

Detección de bacterias productoras de H<sub>2</sub>S para medir la calidad de agua potable;  
comparación con medición de las coliformes fecales por el método Millipore en el campo  
de Nicaragua.

\*Iván Lira, \*Arnulfo Matamoros, \*\*Frederick Jacob, \*Francisco Baltodano y \*\*Robert  
Harvey

\*ENACAL/DAR, Matagalpa/Jinotega, Nicaragua

\*\*TASCA, Taller de Salud Campesina, Raleigh, NC

## INTRODUCCION

Para medir y controlar la calidad del agua potable en zonas rurales de Nicaragua así como en las ciudades de Matagalpa, Jinotega y Madriz hemos utilizado el método Millipore de filtración por membrana para medir coliformes fecales. Este método tiene varias ventajas: es un método estándar, reconocido en todo el mundo como confiable. Es posible ocuparlo no solamente en laboratorios urbanos grandes sino también en los rurales sencillos. Durante los 12 años de uso en Nicaragua, hemos visto que es posible capacitar técnicos de varios niveles educativos y experiencia en su uso, y que sus resultados han sido siempre confiables; lo que nos permite decir con plena confianza que el agua que sale con la prueba con cero coliformes fecales en 100ml de agua es completamente segura para tomar.

Sin embargo, tiene algunas desventajas. La más destacada es que para lograr resultados confiables es necesario incubar las muestras a una temperatura elevada y muy exacta. Por eso el método necesita una incubadora bastante cara y una fuente confiable de electricidad.

Entonces, para complementar el método Millipore para medir la calidad del agua potable buscamos otro método que se pueda utilizar en áreas rurales, sin necesidad de laboratorio ni de una fuente de electricidad. Revisamos varios métodos de presencia/ausencia, tal como los que ocupan MUG como reactivo testigo; sin embargo la mayoría salieron con dos desventajas: necesitaron una incubadora como el método Millipore, y el costo de probar cada muestra resultó demasiado elevado. Sin embargo el método de medir la presencia/ ausencia de bacterias productoras de  $H_2S$  (Manja et al. , 1982 ) aparentemente no presentó estas desventajas; necesitó incubación de las muestras sólo a la temperatura ambiente, y los reactivos son baratos, más o menos la mitad de los de las demás pruebas. Hay publicados varios artículos que afirman que en muestras de agua potable en varios países del mundo, especialmente los tropicales, había una buena correspondencia entre la presencia de coliformes fecales y de las bacterias productoras de  $H_2S$  (Manja et al. (1982), Kromoredgo & Fujioa (1991), Kaspar et al. (1992), Grant & Ziel (1996)). La correlación no es perfecta. Dicen que es mejor con las coliformes totales (Grant & Ziel (1996)), y un estudio en Malasia resultó con poca correlación (Desmarchelier et al, 1992). Sin embargo el método parecía tener buenas posibilidades para nuestros propósitos. Empezamos entonces un estudio para confirmar que en las aguas de Matagalpa y Jinotega hubiera una correspondencia entre la presencia de coliformes fecales y de bacterias productoras de  $H_2S$  igual a la afirmada por otros y suficiente para que el método sirviera para vigilar la calidad del agua potable en el campo de Nicaragua.

## MÉTODOS

### **Método Millipore para medir coliformes fecales:**

Ocupamos el método de filtración por membrana para medir coliformes fecales descrito en "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" publicado por la American Public Health Association y aprobado por el Comité de Métodos Estándares en 1991. Los filtros ocupados eran de Gelman o de Millipore Corp. y el medio de cultivo era el mFC de Difco.

### **Método para detectar bacterias productoras de H<sub>2</sub>S.**

Modificamos el método de Manja *et al* utilizando las bolsas plásticas estériles "Whirlpak" de 118 ml (Nasco, Fort Atkinson, WI; Cat# B1062) en vez de las botellas estériles. Todo el aparato se contiene en una caja de plástico de aproximadamente 40 x 20 x 20 centímetros (vea Figura 1). Hay un portabolsas que puede aceptar hasta 15 bolsas Whirlpak, un termómetro, y contenedores para algodón, alcohol y las cápsulas del medio de cultivo. Ocupamos el medio de cultivo "Pathoscreen P/A" (Hach Co., Loveland, CO, Cat.# 26106-96 ).



