

**UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE
AMAZONAS**

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS



INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

Indicadores y patógenos fecales en el agua de bebida de los pobladores de
la comunidad nativa Pakún, Amazonas, 2014

Autor: Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMÁN

CHACHAPOYAS – PERÚ

2014

Indicadores y patógenos fecales en el agua de bebida de los pobladores de la comunidad nativa Pakún, Amazonas, 2014

RESUMEN

El presente estudio estuvo orientado a demostrar la presencia de indicadores y patógenos fecales en el agua de bebida de los pobladores de la comunidad nativa Pakún, Centro Poblado Chiriaco, Distrito de Imaza, Provincia de Bagua, Región Amazonas. El método de recolección de los datos fue probabilístico y sistemático, la muestra estuvo constituida por catorce muestras de agua de bebida de la comunidad nativa Pakún, recolectadas de trece viviendas y una de la captación de agua. Los indicadores fecales que se evaluaron fueron Coliformes totales y Coliformes fecales siguiendo la Técnica del Número Más Probable. Los patógenos fecales a evaluar fueron los géneros microbianos *Salmonella* y *Shigella* mediante el Método de Recuento en Placa, siguiendo las técnicas de estría e incorporación. Se encontró que los indicadores fecales en el agua de bebida de los pobladores de la comunidad nativa Pakún son coliformes totales y coliformes fecales con valores máximos de 500 NMP/ml y 200 NMP/ml., respectivamente. El patógeno encontrado pertenece al género *Salmonella*. El ph fluctúa entre los valores de 6.22 a 6.46, lo que favorece la presencia de las bacterias antes mencionadas.

Palabras clave: Indicadores y patógenos fecales.

ABSTRACT

The present study was aimed to demonstrate the presence of fecal indicators and pathogens in the drinking water of the residents of the native community Pakun, Town Centre Chiriaco, District Imaza Bagua Province, Amazonas Region. The method of data collection was probabilistic and systematic sample consisted of fourteen samples of drinking water from the native community Pakun, collected thirteen houses and water uptake. Fecal indicators evaluated were total coliforms and fecal coliforms following the Most Probable Number Technique. Fecal pathogens evaluated were microbial genera Salmonella and Shigella using the plate count method, following the ridge and incorporation techniques. It was found that fecal indicators in the drinking water of the residents of the native community Pakun are total coliforms and fecal coliforms with maximum values of 500 MPN / ml and 200 MPN / ml., Respectively. The pathogen found in the genus Salmonella. The pH values ranging from 6.22 to 6.46, which favors the presence of the aforementioned bacteria.

Keywords: Fecal indicators and pathogens.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población a nivel mundial y el aumento del uso del agua para diferentes actividades, ha incrementado los niveles de contaminación. Esta contaminación está relacionada con los vertidos de origen doméstico e industrial a los cuerpos de agua. En el caso de los residuos de origen doméstico, la carga contaminante está representada por altos porcentajes de materia orgánica y microorganismos de origen fecal. Estos microorganismos son causantes de enfermedades de origen hídrico, que generan altos porcentajes de morbi-mortalidad en la población. El control de la calidad microbiológica del agua de consumo y de vertido, requiere una serie de análisis dirigidos a determinar la presencia de microorganismos patógenos. El diagnóstico de estos microorganismos, requiere laboratorios especializados y representa varios días de análisis y costos elevados. Como alternativa a estos inconvenientes, se ha propuesto el uso de indicadores microbianos que se puedan identificar mediante el uso de métodos sencillos, rápidos y económicos. (Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua, 2010)

El agua, alimento esencial para los animales incluido el hombre, frecuentemente actúa como vehículo de transmisión de microorganismos entéricos. La materia fecal puede accidentalmente alcanzar una fuente de abastecimiento, siendo la forma más común el ingreso a través de los sistemas de pozo ciego a napas profundas. (Madigan, et.al, 2004).

El Código Alimentario Argentino (CAA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) en sus Guías para la calidad del agua potable, la Directiva 98/83/CE1 y otras normas internacionales, establecen o recomiendan requisitos de calidad para el agua de consumo humano. En general, la normativa establece que el agua es apta bacteriológicamente para consumo si se encuentra exenta de microorganismos patógenos de origen entérico y parasitario intestinal. Ellos transmiten enfermedades tales como salmonelosis (*Salmonella*), shigelosis (*Shigella*), colera (*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 col., 2011).

La presencia de microorganismos patógenos en el agua de bebida es un riesgo que se incrementa en las áreas marginales de mayor densidad poblacional o en zonas sin disponibilidad de agua potable. 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. (CEPIS. 2001).

Para estudiar la relación que existe entre calidad de agua y salud humana, es necesario introducir el concepto de *microbiología*, y a partir de ello valorar la presencia de organismos microscópicos en agua potable, los efectos de competencia y/o sinérgicos de las distintas especies y la posibilidad de aplicar tecnologías de desinfección. (Madigan, et.al., 2004).

La variabilidad microbiológica de las aguas naturales abarca numerosos organismos e incluye células eucariotas (algas, protozoarios y hongos), células procariotas (bacterias) y virus (microorganismos con capacidad de síntesis nula). (Atias, 2001).

Las enterobacterias o *Enterobacteriaceae* son las más importantes dentro de los *anaeróbicos facultativos* y su presencia en agua está asociada a contaminación fecal. Este grupo de bacterias habita naturalmente el intestino de los animales. Son bacilos no esporulados, no móviles y si lo son es por flagelos de inserción períttrica, con requerimientos nutricionales relativamente simples. Generalmente se identifican por su capacidad para fermentar glucosa por vía glucolítica dando ácidos como producto final. *Escherichia coli*, habitante normal del intestino humano, es utilizada como indicador de contaminación fecal de aguas. Las cepas patógenas de *E. coli* causan infecciones del tracto intestinal (generalmente agudas y no presentan mayores complicaciones, excepto en niños y adultos con deficiencias nutricionales). Otros ejemplos de patógenos humanos de este grupo son *Shigella*, *Salmonella*

y *Klebsiella*. *Shigella dysenteriae* es causante de la disentería bacilar, *Salmonella typhimurium* y *typhi* producen gastroenteritis y fiebre tifoidea respectivamente. (Apella et. al., 2011).

