_ 75% \_\_\_\_\_ 100% \_\_\_\_\_

**4. ¿Con qué características calificaría las pruebas realizadas?**

Característica	Prueba ReadyCult® 	Prueba Petrifilm™ 
Fácil		
Difícil		
Rápido		
Incómodo		
Lento		
Otra		

**5. ¿Preferiría usted alguna de la prueba sobre la otra?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Si su respuesta es sí, ¿Cuál y por qué?

Reaycult® \_\_\_\_\_ Petrifilm™ \_\_\_\_\_

---

**6. ¿Utilizaría usted las pruebas para evaluar la calidad microbiológica del agua?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**7. ¿Necesita usted más capacitación para poder aplicar la metodología para el análisis del agua?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Si su respuesta es sí, ¿Con qué frecuencia?

1 vez al año \_\_\_\_\_

2 veces al año (cada 6 meses) \_\_\_\_\_

3 veces al año (cada 4 meses) \_\_\_\_\_

6 veces al año (cada 2 meses) \_\_\_\_\_

1 vez al mes \_\_\_\_\_

2 veces al mes (cada 15 días) \_\_\_\_\_

**8. ¿Le gustaría a usted conocer más de la metodología propuesta?**

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Si su respuesta es sí, ¿Qué le gustaría saber?

---

**9. ¿Qué cree usted que le hace falta o en qué punto podría mejorarse la metodología propuesta?**

---

9.7.3. Entrevista

**Tabla No. 35** Respuestas a entrevista

No.	Pregunta	Respuesta
1	¿Qué fuentes de agua posee la municipalidad de Antigua Guatemala?	Actualmente el municipio de Antigua Guatemala cuenta con 22 sistemas de abastecimiento provenientes de manantiales. De los 22, 3 se encuentran fuera de servicio.
2	¿Qué tratamientos reciben las fuentes de agua de la municipalidad?	Por parte de la municipalidad se efectúan análisis semanales de cloro residual, y se tiene contratada una institución externa que efectúa análisis microbiológicos mensuales.
3	¿Con qué frecuencia se realizan las pruebas de calidad a las fuentes de agua?	
4	¿Presenta alguna anomalía las fuentes de agua? ¿Cuáles?	En ocasiones el funcionamiento del equipo de cloración falla, por lo que el agua que se distribuye carece de un tratamiento apropiado de cloración.

5	¿Posee la municipalidad alguna herramienta que le ayuda a determinar la calidad del agua independiente de laboratorios?	Actualmente la municipalidad únicamente cuenta con los análisis efectuados a los suministros de agua.
6	¿Cree usted que una metodología para el análisis de la calidad microbiológica del agua le sea útil no solo a la municipalidad sino a la comunidad?	Sí, sería de gran ayuda para controlar la calidad del agua que se distribuye a la comunidad.

**9.8. Anexo 8**

9.8.1. Glosario de términos técnicos

- **Agua para consumo humano / agua potable:** es aquella que por sus características organolépticas, físicas, químicas y bacteriológicas, no representa un riesgo para la salud del consumidor (COGUANOR NTG 29001, 1984).
- **Análisis:** identificar los componentes de todo, separarlos, examinarlos, para lograr acceder a sus principios más elementales (RAE, 2014).
- **Calidad:** propiedad o conjunto de propiedades inherentes a algo, que permiten juzgar su valor (RAE, 2014).
- **Calidad del agua:** se define como el conjunto de características del agua que pueden afectar su adaptabilidad a un uso específico, la relación entre esta calidad del agua y las necesidades del usuario (Mendoza, 1976).
- **Características microbiológicas del agua:** son aquellas que se originan por presencia de microorganismos que determinan su calidad (COGUANOR NTG 29001, 1984).
- **Evaluación de calidad:** proceso de enfoque múltiple que estudia la naturaleza física, química, y biológica del agua con relación a la calidad natural, efectos humanos y acuáticos relacionados con la salud (FAO 1993).

- **Inocular:** introducir en un organismo una sustancia que contiene los gérmenes de una enfermedad (RAE, 2014).
- **Límite máximo aceptable (LMA):** es el valor de la concentración de cualquier característica del agua, arriba de la cual estas características son percibidas por los consumidores desde el punto de vista sensorial pero sin que implique un daño en la salud del consumidor (COGUANOR NTG 29001, 1984).
- **Límite máximo permisible (LMP):** es el valor de la concentración de cualquier característica del agua arriba de la cual el agua no es adecuada para el consumo humano (COGUANOR NTG 29001, 1984).
- **Muestreo:** acción de escoger muestras representativas de la calidad o condiciones medias de un todo (RAE, 2014).
- **Patógeno:** que origina y desarrolla una enfermedad (RAE, 2014).
- **Test:** prueba destinada a evaluar conocimientos o aptitudes (RAE, 2014).
- **Unidades formadoras de colonias:** Unidad microbiológica de crecimiento en cultivos bacteriológicos (Diccionario Académico de la Medicina, 2013).

#### 9.8.2. Glosario de abreviaturas

- E. coli: Escherichia coli
- mL: mililitro
- °C: grados centígrados
- No. / #: número
- COGUANOR: Comisión Guatemalteca de Normas
- LMA: Límite máximo aceptable
- LMP: Límite máximo permisible
- UFC: unidades formadoras de colonias
- min.: minuto(s)
- $\bar{X}$ : Media
- S: Desviación estándar