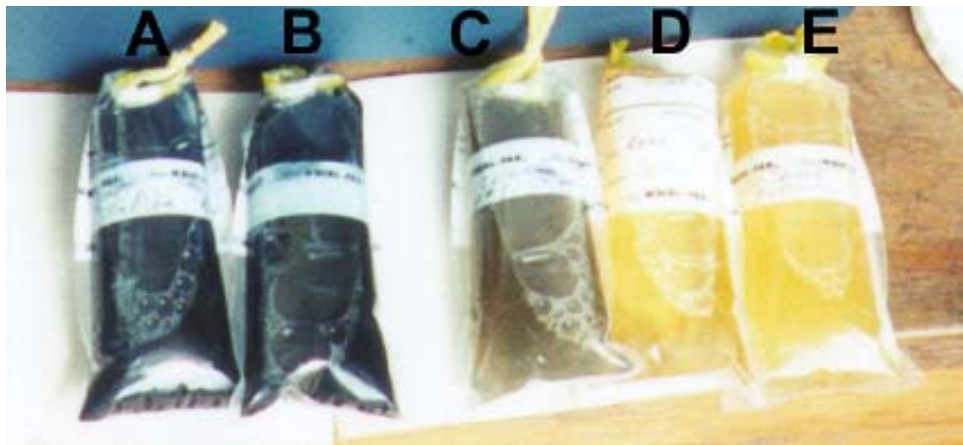
**Figura 1; Aparato del método para detectar bacterias productoras de H<sub>2</sub>S.**

Después de marcar la bolsa recolectora 'Whirlpak' para identificarla y la hora de muestreo, sacamos la muestra de agua según las normas de los "Métodos Estándares", llenando la bolsa hasta la línea de 100ml. Ponemos la bolsa todavía abierta en el portabolsas, y con algodón empapado con alcohol limpiamos y esterilizamos la cápsula de medio de cultivo 'Pathoscreen' y la navaja o tijera que ocupamos para abrir la cápsula cortándola. Agregamos el polvo del medio de cultivo a la muestra de agua y cerramos la bolsa cuidadosamente girando las alambres únicamente, no girando la bolsa en sí.

La bolsa se queda en el portabolsas con la caja cerrada de 24 a 30 horas. Revisamos de vez en cuando la temperatura en la caja para asegurarnos que está siempre entre los 25° y 35° C. Se ve algunos ejemplos de muestras incubadas en la Figura 2.

Registramos los resultados así;

- Negativo ( - ) Ningún crecimiento, muestra todavía amarilla y clara (e.g Muestras D & E)
- Negativo ( OTB ) Turbidez, tal vez color, pero no totalmente negro (e.g Muestra C).
- Positivo ( + ) Medio negro por completo, olor de H<sub>2</sub>S (e.g Muestras A & B)



**Figura 2. Muestras típicas después de la incubación para detectar bacterias productoras de H<sub>2</sub>S.**

#### **Diseño del estudio.**

Sacamos 215 muestras de los sistemas de agua de varias comunidades rurales de las provincias de Matagalpa y Jinotega, Nicaragua. Los tipos de sistemas muestreados se ven en la Tabla 1. De cada punto de muestreo sacamos dos muestras iguales. A una le agregamos enseguida el medio de cultivo "Pathoscreen P/A" para empezar la prueba de detección de bacterias productoras de H<sub>2</sub>S. Guardamos las otras en un termo sin hielo hasta que regresáramos al laboratorio donde realizamos la prueba Millipore para medir coliformes fecales. Después de leer y registrar los resultados de cada prueba los comparamos usando el programa estadístico "JMP".