El grupo *Vibrio* está integrado por bacilos curvados, anaerobios facultativos, poseen flagelos polares aunque algunos son peritricos. Se diferencian de las *Pseudomonas* en su metabolismo no fermentativo. Están presentes en aguas dulces o marinas. *Vibrio cholerae*, especie más representativa de este género, es patógeno para humanos y responsable del cólera. Su transmisión es casi exclusivamente por vía hídrica. (Jawetz, et.al, 1994).

Otras especies patógenas importantes para el hombre que se pueden encontrar en muestras de agua pertenecen a los géneros *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter*. Los cocos del género *Neisseria*, aislados de sedimentos de acuíferos aeróbicos, son causantes de gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*) y meningitis (*Neisseria meningitidis*). Las especies de *Moraxella* y *Acinetobacter* son bacilos y se transforman en cocos solamente en la senectud, y por ello se las propone como cocobacilos. Algunas especies de *Moraxella* han sido aisladas de aguas profundas originadas de acuíferos aeróbicos y representantes del género *Acinetobacter* se encuentran frecuentemente también en aguas subterráneas aeróbicas. (Apella et.al., 2011).

Las bacterias Gram Positivas no representan un grupo muy difundido en agua, sin embargo incluye algunos patógenos humanos aislados especialmente de aguas subterráneas. Los cocos más comunes pertenecen a los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Los micrococos y estafilococos son aerobios y tolerantes a altas concentraciones salinas que permite diferenciarlos de los estreptococos. Varias especies de los dos primeros son importantes patógenos humanos; aunque no existe certeza acerca de su habitat original, la bibliografía las considera procedentes de aguas subterráneas. El género *Streptococcus* incluye a *Enterococcus faecalis*, patógeno humano que habita normalmente en el intestino

de hombres y animales por lo que es un indicador de contaminación fecal de aguas. (Jawetz, et.al, 1994).

Las bacterias esporulantes, pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Clostridium* presentan metabolismo aeróbico y anaeróbico respectivamente. A partir de suelos y acuíferos aeróbicos se aíslan especies incluidas en el género *Bacillus*; y a partir de suelos, sedimentos, aguas subterráneas anaerobias y última porción del tracto intestinal de animales se pueden encontrar especies de *Clostridium*. Algunas especies son patógenos para animales, generalmente debido a la producción de poderosas exotoxinas: la del *Bacillus anthracis*, conduce al desarrollo de *antrax*, enfermedad de animales que puede transmitirse a humanos (*zoonosis*) y la del *Clostridium tetani* que ocasiona una enfermedad en humanos caracterizada por tetanización de músculos, razón por la cual recibe el nombre de *tétano*. (Apella, et.al., 2011).

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. (Collins, 1995).

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 en agua relacionada, cualitativamente y cuantitativamente con la de otros microorganismos patógenos de aislamiento más difícil. Tres tipos de bacterias califican a tal fin: Coliformes fecales: indican contaminación fecal. Las Aerobias mesófilas: determinan efectividad del tratamiento de aguas y las Pseudomonas: señalan deterioro en la calidad del agua o una recontaminación. (Parés et. al., 2002).

Desde el punto de vista bacteriológico para definir la potabilidad del agua, es preciso investigar bacterias aerobias mesófilas y coliformes totales y fecales. La gran sensibilidad de

las bacterias aerobias mésófilas a los agentes de cloración, las ubica como indicadoras de la eficacia del tratamiento de potabilización del agua. (Madigan, et.al., 2004).

Las bacterias coliformes habitan 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 como saprofitas independientemente, o como microorganismos intestinales, excepto el género *Escherichia* cuyo origen es sólo fecal. (Apella et.al., 2011).

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 desarrollan a 35°C, sólo indica existencia de contaminación, sin asegurar su origen. Los enterococos fecales cuyo desarrollo ocurre a 35°C se usan como indicadores complementarios de contaminación fecal. (Collins, 1995).

La validez de todo examen bacteriológico se apoya en una apropiada toma de muestra (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). (ICMSF. 1996).

El sistema de conservación de la muestra debe ser confiable, y la misma analizada inmediatamente o al cabo de un corto período entre extracción y análisis. El análisis cuantitativo de bacterias indicadoras de contaminación en una muestra de agua puede realizarse por dos metodologías diferentes: Recuento directo de microorganismos cultivables por siembra de la muestra sobre o en un medio de cultivo agarizado y Recuento indirecto (basado en cálculos estadísticos) después de sembrar diluciones seriadas de la muestra en

medios de cultivos líquidos específicos. Se considera, al cabo de una incubación adecuada, los números de cultivos «positivos» y negativos». Esta metodología se denomina «*Técnica de los Tubos Múltiples*» y los resultados se expresan como número más probable (NMP) de microorganismos. (Rubio, 1995).

Además de otros métodos, se puede recurrir a aquellos en los que se aplica biología molecular como por ejemplo, la técnica de hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) utilizando sondas marcadas en base a secuencia nucleotídica del gen 16S. (Apella, et. al., 2011).

El conocimiento de la nutrición microbiana permite el cultivo de los microorganismos en el laboratorio. En general, como se ha mencionado, todos los microorganismos tienen requerimientos de macro y micronutrientes semejantes, aunque la forma en que cada uno de ellos es captado y su cantidad relativa pueden variar mucho entre los diferentes géneros. En el laboratorio, el desarrollo de los microorganismos se realiza en medios de cultivo que son ambientes artificiales diseñados por el hombre para proporcionar todas las sustancias necesarias para el crecimiento microbiano. (Forsythe, et. al., 2002)

Los medios de cultivo líquidos se conocen como *caldos* y a partir de ellos, por el agregado de un agente solidificante estable (agar), se preparan medios de consistencia sólida o semisólida, que se denominan medios *sólidos* o *agarizados*. (Apella, et. al., 2011).

Un medio de cultivo líquido generalmente se fracciona en tubos tapa rosca o en matraces cónicos con tapón de algodón y el desarrollo de los microorganismos se observa macroscópicamente por enturbiamiento del medio. Los medios sólidos se disponen en cajas de Petri de vidrio o plástico con tapa, donde cada célula microbiana por divisiones sucesivas da origen a masas visibles denominadas *colonias*. Este hecho es el que permite cuantificar los microorganismos presentes en muestras, a partir de las cuales se realizan diluciones,

siembras e incubaciones, basándose en la premisa que cada colonia se origina de una célula. (Jay, 2000).

El riesgo de contaminación tanto a nivel humano como ambiental hace necesario el control de la presencia de microorganismos en el agua. Determinar el tipo de microorganismos presentes y su concentración proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad del agua y para la toma de decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de ecosistemas. (Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua, 2010).

Los controles rutinarios de la totalidad de los microorganismos hídricos, potencialmente riesgosos para la salud, resultan difíciles de llevar a cabo debido a la gran variedad de bacterias patógenas cultivables, a la complejidad de los ensayos de aislamientos y a la presencia en baja concentración de varias especies altamente agresivas, sin que el orden detallado indique prioridad. Por esta razón, los análisis bacteriológicos apuntan a la búsqueda de microorganismos indicadores de contaminación fecal y se centralizan en la cuantificación de coliformes. Este grupo está integrado por enterobacterias, siendo *Escherichia coli* el indicador universal de contaminación fecal (Apella y col., 2011).

Las comunidades nativas y en especial las de la Región Amazonas, presentan problemas como la falta de servicios de agua potable y saneamiento, así como la prevalencia de enfermedades diarreicas agudas, lo que hace presumir que existe riesgo de contaminación del agua, siendo necesario el descarte de indicadores y patógenos fecales se encuentran presentes en el agua de bebida de los pobladores.

Los pueblos indígenas que habitan en la Amazonía peruana conforman uno de los grupos humanos más olvidados y postergados por el Estado.

La salud de los miembros de las comunidades nativas se ve afectada por múltiples aspectos, entre los que destacan la alteración de su hábitat, los cambios en sus patrones de

asentamiento poblacional, la pobreza, la desnutrición, el bajo nivel educativo, la falta de sistemas de agua potable y servicios de saneamiento, entre otros. Esto explica los altos índices de mortalidad y morbilidad que presenta la población indígena amazónica, que contribuyen a agudizar su situación de vulnerabilidad. (Defensoría del Pueblo del Perú, 2008)

Imaza es uno de los 5 distritos de la provincia de Bagua (Amazonas); su población está distribuida en 128 comunidades nativas, que representan el 69% de los habitantes del distrito. Se ha podido registrar 5,089 viviendas habitadas, las cuales están disgregadas en un área territorial de 4,534.7 km². Su población asciende a 24,646 habitantes, de los cuales el 48% tiene menos de 14 años de edad, lo que amerita ser tomado en cuenta por los programas de salud. El nivel educativo de la población alcanza sólo el primario, en un 25.23%, mientras que la población analfabeta bordea el 20.61%, observándose mayor proporción entre las mujeres. (Instituto Nacional de Estadística e Informática, 2005).

En el distrito de Imaza se encuentran los Awajun, quienes pertenecen al grupo etnolingüístico Jíbaro, que también abarca a los Wampis, Jíbaros propiamente dichos y Achuales. Los Awajun se extienden por toda la cuenca del río Cenepa abarcando una parte del territorio sureño del Ecuador. En el Departamento de Amazonas, los Awajun son mayoría entre las etnias nativas. A pesar de la cercanía geográfica y etnolingüística, los Awajun y los Wampis conservan las características propias de su etnia. (Brack y Yañez, 1997).

Según el Censo Nacional de Población y Vivienda de 1993, las personas que hablaban awajun en el distrito de Imaza conformaban el 75% de la población. En líneas generales, el proceso histórico ha sido similar tanto para los Awajun como para los Wampis; si bien el mayor aislamiento en el que se encuentra estos últimos en la zona de Río Santiago los ha llevado a que sufran menos el impacto de la colonización. En los últimos treinta años, la

mayor riqueza de las tierras y los bosques en el territorio de los Awajun ha atraído la instalación de aserraderos y fundos ganaderos. (Instituto Nacional de Estadística e Informática, 2005).

Con respecto al patrón de asentamiento de la etnia Awajun, se ha ido perdiendo en gran parte el patrón de movilidad local que los caracterizaba y actualmente se distingue más por un patrón de nucleamiento poblacional, lo cual agudiza la escasez de recursos, hallándose excluidos de los servicios básicos, servicios sociales y vías de comunicación. Usualmente, cuando el territorio se lo permite, se instalan alrededor de una casa o grupos de casas, tendiendo hacia la familia extensa. En comunidades nativas con mayor concentración de población y de establecimiento fijo, las casas se erigen una a continuación de otras, en planeamiento urbanístico occidental. (Brack y Yañez, 1997).

De acuerdo a datos del último Censo de Población y Vivienda (2005), en Imaza el sistema de saneamiento básico es casi inexistente; el 89.6% de las viviendas no cuenta con abastecimiento de agua potable y se utiliza el agua de acequia, río, pozo o manantial. Por otro lado, 94.6% no tiene servicios de eliminación de excretas conectadas a la red pública. La mayoría de comunidades nativas ha disminuido su acceso a agua limpia de las quebradas y tampoco cuentan con servicios de agua potable y saneamiento, lo cual los predispone a la rápida adquisición de enfermedades infecciosas.

La importancia de conocer las especies presentes en los sistemas acuáticos naturales en las comunidades nativas, radica en la posibilidad de desarrollar nuevas tecnologías que logren su eliminación y de esta manera controlar enfermedades de origen hídrico. (Apella y col., 2011).

Los altos niveles de parasitosis en las comunidades nativas hacen necesario un estricto control de la calidad microbiológica del agua. La evaluación de la calidad del agua se puede realizar a través de indicadores de contaminación fecal que presentan un comportamiento

similar a los patógenos y que son fáciles rápidos y económicos de identificar. (Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua, 2010).

En la Comunidad Nativa de Pakún, perteneciente al Centro Poblado Chiriaco, Distrito de Imaza, Provincia de Bagua, se sospecha de contaminación del agua de bebida ya que actualmente según informe del Centro de Salud de Chiriaco y durante la verificación de resultados de laboratorio, en muestras de heces en niños menores de 5 años de dicha comunidad se ha obtenido resultados de parasitosis en un porcentaje considerable, motivo por el cual se hace necesario investigar la presencia indicadores y patógenos fecales en el agua de bebida de los pobladores de la comunidad nativa de Pakún.

MATERIAL Y MÉTODO

1. Material de estudio:

Población

La población de estudio estuvo constituida por todas las viviendas de la comunidad nativa Pakún.

Criterios de inclusión

- * Viviendas de la comunidad nativa Pakún cuyos jefes de familia accedían al muestreo de agua.
- * Viviendas de la comunidad que contaban con cañería de agua.

Criterios de exclusión

- * Personas que no satisfacían los criterios de inclusión.

Muestra

Estuvo constituida por catorce muestras de agua de bebida de la comunidad nativa Pakún, recolectadas de trece viviendas y una de la captación de agua, las mismas que cumplían con los criterios de inclusión y elegidas a través de un muestreo aleatorio simple. A las viviendas muestreadas se le dio la denominación de Estación (E) de muestreo.

2. Métodos y Técnicas:

2.1. Tipo de estudio:

La presente investigación correspondió a un estudio prospectivo, de corte transversal y de tipo descriptivo.

2.2. Descripción y operacionalización de las variables

Variable	Dimensión	Criterios de evaluación	Escala de medición
Indicadores Fecales	Crecimiento en medio de cultivo Caldo Brila.	Recuento de <i>Coliformes fecales y totales</i> (NMP/ml).	De razón o tasa
	Crecimiento en medio de cultivo Agar Mac Conkey y pruebas bioquímicas de identificación.	Identificación de <i>Escherichia coli</i> .	

Variable	Dimensión	Criterios de evaluación	Escala de medición
Patógenos Fecales	Crecimiento en medio de cultivo Agar <i>Salmonella Shiguela</i> .	Recuento de <i>Salmonella sp.</i> y <i>Shiguela sp.</i> (UFC/ml).	De razón o tasa

2.3. Método de selección de la muestra:

El método de recolección de las muestras fue probabilístico y sistemático.

2.4. Procedimiento de recolección de muestras:

Las muestras de agua fueron recolectadas en frascos de 500ml., de boca ancha estériles; las mismas que fueron colocadas en refrigeración (ICMSF, 1996) y transportadas al laboratorio de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza para su procesamiento.

2.5. Determinación de indicadores fecales:

Los indicadores fecales a evaluar fueron *Coliformes totales* y *Coliformes fecales* siguiendo la Técnica del Número Más Probable. (Rubio, 1995).

2.6. Determinación de patógenos fecales:

Los patógenos fecales a evaluar fueron los géneros microbianos *Salmonella* y *Shiguella* mediante el Método de Recuento en Placa siguiendo las técnicas de estría e incorporación. (Rubio, 1995).

2.7. Aspectos éticos:

La recolección de las muestras se realizó con el consentimiento del Apu de la comunidad nativa Pakún y los Jefes de Familia garantizando el respeto al derecho de privacidad con respecto a la información proporcionada y resultados.



Foto 1. Pruebas de laboratorio.



Foto 2. Determinación de patógenos fecales.



Foto 3. Determinación de pH.

ESTACIONES DE MUESTREO



Foto 1. Captación de agua de consumo



Foto 2. Instalación de tuberías de agua



Foto 3. Vivienda de la comunidad nativa



Foto 4. Filtración de agua por ruptura de tubería.



Foto 4. Depósito de agua de consumo



Foto 5. Pileta o grifo de una vivienda.

RESULTADOS

- La tabla 1 muestra el promedio del pH en agua de bebida durante tres muestreos en catorce estaciones.
- En la tabla 2 se observa los resultados de la determinación cuantitativa (NMP/ml) de los indicadores de contaminación fecal en agua de bebida durante tres muestreos en catorce estaciones.
- Se presenta en la tabla 3 la determinación cualitativa de patógenos fecales en agua de bebida durante tres muestreos en catorce estaciones.
- La figura 1 muestra el promedio del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (UFC/ml) durante tres muestreos en catorce estaciones de muestreo.
- En la figura 2 se observa la determinación de indicadores de contaminación fecal por la Técnica del Número Más Probable (NMP/ml); evidenciándose a los coliformes por la presencia de gas dentro de las campanas Durham.
- La figura 3 presenta la determinación de patógenos de contaminación fecal “*Salmonella sp.*”, observándose colonias de color negro en la placa petri.
- En la figura 4 se observa la presencia de bacterias de la familia *enterobactereacea*, observándose colonias grandes de bordes regulares de color rojo.
- La figura 5 muestra la determinación de bacterias aerobias mesófilas viables, observándose colonias grandes de bordes regulares de color crema.

Tabla 1. Promedio del pH en agua de bebida durante tres muestreos en catorce estaciones.

Estaciones de muestreo	<i>pH</i>
E1	6.22
E2	6.35
E3	6.36
E4	6.34
E5	6.27
E6	6.46
E7	6.43
E8	6.25
E9	6.34
E10	6.29
E11	6.27
E12	6.34
E13	6.33
E14	6.32

Tabla 2. Determinación cuantitativa (NMP/ml) de indicadores de contaminación fecal en agua de bebida durante tres muestreos en catorce estaciones.

ESTACIONES	INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL (NMP/ml)	
	Coliformes Totales	Coliformes Fecales
E1	7	200
E2	4	40
E3	21	200
E4	15	200
E5	23	23
E6	9	23
E7	150	15
E8	70	23
E9	21	11
E10	70	7
E11	15	90
E12	40	4
E13	150	90
E14	500	200

Tabla 3. Determinación cualitativa de patógenos fecales en agua de bebida durante tres muestreos en catorce estaciones.

ESTACIONES	PATOGENOS FECALES		
	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Shiguella sp.</i>	<i>Enterobacterias</i>
E1	Presencia	Ausencia	Presencia
E2	Presencia	Ausencia	Presencia
E3	Presencia	Ausencia	Presencia
E4	Presencia	Ausencia	Presencia
E5	Presencia	Ausencia	Presencia
E6	Presencia	Ausencia	Presencia
E7	Presencia	Ausencia	Presencia
E8	Presencia	Ausencia	Presencia
E9	Presencia	Ausencia	Presencia
E10	Presencia	Ausencia	Presencia
E11	Presencia	Ausencia	Presencia
E12	Presencia	Ausencia	Presencia
E13	Presencia	Ausencia	Presencia
E14	Presencia	Ausencia	Presencia

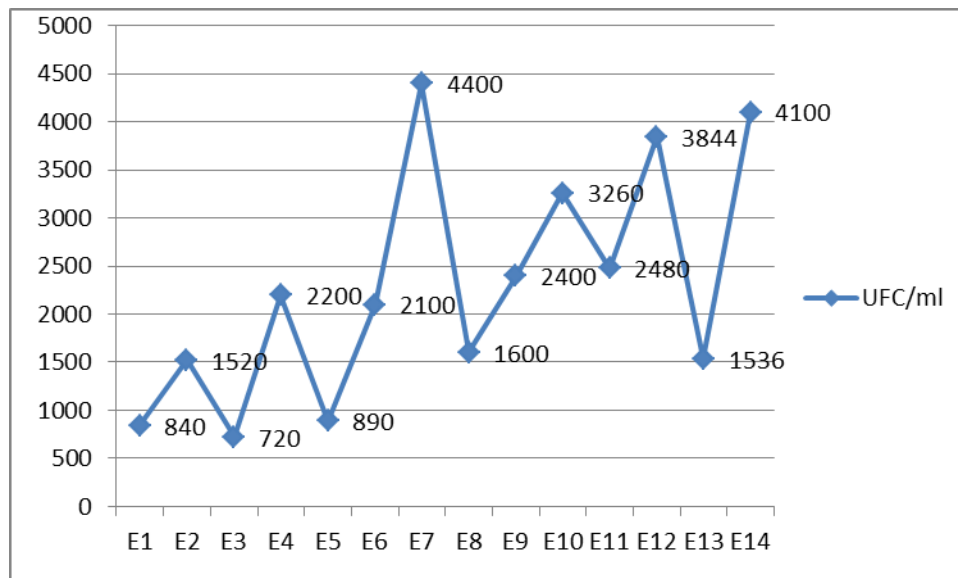


Fig.1. Promedio del recuento de bacterias aerobias mesofilas viables (UFC/ml) durante tres muestreos en catorce estaciones de muestreo

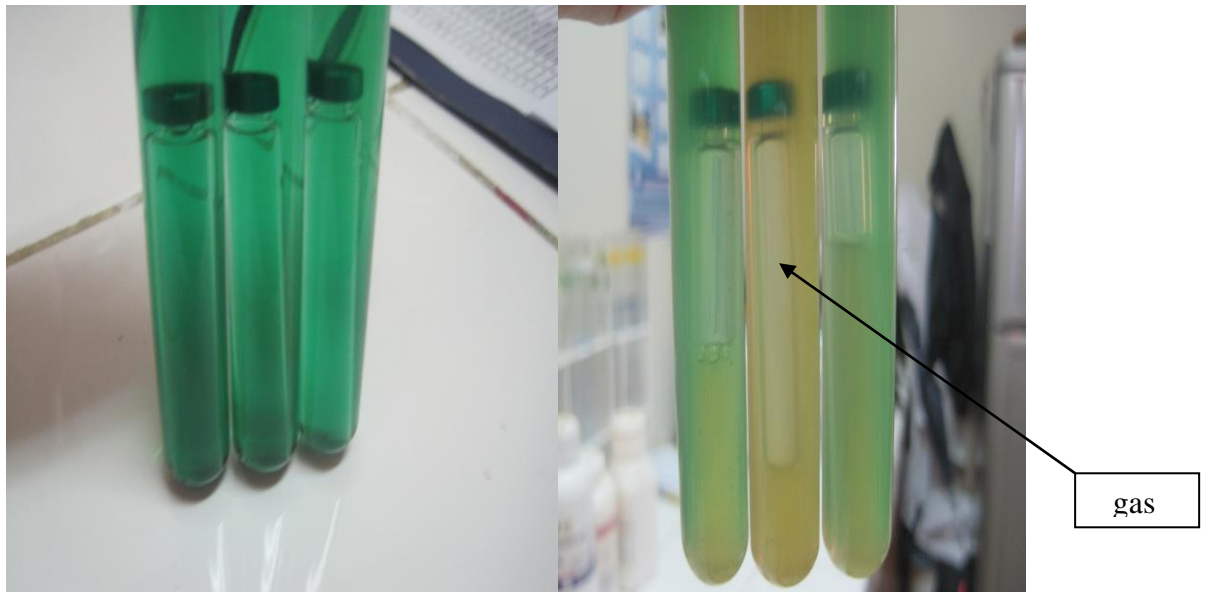


Fig. 2. Determinación de indicadores de contaminación fecal por la Técnica del Número Más Probable (NMP/ml). Al lado izquierdo ausencia y lado derecho presencia de gas en los tubos con caldo BRILA.

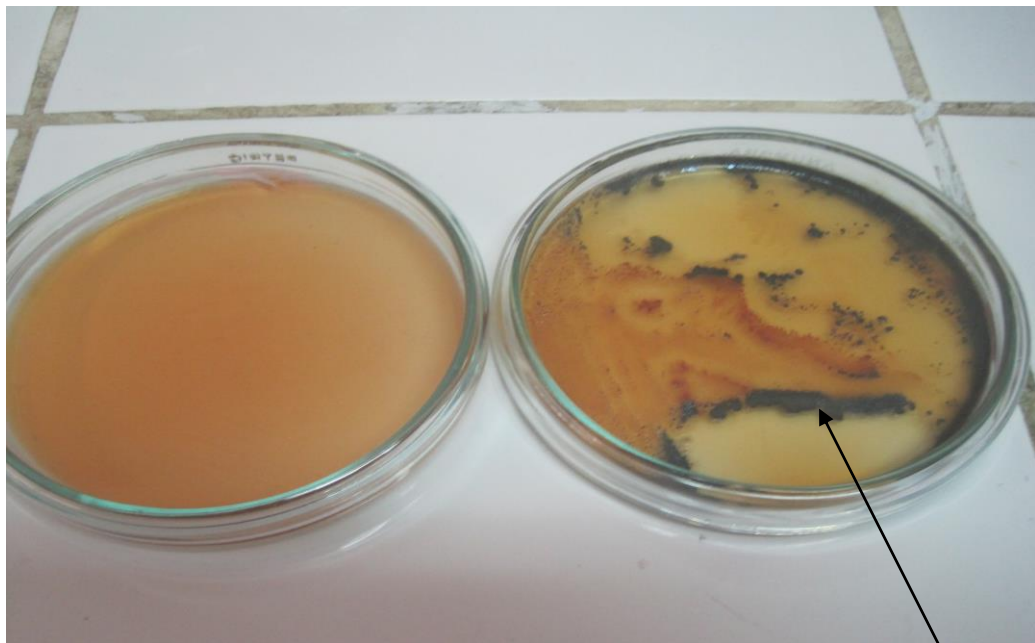


Fig.3. Determinación de patógenos de contaminación fecal "*Salmonella sp.*". Al lado izquierdo ausencia y lado derecho presencia de colonias negras.

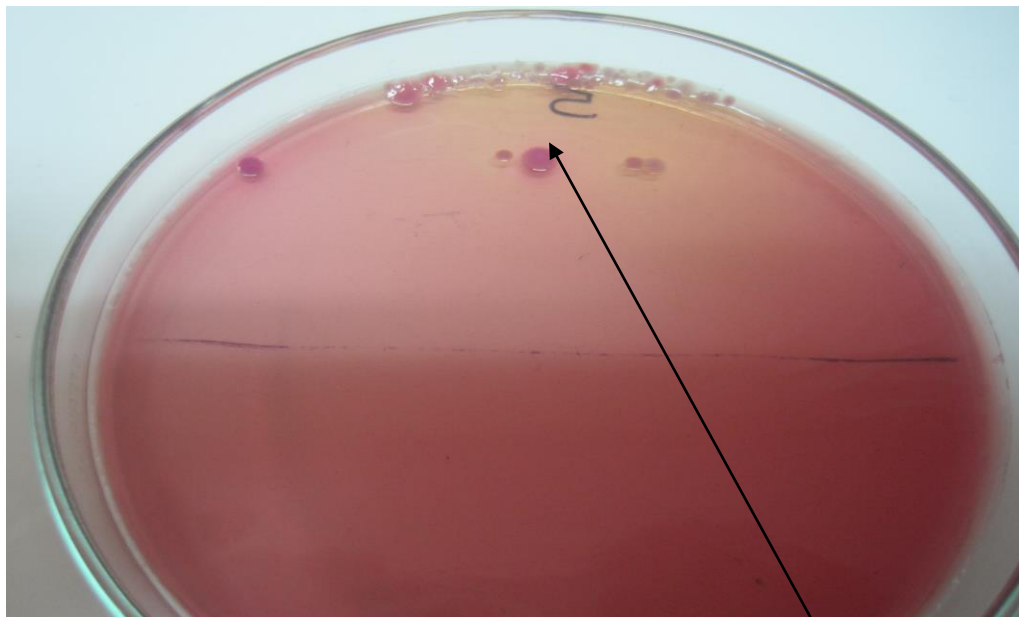


Fig.4. Determinación de bacterias de la familia *enterobacteraceae*. Se observa el crecimiento de colonias grandes de borde regular color rojo.

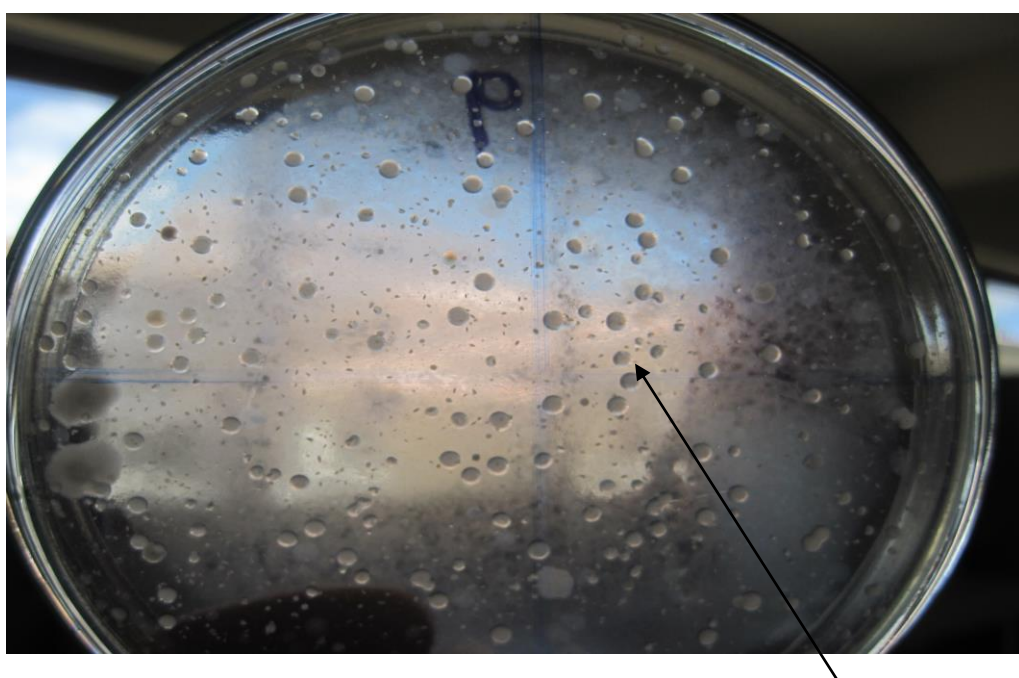


Fig.5. Determinación de bacterias aerobias mesofilas viables . Se observa el crecimiento de colonias grandes de borde regular color crema.

DISCUSIÓN

Los agentes patógenos transmitidos por el agua constituyen un problema mundial que demanda un urgente control mediante la implementación de medidas de protección ambiental a fin de evitar el incremento de las enfermedades relacionadas con la calidad del agua (Ayres y Wescot, 1987).

El riesgo de contaminación tanto a nivel humano como ambiental hace necesario el control de la presencia de microorganismos en el agua. Determinar el tipo de microorganismos presentes y su concentración proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad del agua y para la toma de decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de ecosistemas. (Campos, 1999).

De acuerdo a datos del último Censo de Población y Vivienda (2005), en el Distrito de Imaza, Provincia de Bagua, Región Amazonas, el sistema de saneamiento básico es casi inexistente; el 89.6% de las viviendas no cuenta con abastecimiento de agua potable y se utiliza el agua de acequia, río, pozo o manantial. Por otro lado, 94.6% no tiene servicios de eliminación de excretas conectadas a la red pública, (Defensoría del Pueblo del Perú, 2008).

El agua se recoge del río, pero también de los lagos o cochas, los problemas de salud que se originan por la mala calidad del agua son las infecciones estomacales, así como la conjuntivitis, que afecta principalmente a los niños y niñas, quienes suelen dedicar sus horas de ocio a jugar en las cochas (lagunas) que se forman aledañas a las viviendas de las comunidades. Algunos problemas que se observan en las comunidades nativas es la poca costumbre de las familias de hervir el agua, sea porque les parece que cambia su sabor, o porque les origina un mayor consumo de leña, (Defensoría del Pueblo del Perú, 2008).

Los microorganismos son causantes de enfermedades de origen hídrico, que generan altos porcentajes de morbi-mortalidad en la población. El control de la calidad microbiológica del agua de consumo y de vertido, requiere una serie de análisis dirigidos a determinar la presencia

de microorganismos patógenos. El diagnóstico de estos microorganismos, requiere laboratorios especializados y representa varios días de análisis y costos elevados. Como alternativa a estos inconvenientes, se ha propuesto el uso de indicadores microbianos que se puedan identificar mediante el uso de métodos sencillos, rápidos y económicos.

Los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento similar a los patógenos (concentración y reacción frente a factores ambientales y barreras artificiales), pero son más rápidos, económicos y fáciles de identificar.

Una vez se ha evidenciado la presencia de grupos indicadores, se puede inferir que los patógenos se encuentran presentes en la misma concentración y que su comportamiento frente a diferentes factores como pH, temperatura, presencia de nutrientes, tiempo de retención hidráulica o sistemas de desinfección es similar a la del indicador.

Un microorganismo indicador de contaminación fecal debe reunir las siguientes características: Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos; estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos; estar presente cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están; presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación; debe ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos; su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas (su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal); debe ser fácil de aislar y cuantificar; no debe ser patógeno. No existe ningún microorganismo que reúna todos los criterios de un indicador ideal y apenas algunos grupos satisfacen algunos de estos requisitos.

Un factor importante para el crecimiento microbiano es la concentración de iones hidrógeno. En general, los ambientes naturales tienen un pH comprendido entre 5 y 9, y la mayoría de los microorganismos crecen dentro de esos valores. Sin embargo, algunos pueden desarrollar a valores de pH inferiores o superiores a los indicados (Apella y Araujo, 2011).

Los valores de pH superiores e inferiores al rango que corresponde a un microorganismo son nocivos, ya que afectan la estabilidad de la membrana plasmática, inhiben enzimas, y alteran el transporte de solutos y la nutrición. Muchos nutrientes ingresan a las células atravesando la membrana plasmática por *transporte pasivo*, el que sólo puede llevarse a cabo si los nutrientes están en su forma *no ionizada*. El pH del ambiente puede tener un *efecto nocivo indirecto* sobre los microorganismos, produciendo ionización de algunos nutrientes e impidiendo su utilización. Todos los microorganismos poseen mecanismos de regulación del pH citoplasmático que les permite mantener su valor constante. El mantenimiento de un pH constante en el citoplasma es muy importante para la supervivencia de los microorganismos ya que la acidificación o alcalinización del mismo lleva a la desnaturalización de componentes vitales de la célula (proteínas a pH bajo y ácidos nucleicos a pH elevado). Éste es el *efecto nocivo directo* del pH del ambiente (Apella y Araujo, 2004). En nuestro estudio encontramos valores de pH que fluctúan entre los valores de 6.22 a 6.42 (Tabla 1), lo que hace que el agua de consumo de la comunidad nativa Pakún sea un ambiente propicio para el desarrollo de microorganismos de la familia enterobacteriacea (Figura 4) y de otras bacterias aerobias mesófilas viables (Figura 1), (Figura 5).

Las bacterias coliformes habitan 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 como saprofitas independientemente, o como microorganismos intestinales, excepto el género *Escherichia* cuyo origen es sólo fecal. Esto ha llevado a distinguir entre coliformes totales (grupo que incluye a todos los coliformes de cualquier origen) y coliformes fecales (término que designa a los coliformes de origen exclusivamente intestinal) con capacidad de fermentar lactosa también a 44,5°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 desarrollan a 35°C, sólo indica existencia de contaminación, sin asegurar su origen (Apella y Araujo, 2011).

El análisis cuantitativo de bacterias indicadoras de contaminación en una muestra de agua puede realizarse por dos metodologías diferentes: Recuento directo de microorganismos cultivables por siembra de la muestra sobre o en un medio de cultivo agarizado. Recuento indirecto (basado en cálculos estadísticos) después de sembrar diluciones seriadas de la muestra en medios de cultivos líquidos específicos. Se considera, al cabo de una incubación adecuada, los números de cultivos «positivos» y negativos». Esta metodología se denomina «*Técnica de los Tubos Múltiples*» y los resultados se expresan como número más probable (NMP) de microorganismos (Apella y Araujo, 2011).

En nuestro estudio se encontró que los valores máximos de coliformes totales fue de 500 NMP/ml y para coliformes fecales 200 NMP/ml.(Tabla 2), sin embargo según los estándares nacionales de calidad ambiental para agua “Categoría 1: Poblacional y Recreacional” los valores establecidos son para coliformes totales 50NMP/100ml y para coliformes fecales o termotolerantes 0 NMP/100ml. (Normas legales, 2008). Por lo tanto el agua de consumo de la comunidad nativa Pakún, supera los valores permitidos en los estándares para agua de uso poblacional, establecidos en el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM-Perú.

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, 2004).

El Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM-Perú, en relación con el uso del agua de la categoría 1, establece que para el caso de bacterias del género *Salmonella* estas deben estar ausentes, sin embargo en nuestro estudio hemos demostrado la presencia de *Salmonella sp.* (Tabla 3), (Figura 3), en catorce estaciones de muestreo de la comunidad nativa Pakún.

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

Los coliformes fecales y *E. coli* en particular, se han seleccionado como indicadores de contaminación fecal debido a su relación con el grupo tifoide-paratifoide y a su alta concentración en diferentes tipos de muestras. Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes totales, capaz de fermentar la lactosa a 44.5°C, cuando estos son cultivados mediante técnicas microbiológicas como la “Técnica del Número Mas Probable” se evidencia presencia de gas dentro de las campanas Durham, lo que revela su presencia en la muestra analizada (Figura 2).

Aproximadamente el 95% del grupo de los coliformes presentes en heces fecales, están formados por *Escherichia coli* y ciertas especies de *Klebsiella*. Ya que los coliformes fecales se encuentran casi exclusivamente en las heces de animales de sangre caliente, se considera que reflejan mejor la presencia de contaminación fecal. Otro de los aspectos negativos del uso de los coliformes totales como indicador es el hecho de que algunos coliformes son capaces de multiplicarse en el agua (Madigan y col., 2004).

La capacidad de reproducción de los coliformes fecales fuera del intestino de los animales homeotérmicos es favorecida por la existencia de condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, etc.

Constituye una práctica habitual determinar la concentración de microorganismos patógenos como análisis rutinario en el control de aguas, fundamentalmente cuando esta va a estar destinada a uso humano o cuando el proceso o servicio donde va a ser utilizada especifica agua

potable. Si bien se determina que el conteo total, no debe exceder ciertos límites, cualquier norma específica explícitamente ausencia de patógenos.

Excepto en circunstancias muy particulares, alcanza con encontrar evidencia indirecta de la presencia de patógenos, a través de la determinación de aquellos que reciben el nombre de *organismos indicadores*. El grupo que mejor se adapta a estas características es el grupo de las *bacterias coliformes*. Está perfectamente demostrado que las bacterias responsables de las enfermedades hídricas (tifoidea, cólera, disentería, etc.) llegan al agua a través de las descargas intestinales de personas enfermas o portadores sanos.

La presencia de microorganismos patógenos en el agua de bebida es un riesgo que se incrementa en las áreas marginales de mayor densidad poblacional o en zonas sin disponibilidad de agua potable. 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.

Los controles rutinarios de la totalidad de los microorganismos hídricos, potencialmente riesgosos para la salud, resultan difíciles de llevar a cabo debido a la gran variedad de bacterias patógenas cultivables, a la complejidad de los ensayos de aislamientos y a la presencia en baja concentración de varias especies altamente agresivas, sin que el orden detallado indique prioridad. Por esta razón, los análisis bacteriológicos apuntan a la búsqueda de microorganismos indicadores de contaminación fecal y se centralizan en la cuantificación de coliformes. Este grupo está integrado por enterobacterias, siendo *Escherichia coli* el indicador universal de contaminación fecal, (Apella y Araujo, 2011).

El Ministerio de Vivienda del Perú ha designado un presupuesto de 100 millones de soles para la implementación en las mejoras del servicio de agua potable y desagüe, que beneficiaran a las comunidades nativas asentadas en las cuencas de los ríos Pastaza, Tigre, Corrientes y Marañón en la región de Loreto, estima que a partir del año 2015 la población podrá acceder a estos

servicios ya que funcionarían especialmente para las poblaciones más necesitadas; sin embargo para las comunidades nativas de la Región Amazonas todavía no se ha destinado presupuesto.

CONCLUSIONES

- Los indicadores y patógenos fecales en el agua de bebida de los pobladores de la comunidad nativa Pakún son coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella sp.*
- El ph del agua de bebida de la comunidad nativa Pakún está entre los valores de 6.22 a 6.46.
- Los valores máximos de coliformes totales y coliformes fecales son 500 NMP/ml y 200 NMP/ml., respectivamente.
- El microorganismo patógeno encontrado en el agua de bebida de la comunidad nativa Pakún pertenece al género Salmonella.
- El agua de bebida de la comunidad nativa Pakún, supera los estándares de calidad establecidos para agua categoría 1.

RECOMENDACIONES

- Las autoridades regionales y municipales deben incorporar en su presupuesto la construcción de infraestructura necesaria para captación, tratamiento y distribución de agua potable a los pobladores de la comunidad nativa Pakún.
- La Dirección Regional de Salud debe incluir dentro de sus planes de trabajo y presupuesto, el monitoreo de la calidad microbiológica del agua de consumo de las comunidades nativas de la Región Amazonas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Apella M. y P. Araujo. 2011. Microbiología del agua. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Buenos Aires, Argentina.
- Atias, A. 2001. Parasitología médica. Publicaciones técnicas Mediterráneo LTDA. Santiago, Chile.
- Ayres, R. y Wescot, D. 1987. La calidad del agua en la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación”. Estudio FAO Riego y Drenaje, N° 29. Roma.
- Brack A. y J. Yañez. 1997. Amazonía Peruana: Comunidades Indígenas. Conocimientos y Tierras Tituladas. Atlas, Base de Datos. Lima, Perú.
- Campos. C. 1999. Indicadores de contaminación fecal en la reutilización de aguas residuales para riego agrícola. Tesis doctoral. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona, España.
- CEPIS. 2001. Calidad Sanitaria de las Fuentes de Agua. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencia del Ambiente, disponible en www.cepis.ops-oms.org; accesado el 15/02/05.
- Collins, C. 1995. Métodos Microbiológicos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Defensoría del Pueblo del Perú. 2008. Informe Defensorial N° 134: La Salud de las Comunidades Nativas: Un reto para el Estado. Programa de Comunidades Nativas, adscrito a la Adjuntía para los Servicios Públicos y el Medio Ambiente de la Defensoría del Pueblo. Lima, Perú.
- Forsythe M. y J. Hayes. 2002. Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. Editorial Acribia. S.A., Zaragoza, España.
- ICMSF. 1996. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.

- Instituto Nacional de Estadística e Informática – INEI - Censo Nacional de Población y Vivienda, 2005 y http://www.cipca.org.pe/cipca/frontera/ama/CARAC_IMA.htm
- Jay, J. 2000. Microbiología moderna de los alimentos. 4ta edición. Editorial Acribia S.A. Madrid, España.
- Jawetz, E., J. Melnick y E. Adelbag. 1994. Microbiología. 14ava Edición. Editorial El Manual Moderno. México.
- Madigan M. T.; J.M. Martinko y Parker J. Broca. 2004. Biología de los Microorganismos, Prentice Hall. Madrid, España.
- Normas legales, 2008. Aprueban los estándares nacionales de calidad ambiental para agua. Decreto supremo N°002-2008-MINAM. El Peruano 31 de julio del 2008.
- Parés R.; A. Juarez. 2002. Bioquímica de los microorganismos. Editorial Reverte, S.A. Barcelona, España.
- Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua. 2010. Indicadores de contaminación fecal en aguas. Buenos Aires, Argentina.
- Rubio, M. 1995. Lecciones de Microbiología y Medios de Cultivo. Manual de Laboratorio. 4ta ed., Ediciones laborales SRL. Lima, Perú.

ANEXOS

ANEXO N° 01

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, de años de edad, con
DNI....., domiciliado en.....,
natural del distrito de.....provincia dedel
departamento de....., en mi calidad de Apu de la
comunidad nativa de Pakún autorizo la recolección de muestras de agua con fines de
investigación.

FIRMA