

Calidad microbiológica del agua procedente de tanques y pozos artesianos de establecimientos sanitarios

Microbiological Quality of Water from Tanks and Artesian Wells of Health Establishments

Gladys Estigarribia Sanabria¹ <https://orcid.org/0000-0001-8058-9369>

Cristel Kennedy Cuevas^{2*} <https://orcid.org/0000-0003-2018-7290>

Anabel González Vera¹ <https://orcid.org/0000-0001-5744-7645>

Cindy Cabriza¹ <https://orcid.org/0000-0002-4715-5929>

¹Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Santa Clara de Asís (USCA). Caaguazú, Paraguay.

²Instituto Regional de Investigación en Salud (IRIS), Universidad Nacional de Caaguazú (UNCA). Coronel Oviedo, Paraguay.

*Autor para la correspondencia: cristelkennedy@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Las aguas procedentes de establecimientos de salud, son comúnmente utilizadas por funcionarios y pacientes. Para que sean aceptables para uso humano, las aguas de los establecimientos deben cumplir con criterios microbiológicos establecidos en normas nacionales.

Objetivo: Determinar la calidad microbiológica de muestras de agua de establecimientos sanitarios del departamento de Caaguazú.

Métodos: Estudio descriptivo observacional, de corte transversal. Se analizaron 104 muestras de agua potable y tratada de hospitales, unidades de salud familiar y puestos de salud, de los 22 distritos de Caaguazú. Para evaluar la calidad microbiológica del agua se analizaron heterotróficos



totales, coliformes totales, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las muestras se procesaron mediante filtración de membrana, placas rehidratables, medios convencionales y sistemas miniaturizados consistentes en una interfaz de programación de aplicaciones. Las muestras se catalogaron como aceptables o inaceptables acorde la norma NP N° 24-001-80.

Resultados: De las 104 muestras, 58 (56 %) fueron aceptables y 46 (44 %) fueron inaceptables. Las causas de esta última condición fueron presencia de coliformes totales (42 %), alto recuento de heterótrofas (13 %), presencia de coliformes termotolerantes (11,5 %), presencia de *Escherichia coli* (9,6 %) y presencia de *Pseudomonas aeruginosa* (2 %).

Conclusiones: La mayoría de las muestras de agua fueron de calidad microbiológica aceptable; pero como se detectó un porcentaje considerable de muestras inaceptables y la presencia de especies como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, es recomendable corregir las técnicas de tratamiento de agua y enfatizar en los controles de calidad microbiológica, en los centros sanitarios estudiados.

Palabras clave: calidad del agua, bacterias, coliformes, microbiología, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

Introduction: The waters from health establishments are commonly used by officials and patients. To be acceptable for human use, water from establishments must meet microbiological criteria established in national standards.

Objective: To determine the microbiological quality of water samples from sanitary establishments in the department of Caaguazú.

Methods: A descriptive, observational, cross-sectional study was conducted in 104 samples of drinking and treated water from hospitals, family health units and health posts from the 22 districts of Caaguazú. These samples were studied to evaluate the microbiological quality of the water, total heterotrophs, total coliforms, thermotolerant coliforms, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were analyzed. Samples were processed by membrane filtration, rehydratable plates,



conventional media, and miniaturized systems consisting of an application programming interface. They were classified as acceptable or unacceptable according to standard NP N° 24-001-80.

Results: Fifty eight (56%) samples, out of the 104, were acceptable and 46 (44%) were unacceptable. The causes of this last condition were the presence of total coliforms (42%), high count of heterotrophs (13%), presence of thermotolerant coliforms (11.5%), presence of *Escherichia coli* (9.6%) and presence of *Pseudomonas aeruginosa* (2%).

Conclusions: Most of the water samples were assessed to be acceptable in microbiological quality; however, since a considerable percentage of unacceptable samples and the presence of species such as *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were detected, it is recommended to correct the water treatment techniques emphasizing microbiological quality controls in the health centers studied.

Keywords: water quality; bacteria; coliforms; microbiology; *Pseudomonas aeruginosa*.

Recibido: 02/04/2022

Aceptado: 22/12/2022

Introducción

De acuerdo con la norma paraguaya N° 24-001-80, establecida por el Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN), las aguas pueden ser microbiológicamente aceptables como potables, cuando poseen una cantidad inferior a 500 UFC/mL de heterotróficos totales y ausencia total de microorganismos como coliformes totales, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y *Pseudomonas*.⁽¹⁾

En los establecimientos de salud, es usual que el agua se utilice para el lavado de utensilios, la limpieza de habitaciones, la higiene de pacientes y para el consumo humano.

En Paraguay, es común que la fuente del agua de los establecimientos sanitarios sean tanques con agua potabilizada y pozos artesianos con agua tratada, en los cuales el mantenimiento y el control microbiológico, no son una práctica regular.⁽²⁾



Por otro lado, acorde a la Organización Mundial de la Salud, el consumo de agua microbiológicamente contaminada es la causa del fallecimiento de 297 000 niños y 829 000 personas de todas las edades, cada año.⁽³⁾

Para controlar la contaminación microbiológica del agua hay que tener en cuenta que en los procesos de mantenimiento que se realizan, los desinfectantes como cloro y cloramidas, puede controlar el aumento de la proliferación bacteriana, pero no pueden impedir el crecimiento de patógenos.⁽⁴⁾

Debido a lo anterior, es que los análisis microbiológicos de aguas están direccionados no solo conocer la carga microbiana total, sino también a evaluar la presencia de grupos bacterianos patógenos como coliformes termotolerantes y *Pseudomonas aeruginosa*.⁽¹⁾

Adicionalmente, la detección de *Pseudomonas* se relaciona con la formación de biopelícula en las tuberías de conexión y distribución del agua. El hallazgo de este tipo de bacterias preocupa no solamente por la naturaleza del género, sino también debido a que por su capacidad de sobrevivir a condiciones desfavorables, son particularmente resistentes a las medidas de desinfección y descontaminación.⁽⁵⁾

Este estudio tuvo como objetivo determinar la calidad microbiológica de las muestras de agua de establecimientos sanitarios del departamento de Caaguazú.

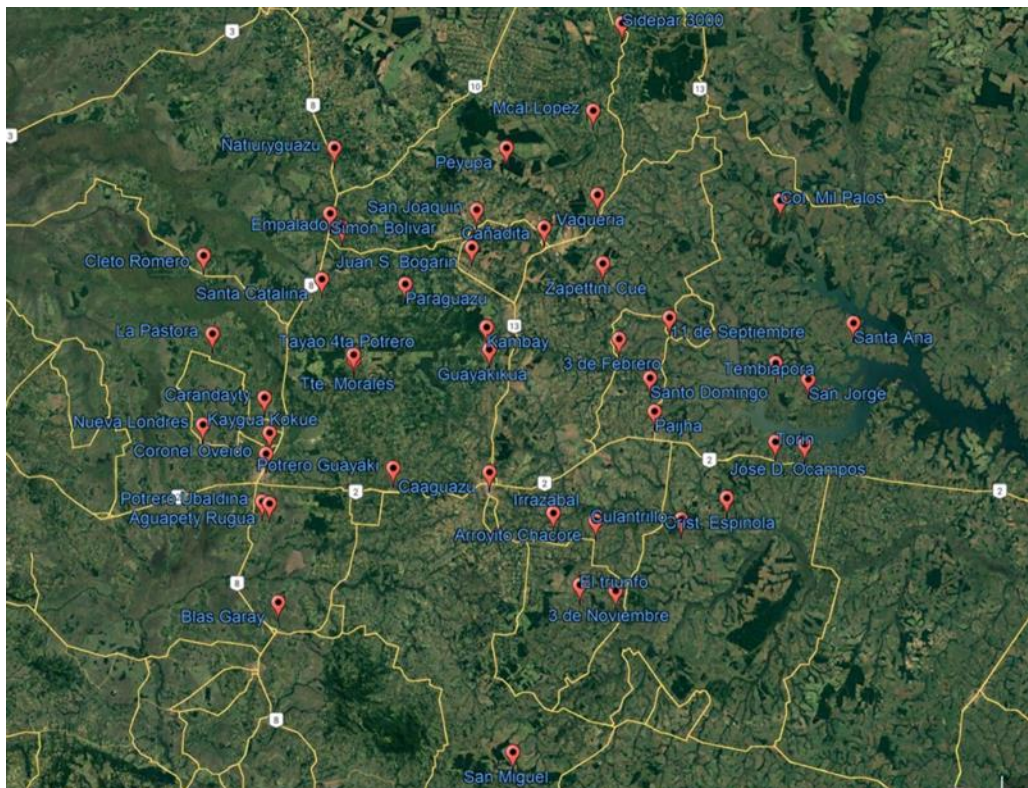
Métodos

Estudio observacional descriptivo, de corte transversal, con un enfoque mixto. El tipo de muestreo realizado fue no probabilístico, de casos consecutivos. Los datos se recopilaron entre los meses de octubre y diciembre, del año 2020.