## RESULTADOS

Un resumen de los sistemas muestreados se ve en la Tabla 1. Son representativos de los que se encuentran en las áreas rurales de Nicaragua e incluyen en los nombrados "Otros" un río y dos envases caseros de agua.

**Tabla 1. Resumen de sistemas de agua muestreados en este estudio.**

Tipo de sistema	Muestras total	Muestras con cloro	Muestras con Cero Coliformes Fecales /100 ml		Coliformes Fecales /100 ml Promedio/muestra
			# muestras	% del total	
Pozo perforado	95	4	71	75	34
Pozo excavado a mano	7	0	1	14	80
Miniacueducto por gravedad:					
Captación abierta	41	10	8	20	22
Captación cerrada	69	0	32	46	14
Otros	3	0	1	33	
Suma	215	14	113	53	26

Según la prueba Millipore, 113 (53%) de las 215 muestras salieron con cero coliformes fecales, mientras 100 (47%) salieron sin bacterias productoras de H<sub>2</sub>S.

En la Tabla 2 se presentan los resultados del estudio en forma de una Tabla de Contingencia en que los resultados de la prueba de coliformes fecales así como los de detección de bacterias productoras de H<sub>2</sub>S se representan sólo como ausencia (cero) o presencia (más de cero).

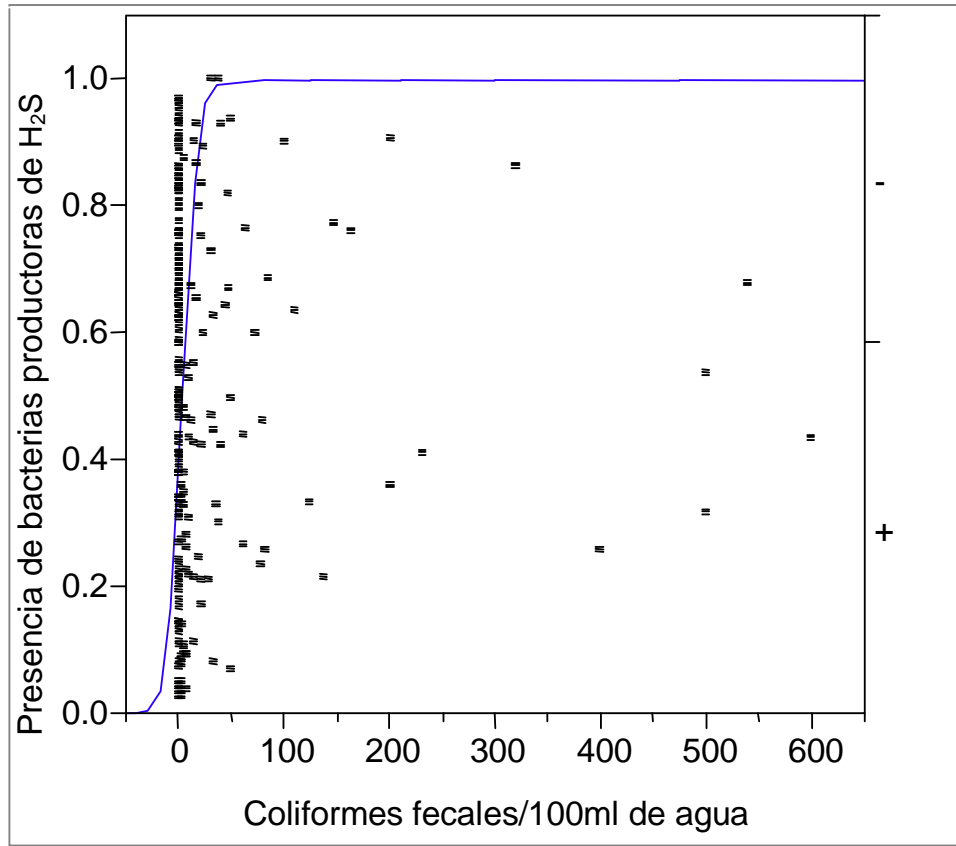
Las dos pruebas concuerdan en el 86% de las muestras y los análisis estadísticos dicen que esta correspondencia tiene una probabilidad de menos de 0.01% de ocurrencia por casualidad. Es importante señalar que de las muestras que salieron sin correspondencia, la mayoría (22 de 30, 10% de todas de las muestras) fueron "positivos falsos", es decir muestras que salieron con presencia de las bacterias productoras de H<sub>2</sub>S sino cero coliformes fecales. Sólo el 3.7% de todas las muestras salieron con ausencia de las bacterias productoras de H<sub>2</sub>S donde había más de cero coliformes fecales, es decir, "negativos falsos".