Las muestras de agua se recolectaron y transportaron acorde a las directrices de la norma paraguaya NP 24 005 81.⁽⁶⁾

Se incluyeron todas las muestras que provenían de centros de asistencia sanitaria urbano y rural de diferentes sectores (representados en rojo) de los 22 distritos del departamento de Caaguazú, de Paraguay (Fig. 1).





Fuente: Imagen obtenida por el sistema *Google Earth*, programa que, instalado en el ordenador, nos permite navegar virtualmente por cualquier lugar del mundo. Incorpora fotos tomadas desde satélites.

Fig. 1 - Localización de los establecimientos sanitarios muestreados.

Se excluyeron aquellas muestras cuyos envases tuvieron roturas o sufrieron algún tipo de contaminación externa durante su transporte y las que no se procesaron en el día de su recolección. Se recolectaron 104 muestras de 500 mL de los grifos de agua, previamente desinfectados, de las áreas cuyo uso era de los funcionarios de blanco como salas de internación o consultorios y de las áreas cuyo uso era común (de funcionarios, pacientes o acompañantes) como sala de espera y recepciones, en cada recinto.

Las fuentes de alimentación de los grifos, eran pozos artesianos de agua tratada en 80 de las

muestras (agua tratada con químicos como cloro u otros desinfectantes) y eran tanques de agua potable en 24 de las muestras (tanques tipo tinaco de material plástico o fibra de vidrio).

Previo al análisis de las muestras de agua, se realizó el método de filtración de membrana (con matraz *Kitasato* embudo *Buchner* bomba de vacío, vaso de precipitado, membranas cuadrículadas de 47 mm de diámetro con poros de 0,5 micras y placas petri).⁽⁷⁾

Para la determinación de los microorganismos se emplearon los siguientes medios de cultivo en placas rehidrables (Cuadro).^(8,9)

Cuadro – Microorganismos y medios de cultivo

Microorganismos	Medios de cultivo
Conteo de heterotróficos totales	3M Petrifilm Aqua AQHC
Conteo de coliformes totales y termotolerantes	3M Petrifilm Aqua coliformes AQCC
Conteo de <i>Escherichia coli</i>	3M Petrifilm Aqua AQEC
Conteo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sartorius Cetrimide NPS

Ante crecimientos de coliformes y *Pseudomonas* en las placas rehidrables, se realizaron reaislamientos de colonias en medios convencionales con agares Levine y MacConkey para coliformes y agares Cetrimida y Mueller hinton para *Pseudomonas aeruginosa*.

La identificación de las especies bacterianas a partir de las cepas aisladas se realizó con sistemas miniaturizados basados en una interfaz de programación de aplicaciones (API, o *Application Programming Interface*, por sus siglas en inglés). Se utilizó API 20 E para *Escherichia coli* y API 20 NE para *Pseudomonas aeruginosa*. Además, se utilizaron pruebas adicionales como prueba de oxidasa, prueba de sulfhídrico indol movilidad (SIM) y prueba de fluorescencia.

Las especies y recuentos obtenidos se registraron en planilla electrónica Microsoft Office Excel 2017©. Para el procesamiento estadístico, dichos datos se exportaron al paquete de software estadístico STATA-16® 2019 (*Stata Corporation, College Station, Texas, EE.UU.*). Las variables se expresaron en frecuencias absolutas y relativas.

Para determinar la calidad de las aguas, se consideraron los criterios microbiológicos establecidos en la Norma Paraguaya N° 24-001-80, del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización

y Metrología (INTN). Los requisitos microbiológicos de la norma marcan un límite máximo de 500 UFC/mL de heterotróficos totales y 0 UFC/mL (ausencia) de coliformes totales, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.⁽¹⁾

El protocolo de este trabajo cuenta con la aprobación del comité de ética de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Santa Clara de Asís (USCA). Dictamen N°12/20. Además, este estudio cuenta con los permisos, de los directivos de cada uno de los centros de salud estudiados.

Resultados

Se analizaron un total de 104 muestras de agua provenientes de establecimientos sanitarios, de las

cuales 80 (77 %) provenían de centros de salud rurales (unidades de salud familiar y puestos de salud) y 24 (23 %) provenían de instituciones sanitarias urbanas (hospitales e institutos de salud).

Acorde a la norma nacional N° 24-001-80, del INTN, de las 104 muestras, 58 (56 %) fueron de calidad microbiológica aceptable y 46 (44 %) fueron de calidad microbiológica inaceptable.

De las 46 (44 %) muestras inaceptables, 42 (40 %) eran de pozos artesianos de centros de salud rural y 4 (4 %) eran de tanques de agua potable de instituciones de sanitarias urbanas.

Las causas por las que las muestras de agua fueran de calidad microbiológica inaceptable, fueron: 42 % por presencia de coliformes totales, 13 % por recuento de bacterias heterotróficas superior al límite tolerable, 11,5 % debido a la presencia de coliformes termotolerantes, 9,6 % debido a presencia de *Escherichia coli* y 2 % debido a la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* (Fig. 2).

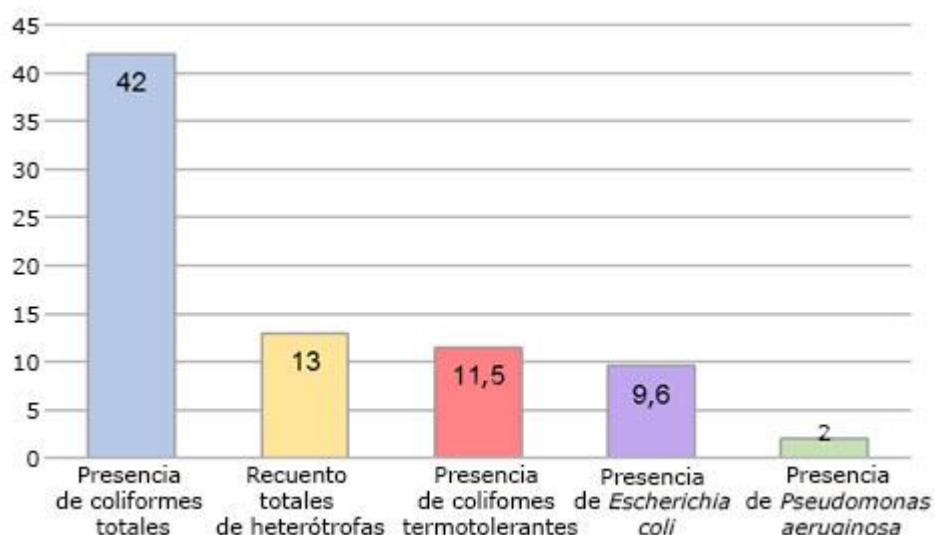


Fig. 2 - Causas de calidad microbiológica inaceptable de las muestras de agua de los establecimientos sanitarios (%)

De las 44 (42 %) muestras con presencia de coliformes se lograron aislar 53 cepas diferentes (en algunas muestras se aisló más de una especie). Además, se aislaron 2 cepas no coliformes con las que se totalizaron 55 especies aisladas.

Se muestran las especies aisladas en número y porcentaje (Tabla 1).

Tabla - Especies bacterianas aisladas en las muestras de agua de los establecimientos sanitarios (n=55)

Especies	n	%
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	15
<i>Escherichia coli</i>	10	9,6
<i>Citrobacter braakii</i>	8	8
<i>Citrobacter freundii</i>	7	7,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	4,8
<i>Citrobacter koseri</i>	4	3,8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	2,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2

Discusión

De los hallazgos de esta investigación, se destacan tres hechos. En primer lugar, la detección de un elevado número de muestras de agua con calidad microbiológicamente inaceptable (44 %) en los establecimientos de salud, hecho que es similar a lo visto en otros estudios, que detectan una contaminación microbiológica importante en muestras de agua potable de instituciones de salud y de zonas comunitarias.^(5,10,11)

En segundo lugar, que aunque la mayoría de las muestras tenían bacterias heterótrofas en rango, se aislaron frecuentemente microorganismos que deberían estar ausentes en el tipo de agua analizada, al igual que en investigaciones que se llevaron a cabo en países como Arabia Saudita, Colombia e India, en los cuales también se aislaron especies que deberían estar ausentes en el agua tratada.^(10,11,12)

En tercer lugar, las especies de coliformes más aisladas en este estudio fueron *Enterobacter cloacae* (15 %), *Escherichia coli* (9,6 %) y *Citrobacter braakii* (8 %). El aislamiento de estas especies es semejante a lo observado en otras investigaciones que detectan bacterias coliformes, un estudio en el que aislan *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella aerogenes* en agua potable de fábricas; y otro en el que aislaron *Escherichia coli* y *Citrobacter freundii* en agua potable de escuelas.^(12,13)

La alta frecuencia del aislamiento de coliformes en este estudio, podría indicar un mal saneamiento de las fuentes (pozos y tanques), un uso de productos desinfectantes ineficaces o una frecuencia reducida del tratamiento de aguas; puesto que la presencia de coliformes se erradica con facilidad con medidas de desinfección eficaces aplicadas con una frecuencia regular.^(4,14)

Adicionalmente, en este estudio se detectó la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* (2 %), de manera similar a otros estudios que analizan agua: 1) en muestras de agua potable de granjas de pollos, 2) *Pseudomonas* spp. en muestras de agua potable de centros de salud rurales y 3) aislaron *Pseudomonas aeruginosa* en agua potable comunitaria.^(5,11,15)

Respecto al aislamiento de cepas de la especie *Pseudomonas aeruginosa* en este trabajo, podría ser por un inadecuado mantenimiento de los reservorios de agua (pozos y tanques) o con la contaminación de estos reservorios o de sus conexiones (cañerías) con cepas ambientales o clínicas, dado que las bacterias del género *Pseudomonas* son capaces de resistir a la aplicación de medidas de desinfección y persisten en las fuentes y las conexiones mediante la formación de biopelículas.^(4,16)

Cabe mencionar, que en gran parte de los establecimientos de salud estudiados, los tratamientos del agua se realizaban solo con productos desinfectantes a base de cloro y se ejecutaban con una frecuencia disminuida o desconocida por los encargados. Hechos que respaldan las teorías expuestas, sobre los motivos por los cuales se hallaron las especies bacterianas citadas.

Por otro lado, a pesar de que no es una limitante, puesto que no fue el objetivo de este trabajo, sería beneficioso realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, para conocer el nivel de resistencia de las especies aisladas, información que permitirá profundizar sobre los hallazgos y que puede ser útil para otras investigaciones.

Se concluye que la mayoría de las muestras de agua fueron de calidad microbiológica aceptable; pero como se detectó un porcentaje considerable de muestras inaceptables y la presencia de especies como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, es necesario corregir las técnicas de tratamiento del agua y/o implementarlas con una mayor regularidad, para lograr erradicar las especies bacterianas potencialmente peligrosas de las fuentes de agua de los centros sanitarios.

Para culminar, se resalta que el hallazgo de especies termotolerantes como *Escherichia coli* y especies formadoras de biopelículas como *Pseudomonas aeruginosa*, son evidencia de que en los establecimientos de salud estudiados se deberían realizar correcciones en las técnicas de tratamiento del agua y en el mantenimiento de los reservorios de agua; y aconsejamos que una vez que se apliquen medidas correctivas se efectúen controles microbiológicos periódicos, para poder comprobar la eficacia de las medidas implementadas.

Referencias bibliográficas



1. Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN). Catálogo de normas paraguayas. NP 24 001 80. Agua Potable. Requisitos Generales. Asunción: INTN 2016. p. 1-12
2. Pacto Global Red Paraguay. Guía de uso eficiente de agua. Asunción: RPGP; 2015 [acceso 05/01/2021]. p.1-9. Disponible en: <https://pactoglobal.org.py/categoria/ambiente-3/>
3. Organización Mundial de la Salud. Agua para consumo humano. Ginebra: OMS; 2022 [acceso 01/01/2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
4. De La Cruz A, Murcia D. Eliminación de *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* de agua potable usando sistema de desinfección con luz ultravioleta y oxido de Titanio. Rev Centros. 2019 [acceso 08/01/2021];8(1):87-100. Disponible en: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/228/2281003006/>
5. Vukic L, Maestro N, Cenov A, Lušic D, Smolic K, Tolic S, *et al.* Occurrence of *P. aeruginosa* in Water Intended for Human Consumption and in Swimming Pool Water. Environments. 2021;8(132):1-18. DOI: <https://doi.org/10.3390/environments8120132>
6. Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. Norma paraguaya 24 005 81: Toma de muestras para el análisis físico-químico y bacteriológico de las aguas. Asunción: INTN; 2011.p.1–12 p.
7. Rice EW, Baird RB, Eaton AD, editors. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23rd ed. Washington. D. C.: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation; 2017. [acceso 01/09/2020]. Disponible en: https://beta-static.fishersci.com/content/dam/fishersci/en_US/documents/programs/scientific/technical-documents/white-papers/apha-water-testing-standard-methods-introduction-white-paper.pdf
8. Crowley E, Bird P, Fisher K, Goetz K, Boyle M, Benzinger J, *et al.* Comparative Evaluation of the 3MTM Petrifilm TM Aqua Plate Method vs. Multiple Reference Methods in Bottled Water-Claims Verification Study [reporte]. Cincinnati: Q Laboratories, Inc.; 2019 [acceso 12/09/2020]. Disponible en: <https://multimedia.3m.com/mws/media/7549170/3m-petriefilm-aqua-plate-study.pdf>
9. Tsoraeva A, Rodríguez MC. Comparación de dos medios de cultivo para el aislamiento selectivo y enumeración con filtro de membrana de *Pseudomonas aeruginosa* en agua. Microbiología. 2000



[acceso 10/10/2020];42(4):149-54. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=10640>

10. Acevedo Osorio GO, Durán Ospina P, Betancur CL. Calidad microbiológica del agua en dos instituciones de salud del eje cafetero, Colombia 2015. Arch Med. 2016 [acceso 11/03/2021];16(2):246-56. Disponible en: <https://revistasum.umanizales.edu.co/ojs/index.php/archivosmedicina/article/view/1617>

11- Pindi P, Yadav P, Shanker A. Identification of opportunistic pathogenic bacteria in drinking water samples of different rural health centers and their clinical impacts on humans. BioMed Res Internat. 2013;2013:348250. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/348250>

12. Abdel A, Hemida S, Abdellatif M. Evaluation of Microorganisms of Drinking Water of Rafha City, Northern Borders, Saudi Arabia. J Cytol Histol. 2016 [acceso 03/01/2021];7(3):1-7. Disponible en: <https://www.hilarispublisher.com/abstract/evaluation-of-microorganisms-of-drinking-water-of-rafha-city-northernborders-saudi-arabia-24104.html>

13. Iñiguez Muñoz LE, Anaya Esparza LM, Castañeda Villanueva AA, Martínez Esquivias F, Carvajal Hernández M, Méndez Roble MD. Calidad microbiológica del agua potable utilizada en escuelas públicas de la ciudad de Tepatitlán, Jalisco. Bol Ciencias Agropecuarias ICAP. 2022 [acceso 07/10/2022];8(15):33-9. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icap/article/view/7958>

14. Ríos Tobón S, Agudelo Cadavid R, Gutiérrez Builes L. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. Rev Fac Nac Salud Pública. 2017 [acceso 07/10/2022];35(2):236-47. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/fnsp/article/view/26353>

15. Maes S, Vackier T, Nguyen S, Heyndrickx M, Steenackers H, Sampers I, *et al.* Occurrence and characterization of biofilms in drinking water systems of broiler houses. BMC Microbiol. 2019;19(77):1-15. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1451-5>

16. Mulamattathil G, Bezuidenhout C, Mbewe M. Biofilm formation in surface and drinking water distribution systems in Mafikeng, South Africa. S Afr J Sci. 2014;110(11/12): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1590/sajs.2014/20130306>



Conflicto de intereses

Las autoras declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: Gladys Estigarribia, Cristel Kennedy.

Recolección de muestras: Anabel González, Cindy Cabriza.

Preparación y cultivo de muestras: Anabel González, Cindy Cabriza.

Análisis de muestras: Cristel Kennedy.

Interpretación de resultados: Cristel Kennedy.

Adquisición de fondos: los fondos de la Universidad Santa Clara de Asís, fueron gestionados a través de Gladys Estigarribia.

Investigación: Cristel Kennedy.

Metodología: Cristel Kennedy.

Administración del proyecto: Gladys Estigarribia.

Facilitación y transporte de Recursos (reactivos y equipos): Anabel González.

Software, análisis de datos y confección de gráficos: Cristel Kennedy.

Supervisión: Gladys Estigarribia.

Redacción-borrador original: Cristel Kennedy.

Revisión final: Gladys Estigarribia.

Financiamiento

Estudio financiado por la Universidad Santa Clara de Asís (USCA). Caaguazú, Paraguay.