**Tabla 2. Comparación de las dos pruebas de agua potable por medio de "Tabla de Contingencia"**

		Bacterias productoras de H <sub>2</sub> S		
Conteo (% de Total)		Presencia	Ausencia	Total (% de Total)
<b>Coliformes Fecales, Método Millipore</b>	<b>Presencia</b>	93 (43.3%)	8 (3.7%)	101 (47%)
	<b>Ausencia</b>	22 (10.2%)	67 (42.8%)	114 (53%)
Total (% de Total)		115 (53.5%)	100 (46.5%)	215 (100%)

<b>Prueba estadística</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b>Prob &gt; <math>\chi^2</math></b>
Razón de probabilidad	129	<.0001
Pearson	114	<.0001
Prueba exacta de Fisher	--	<.0001

Este análisis no hace caso a la concentración de coliformes fecales en cada muestra y cómo ésta puede afectar la correspondencia entre las dos pruebas. Para hacerlo, hicimos la regresión logística y los resultados se presentan en la Figura 3. La estimación de la fuerza de la correspondencia salió igual al 87%.



**Figura 3. Comparación de las dos pruebas de agua potable por regresión logística.**

## CONCLUSIÓN

Este estudio confirma que en las aguas de Matagalpa y Jinotega hay una correspondencia entre la presencia de coliformes fecales y de las bacterias productoras de H<sub>2</sub>S igual a la afirmada por los estudios en otros países (Manja et al. (1982), Kromoredgo y Fujioa (1991), Kaspar et al. (1992), Grant y Ziel (1996)). Un análisis los datos por dos métodos estadísticos dio un nivel de correspondencia del 86%. Donde las dos pruebas no concordaban la mayoría eran positivos falsos; en sólo el 3.7% de las muestras la prueba para medir la presencia/ausencia de bacterias productoras de H<sub>2</sub>S salió como negativo falso.

La detección de bacterias productoras de H<sub>2</sub>S no se puede sustituir con la medición de las coliformes fecales por el método Millipore como la prueba estándar para medir la calidad sanitaria del agua potable. Sin embargo, la prueba tiene su papel en el trabajo de la salud pública. Donde no hay laboratorio, tal como en el campo, el método nos sirve muy bien como una prueba alternativa para estimar la calidad del agua potable, una prueba que es fácil, barata y confiable.

## Bibliografía

- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Eaton, A.D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition. Washington, DC, American Public Health Association. (1998).
- Desmarchelier, P., Lew, A. et al. (1992) An evaluation of the hydrogen sulfide water screening test and coliform counts for water quality assessment in rural Malaysia. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **86**(4) : 448-450
- Grant, M. A. and C. A. Ziel (1996). "Evaluation of a simple screening test for faecal pollution." J. Water SRT-Aqua **45**: 13 - 18.
- Kaspar, P., I. Guillen, et al. (1992). "Evaluation of a simple screening test for the quality of drinking water systems." Tropical Medicine & Parasitology **43**(2): 124-7.
- Kromoredgo, P. and R. S. Fujioa (1991). "Evaluation of three simple methods to assess the microbial quality of drinking water in Indonesia." Environ. Toxicol. Water Quality **6**: 259 - 270.
- Manja, K. S., M. S. Maurya and K.M. Rao (1982). "A simple field test for the detection of faecal pollution in drinking water." Bulletin of the World Health Organization **60**(5): 797-801.
- JMP Software, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA