

Grado en Biología

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

Análisis microbiológico de aguas naturales

Análise microbiolóxica de augas naturais

Microbiological analysis of natural waters



Daniel Prieto Sierra

Junio, 2017

Tutores Académico: María Concepción Herrero López José Pablo Fidalgo Paredes

ÍNDICE:

RESUMEN:	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. OBJETIVO	9
3. MATERIAL Y MÉTODOS	10
3.1 TOMA DE MUESTRAS	10
3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	10
3.2.1 RECUENTO DE MICROORGANISMOS CULTIVABLES A 37°C	11
3.2.2 RECUENTO DE MICROORGANISMOS CULTIVABLES A 22°C	12
3.2.4 RECUENTO DE COLIFORMES FECALES	13
3.2.5 RECUENTO DE ENTEROCOCOS FECALES	13
3.2.6 RECUENTO DE Pseudomonas aeruginosa	14
3.2.7 RECUENTO DE Clostridium perfringens	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
5. CONCLUSIONES	18
6. BIBLIOGRAFÍA	20

RESUMEN:

En el Ayuntamiento de Ribadeo (Lugo) se estimó la carga microbiológica presente en el agua de cuatro fuentes (fuente del Valín, Sta. Cruz, Ove y fuente de Cedofeita), un río (río de Esteiro) y un pozo para determinar si cumplían los parámetros microbiológicos establecidos en el Real Decreto 140/2003 referidos a la calidad del agua de consumo humano. Los microorganismos analizados fueron los indicadores de contaminación fecal (grupo coliforme, enterococos y *Clostridium perfringens*), los microorganismos totales cultivables a 22°C y 37°C y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados obtenidos mostraron una baja abundancia de microorganismos cultivables y ausencia total del resto de indicadores en las cuatro fuentes y el pozo, mientras que la muestra de río presentó contaminación de origen fecal, siendo así sus aguas una posible fuente de transmisión de microorganismos patógenos.

Palabras clave: Agua, análisis microbiológico, fuente, contaminación fecal.

RESUMO:

No Concello de Ribadeo (Lugo) estimouse a carga microbiolóxica presente na auga de catro fontes (fonte do Valín, Sta. Cruz, Ove e fonte de Cedofeita), un río e un pozo para determinar se cumprían os parámetros microbiolóxicos establecidos no Real Decreto 140/2003 referidos á calidade da auga de consumo humano. Os microorganismos analizados foron os indicadores de contaminación fecal (grupo coliforme, enterococos e Clostridium perfringens), os microorganismos cultivables a 22°C e 37°C e Pseudomonas aeruginosa. Os resultados obtidos amosaron unha baixa abundancia de microorganismos cultivables e ausencia total do resto nas catro fontes e no pozo, mentres que no río supéranse amplamente tódolos parámetros analizados, sendo así as súas augas unha posible fonte de transmisión de microorganismos patóxenos.

Palabras chave: Auga, análisis microbiolóxico, fonte, contaminación fecal.

ABSTRACT:

Microbiological analyses of water from different points in Ribadeo village were carried out: four fountains (Fuente del Valín, fuente de Sta. Cruz, fuente de Ove y fuente de Cedofeita), one well and one river (río de Esteiro). Microbiological parameters related to water quality were estimated taking into account the normative published in the Real Decreto 140/2003 referred to potability of water. The microorganisms analysed were the indicators of faecal pollution ("coliform group", enterococci and *Clostridium perfrigens*), the cultivable microorganisms at a 22 and 37°C and *Pseudomonas aeruginosa*. The results obtained show a low concentrations of cultivable microorganisms and a complete absence of the remaining indicators in the four fountains and the well, while in the river all parameters analysed are substantially exceeded. Therefore, the river waters could be a potential source of transmission of pathogenic microorganisms.

Keywords: Water, microbiologycal analysis, fountain, faecal pollution.

1. INTRODUCCIÓN

La vida, tal y como la conocemos hoy en día, sería totalmente imposible sin la existencia de agua, pues desde los organismos más sencillos, hasta los animales y plantas más complejos, este elemento es indispensable para su supervivencia.

Tres cuartas partes de la Tierra están cubiertas por agua, pero solo aproximadamente el tres por ciento corresponde a agua dulce. Dentro de esta, el agua se encuentra repartida entre multitud de reservorios (Fig.1), disminuyendo así todavía más el porcentaje disponible para los organismos.

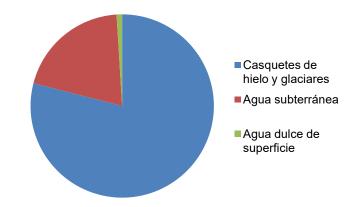


Fig.1 Distribución del agua dulce en la tierra (El agua, recurso necesario para la vida, 2007)

Desde un punto de vista de gestión de los riesgos sanitarios, el agua la podemos dividir en dos grandes grupos (Pascual Anderson et al., 2000):

- -Aguas de consumo: agua de distribución pública (grifo), aguas de captación individual (fuente, pozo, río) y aguas envasadas.
- -Aguas no destinadas al consumo: aguas para la preparación de hielo de uso industrial, aguas para lavado de material, aguas recicladas y aguas para acuicultura.
- El Real Decreto 140/2003, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo define ésta como:
- -Todas aquellas aguas, ya sea en su estado original, ya sea después del tratamiento, utilizadas para beber, cocinar, preparar alimentos, higiene personal y para otros usos domésticos, sea cual fuere su origen e independientemente de que se suministren al consumidor, a través de redes de distribución públicas o privadas, de cisternas, de depósitos públicos o privados.
- -Todas aquellas aguas utilizadas en la industria alimentaria para fines de fabricación, tratamiento, conservación o comercialización de productos o sustancias destinadas al consumo humano, así como a las utilizadas en la limpieza de las superficies, objetos y materiales que puedan estar en contacto con los alimentos.
- -Todas aquellas aguas suministradas para consumo como parte de una actividad comercial o pública, con independencia del volumen medio diario de agua suministrado.

Es primordial que el agua de consumo humano sea potable, así, para determinarlo, se deben de analizar tanto sus parámetros físico-químicos (pH, oxígeno disuelto, potencial redox, cationes y aniones presentes, radiactividad...) como los microbiológicos.

El análisis microbiológico del agua, tiene como objetivo determinar la presencia de microorganismos que puedan modificar sus características y puedan resultar dañinos para el ser humano (microorganismos patógenos). De esta forma, la transmisión a través del agua de organismos patógenos, fue la fuente más grave de epidemias de algunas enfermedades (Romero Rojas, 1999).

Entre las enfermedades más conocidas, cuyos agentes infecciosos pueden ser transmitidos por el agua destacan las siguientes (Romero Rojas, 1999):

- -Fiebre tifoidea (Salmonella typhi)
- -Cólera (Vibrio cholera)
- -Infecciones del oído (Pseudomonas aeruginosa)
- -Tularemia (Brucella tularensis)
- -Fiebre paratifoidea (Salmonella paratyphi)

Todas estas bacterias excepto *Pseudomonas aeruginosa*, provienen casi siempre de una contaminación fecal.

De esta forma, el análisis microbiológico del agua es vital para evitar la transmisión de epidemias por medio de este elemento. Este análisis no consiste en determinar cuáles son todos los microorganismos que están presentes en una muestra, sino en buscar los patógenos, o lo que es más fácil, buscar aquellos microorganismos que los acompañan y que además están presentes en gran número en el intestino de los mamíferos, por lo que son indicadoras de contaminación fecal y por lo tanto nos indicarían que el agua no es apta para el consumo humano. Así, estos microorganismos reciben el nombre de microorganismos indicadores.

Las características indispensables que debe presentar un microorganismo indicador son (Doyle et al., 2001):

- -Estar presente en agua contaminada y ausente en agua potable.
- -Estar presente en el agua cuando en ella hay patógenos.
- -La cantidad de organismos indicadores debe estar en relación con la cantidad de contaminación.
- -Tener más capacidad de supervivencia que los patógenos.
- -Tener propiedades estables y uniformes.
- -No ser dañinos para los animales y el hombre.
- -Estar presente en mayor número que los patógenos.
- -Ser fáciles de detectar y cultivar en medios sencillos.

Así los principales microorganismos indicadores son:

-Grupo coliforme: La Organización Internacional de Normalización (ISO) define el término coliforme como los organismos en forma de bastoncillos, no esporógenos, Gram negativos, oxidasa negativos, anaerobios facultativos, capaces de crecer en presencia de sales biliares u otros agentes de superficie que poseen actividades inhibidoras de crecimiento similares, y capaces de fermentar la lactosa con producción de ácido y

aldehído en 48 horas, a temperaturas de 35 a 37 °C (ISO 9308-1, 2014). Este grupo comprende los géneros *Escherichia, Enterobacter, Citrobacter...*, todas ellas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae (Rodier et al., 2011). A esta definición hay que añadir el término de coliformes fecales, los cuales presentarían las mismas propiedades después de una incubación a 44°C. Este grupo comprende, entre otras, las siguientes especies: *Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Citrobacter diversus* etc. (Rodier et al., 2011).

La detección de bacterias del grupo coliforme es uno de los análisis más utilizados, pues aparte de su facilidad de cultivo, la presencia de coliformes fecales nos indica una correlación directa con contaminación fecal.

- -Enterococos fecales: Los enterococos fecales son cocos Gram positivos, que se agrupan en cadenas, aerobios o anaerobios facultativos, catalasa negativos y fermentan la glucosa con producción de ácido a 37°C, en un tiempo máximo de 48h (Madigan et al., 2008). Los microorganismos de este grupo son buenos indicadores de contaminación fecal.
- -Clostridium perfingrens: Estas son bacterias de morfología bacilar, Gram positivas, anaerobias estrictas, capaces de formar esporas y con capacidad de reducir el sulfito a sulfuro (Madigan et al., 2008).

Son buenos indicadores de la contaminación fecal y su forma de espora, es mucho más resistente que las formas vegetativas de los coliformes fecales y los enterococos fecales, lo que nos permite detectar una contaminación fecal más antigua.

También se suele determinar la población microbiana global del agua (microorganismos cultivables), cuya elevada densidad de población podría deberse a un aporte de microorganismos exógenos y por lo tanto podría haber entre ellos microbiota patógena. Pertenecen a este grupo todas las bacterias aerobias, levaduras o mohos capaces de formar colonias en agar nutritivo tras la incubación en condiciones aerobias a 37 y 22 °C (ISO 6222, 1999).

Es conveniente realizar también la identificación de *Pseudomonas aeruginosa*, pues esta es una especie patógena capaz de crecer en el agua con concentraciones de nutrientes muy baja.

Así, tal y como se especifica en el Real Decreto 140/2003, un agua para cumplir los parámetros microbiológicos y ser potable debe de:

- -No exceder 100 UFC/ml de organismos cultivables tras 72h a 22°C (UFC: Unidades formadoras de Colonias).
- -Ausencia de coliformes totales en 100 ml de muestra.
- -Ausencia de Escherichia coli en 100 ml de muestra.
- -Ausencia de enterococos fecales en 100 ml de muestra.
- -Ausencia de *Clostridium perfringens* en 100 ml de muestra.

Otras normativas de calidad del agua (véase por ejemplo: ISO 16266, 2006) incluyen otros análisis como la ausencia en 100 ml de muestra de *Pseudomonas aeruginosa* y el número de microorganismos cultivables a 37°C.

2. OBJETIVO

En este estudio se llevó a cabo el análisis microbiológico de 6 muestras de agua provenientes de cuatro fuentes naturales, un pozo y un río de la zona de Ribadeo (Lugo), para determinar la potabilidad de las mismas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 TOMA DE MUESTRAS

Las muestras se tomaron en cuatro fuentes naturales, un pozo y un río todos ellos localizados en el Ayuntamiento de Ribadeo, provincia de Lugo. Sus localizaciones, fecha y hora de recogida fueron las siguientes:

- -Fuente del Valín (43°31'18.9"N 7°04'04.3"W) el 19 de febrero de 2017 a las 13:20h.
- -Fuente de Sta. Cruz (43°31'39.6"N 7°03'47.1"W) el 19 de febrero de 2017 a las 13:10h.
- -Fuente de Ove (43°31'53.9"N 7°03'10.8"W) el 5 de marzo de 2017 a las 13:00h.
- -Fuente de Cedofeita (43°29'17.4"N 7°07'34.1"W) el 5 de marzo de 2017 a las 12:30h.
- -Río de Esteiro (43°33'13"N 7°08'47.8"W) el 5 de marzo de 2017 a las 12:10h.
- -Pozo de una casa (43°30'47.8"N 7°04'06.7"W) el 5 de marzo de 2017 a las 12:45h.



Fig. 2 Localización de los puntos de muestreo

Una vez tomada la muestra, se midió la temperatura del agua de los distintos puntos, y ya en el laboratorio, utilizando un pH-metro Crison® pH Meter Classic 20, se determinó el pH de las distintas muestras.

El agua se guardó en botellas de dos litros previamente esterilizadas en un autoclave y se mantuvieron refrigeradas (5°C) hasta el momento de su uso. Con esto se consigue evitar el crecimiento de los microorganismos y evitar resultados incorrectos. Como la analítica se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la UDC, las botellas fueron guardadas en pequeñas neveras portátiles durante su transporte desde Ribadeo hasta A Coruña.

3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Para poder realizar un recuento de los diferentes microorganismos presentes en las muestras, es necesario cultivarlos en un medio que favorezca su crecimiento y así formen colonias, las cuales podremos contabilizar.

3.2.1 RECUENTO DE MICROORGANISMOS CULTIVABLES A 37°C (Apha-Awwa-WPCF, 1992)

En este caso, debido a que el número de microorganismos cultivables en las muestras podría ser elevado, se realizan diluciones decimales seriadas en una solución salina estéril (Fig. 3).

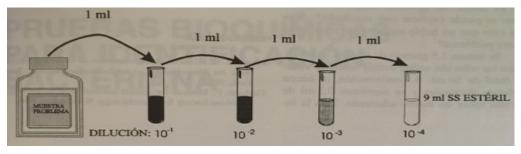


Fig.3 Esquema de la realización de diluciones seriadas (Díaz et al., 2003)

El medio de cultivo utilizado es PCA (Plate Count Agar). Su composición por litro es:

Peptona bacteriológica 5,0 g
Extracto de carne 3,0 g
Agar-agar 15,0 g
Agua destilada 1 litro

Una vez preparado, se esteriliza en autoclave y posteriormente se enfría hasta una temperatura próxima a 45°C, sin dejar que solidifique introduciéndolo para ello en un baño termostático. La siembra se realiza por inclusión en agar, depositando 1 ml de la dilución o diluciones adecuadas con la ayuda de una pipeta estéril en una placa Petri vacía estéril. A continuación, en esta misma placa, se vierte la cantidad necesaria de medio de cultivo para cubrir toda la placa y se homogeniza con pequeños movimientos circulares evitando que el agar toque la tapa. Se deja solidificar y se incuba a 37°C durante 48h.

Se realizan tres réplicas de cada dilución.

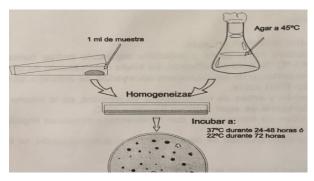


Fig.4 Siembra por inclusión

Pasadas las 48h, se toman las placas y se recuentan las colonias formadas en la dilución adecuada.

3.2.2 RECUENTO DE MICROORGANISMOS CULTIVABLES A 22°C (Apha-Awwa-WPCF, 1992)

El medio de cultivo y procedimiento son exactamente iguales que los explicados anteriormente, variando únicamente que la incubación de las placas se lleva a cabo a 22°C durante 72h.

3.2.3 RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES (Apha-Awwa-WPCF, 1992)

El medio de cultivo utilizado es el Agar Endo. Su composición por litro es:

Peptona	5,0 g
Extracto de levadura	1,5 g
Lactosa	12,5 g
Cloruro sódico	5,0 g
Fosfato dipotásico	4,4 g
Fosfato monopotásico	1,4 g
Sodio lauril fosfato	0,05 g
Desoxicolato sódico	0,1 g
Sulfito sódico	2,1 g
Fucsina básica	1,05 g
Agar-agar	15,0 g
Etanol 95%	20,0 ml
Agua destilada	980ml

Una vez preparado, se calienta hasta la ebullición, se enfría hasta 45°C y se reparte en placas Petri estériles.

Para el recuento se utiliza la técnica de filtro de membrana, de forma que se filtran 100 ml del agua a analizar sobre un filtro de membrana estéril Filter-Lab® con un diámetro de poro de 0,45 micras (Fig.5). Posteriormente, se toma el filtro con la ayuda de unas pinzas previamente flameadas, y se coloca sobre el medio de cultivo en la placa. La incubación se lleva a cabo con las placas invertidas a 37°C durante 24h.

Se realizan tres réplicas.

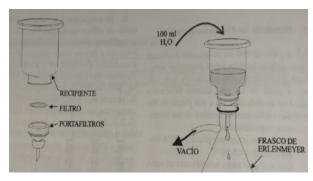


Fig. 5 Equipo de filtración (Díaz et al., 2003)

Pasadas las 24h, se recuentan las colonias que presentan un color iridiscente verdoso, debido a que los coliformes son capaces de fermentar la lactosa adquiriendo sus colonias este característico color.

3.2.4 RECUENTO DE COLIFORMES FECALES (Apha-Awwa-WPCF, 1992)

El medio de cultivo utilizado es el FC agar. Su composición por litro es:

Bacto-triptosa	10,0 g
Proteosa peptona	5,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Cloruro sódico	5,0 g
Lactosa	12,5 g
Sales biliares	1,5 g
Azul de anilina	0,1 g
Agar-agar	20,0 g
Agua destilada	1 litro

Después de preparar el medio se añaden 10 ml de una solución de ácido rosólico al 1% en NAOH 0,2 N. Se calienta hasta ebullición, se deja enfriar y se reparte en placas Petri vacías estériles.

Para el recuento se utiliza la técnica de filtro de membrana y se realizan tres réplicas.

La incubación se lleva a cabo con las placas invertidas a 44°C durante 24h.

Pasado este tiempo se realiza un recuento únicamente de las colinias azules. Cualquier otra colonia de color crema o gris no son coliformes fecales. El crecimiento de coliformes no fecales en este medio es bajo debido a la acción selectiva de la elevada temperatura y a la adición de la sal del ácido rosólico.

3.2.5 RECUENTO DE ENTEROCOCOS FECALES (Apha-Awwa-WPCF, 1992)

El medio de cultivo utilizado es el Agar KF *Streptococcus*. Su composición por litro de agua es:

Extracto de caseína	5,0 g
Extracto de carne	5,0 g
Extracto de levadura	10,0 g
Cloruro sódico	5,0 g
Glicerofosfato sódico	10,0 g
Maltosa	20,0 g
Lactosa	1,0 g
Azida sódica	0,4 g

Agar-agar	20 g
Agua destilada	1 litro

El medio se debe disolver calentándolo hasta ebullición y se deja hervir durante 5 minutos. Tras enfriarlo se añaden 10 ml de una solución estéril de TTC (cloruro de trifenil tetrazolio) al 1% y se reparte en placas Petri vacías estériles.

Para el recuento se utiliza la técnica de filtro de membrana y se realizan tres réplicas.

La incubación se lleva a cabo con las placas invertidas a 37°C durante 48h.

Pasado este tiempo se cuentan únicamente las colonias rojas o rosas, pues estas bacterias son capaces de fermentar la lactosa y maltosa del medio y además el TTC actúa como agente selectivo.

3.2.6 RECUENTO DE Pseudomonas aeruginosa (Apha-Awwa-WPCF, 1992)

El medio de cultivo utilizado es el Agar base de Cetrimida. Su composición por litro de agua es:

Peptona	20,0 g
Cloruro de magnesio	1,4 g
Sulfato potásico	10,0 g
Agar-agar	13,6 g
Cetrimida	0,3 g
Agua destilda	1 litro

Después de preparar el medio se añaden 10 ml de glicerol y se deja hervir durante 1 minuto. Se deja enfriar y se reparte en placas Petri vacías estériles.

Para el recuento se utiliza la técnica de filtro de membrana y se realizan tres réplicas.

La incubación se lleva a cabo con las placas invertidas a 37°C durante 24h.

Pasado este tiempo el recuento se realiza bajo luz UV, pues el medio estimula la producción de fluorescencia de esta especie, de forma que las colonias se verán fluorescentes.

3.2.7 RECUENTO DE Clostridium perfringens (Apha-Awwa-WPCF, 1992)

El medio de cultivo utilizado en este caso es el Agar SPS. Su composición por litro de agua es:

Sulfito sódico	0,5 g
Polimixina sulfato	0,01 g
Sulfodiacina sódica	0,12 g
Peptona de caseína	15 g
Extracto de levadura	10 g

Citrato férrico	0,5 g
Tioglicolato sódico	0,1 g
Polisorbato 80	0,05 g
Agar-agar	15,0 g
Agua destilada	1 litro

Una vez preparado, se reparten 20 ml de medio en tubos de 50 ml y se esterilizan en autoclave. En el momento de realizar el análisis, se toman 3 tubos para cada muestra y se funden en un baño termostático. Posteriormente se siembra cada tubo con 20 ml del agua a analizar, se homogeniza y se incuba a 37 °C durante 48h

Pasado este tiempo, las colonias de *Clostridium perfringens* aparecerán de color negro debido a la formación de sulfuro de hierro por reducción del sulfito.

Es conveniente realizar un primer recuento pasadas 24h, pues si la densidad de bacterias es muy elevada, el tubo puede volverse totalmente negro y sería imposible realizar un recuento fiable.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la temperatura y pH obtenidos para cada muestra, mientras que en las Tablas 2 a 7 se presentan los resultados microbiológicos que se obtuvieron para cada muestra de agua analizada.

En la muestra correspondiente al manantial de Valín (Tabla 2), se obtuvo únicamente crecimiento de microorganismos aerobios, tanto a 37 como a 22°C, estando no obstante dentro del rango permitido en los parámetros microbiológicos (B.O.E., RD140/2003)

En la fuente de Sta. Cruz (Tabla 3) se observa también crecimiento de microorganismos aerobios a 37 y 22°C, aunque dentro del rango permitido; ausencia para el resto de microorganismos indicadores.

En la fuente de Ove (Tabla 4) se observa un bajo recuento de microorganismos aerobios y ausencia total del resto de microorganismos indicadores.

En la muestra correspondiente a la fuente de Cedofeita (Tabla 5) se observa igualmente un bajo crecimiento de microorganismos aerobios y ausencia total del resto de microorganismos indicadores.

La muestra correspondiente al agua de pozo (Tabla 6) presenta bajos recuentos de microorganismos aerobios y ausencia total del resto de microorganismos indicadores.

Así, los resultados obtenidos muestran que todas las fuentes y el pozo cumplen con los parámetros establecidos en el Real Decreto 140/2003.

Todos estos resultados coinciden con las datos recogidos en el último informe técnico publicado por el Ministerio de Sanidad acerca de la calidad del agua de consumo humano en España (Ministerio de Sanidad, 2017). El resultado obtenido en el pozo analizado también concuerda con datos obtenidos en otros pozos de Galicia (Molinero Huguet et al., 1998).

Por último, en la muestra correspondiente al agua del río de Esteiro (Tabla 7), se superan ampliamente para todos los parámetros microbiológicos analizados los valores establecidos en el Real Decreto 140/2003. No obstante no se detectó presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la muestra analizada.

La muestra tomada en el río Esteiro indica la presencia de contaminación fecal. No obstante, la muestra tomada estaría dentro del grado de aceptabilidad para aguas de baño establecido por la Directica 2006/7/CE relativa a la gestión de la calidad de las aguas de baño. Por ello sería necesario tener una serie temporal mayor para determinar la calidad microbiológica de estas aguas y decidir si sería necesario el establecimiento por parte de las autoridades pertinentes de medidas de gestión adecuadas.

Por tanto, los resultados indican un agua en mal estado microbiológico con una elevada carga de microorganismos de origen fecal, los cuales podrían acompañar a microorganismos potencialmente patógenos. Esta contaminación fecal proviene posiblemente de los vertidos que realizan industrias ganaderas aguas arriba de la zona de muestreo.

Este río desemboca en la playa de Esteiro, una playa muy concurrida en los meses de julio y agosto, de forma que podría ocasionar un grave problema de salud a los veraneantes que entren en contacto con sus aguas.

Por otro lado, cabe destacar que las muestras fueron tomadas en épocas en las cuales la temperatura del agua no es muy adecuada para el desarrollo de microorganismos. De forma que si se repitieran estos análisis en meses más calurosos, posiblemente se obtuvieran resultados diferentes.

Tabla 1. Temperatura y pH de cada muestra

	VALÍN	STA. CRUZ	OVE	CEDOFEITA	POZO	RÍO
Temperatura	14°C	11°C	13°C	13°C	13°C	11°C
рН	6,97	7,03	7,95	8,19	8,18	7,92

Tabla 2. Resultados microbiológicos, en unidades formadoras de colonia (UFC) por volumen de muestra obtenidas en el manantial de Valín.

VALÍN	Micro aero (UFC	bios	Coliformes totales (UFC/100ml)	Coliformes fecales (UFC/100ml)	Enterococos (UFC/100ml)	Pseudomonas aeruginosa (UFC/100ml)	Clostridium perfringens (UFC/20ml)
	37°C	22°C					
	8	1	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0
	9	2	0	0	0	0	0
Media	8	1	0	0	0		0
Desv.	1	1	0	0	0		0

Tabla 3. Resultados microbiológicos, en unidades formadoras de colonia (UFC) por volumen de muestra obtenidos en la muestra de agua de la fuente de Sta. Cruz.

STA. CRUZ	aer	roorg. obios C/ml)	Coliformes totales (UFC/100ml)	Coliformes fecales (UFC/100ml)	Enterococos (UFC/100ml)	Pseudomonas aeruginosa (UFC/100ml)	Clostridium perfringens (UFC/20ml)
	37°C	22°C					
	4	11	0	0	0	0	0
	5	11	0	0	0	0	0
	3	13	0	0	0	0	0
Media	4	11,67	0	0	0		0
Desv.	1	1,15	0	0	0		0

Tabla 4. Resultados microbiológicos, en unidades formadoras de colonia (UFC) por volumen de muestra obtenidos en el manantial de Ove.

OVE	Micro areo (UFC		Coliformes totales (UFC/100ml)	Coliformes fecales (UFC/100ml)	Enterococos (UFC/100ml)	Pseudomonas aeruginosa (UFC/100ml)	Clostridium perfringens (UFC/20ml)
	37°C	22°C					
	1	0	0	0	0	0	0
	1	1	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
Media	0,67	0,33	0	0	0		0
Desv.	0,58	0,58	0	0	0		0

Tabla 5. Resultados microbiológicos, en unidades formadoras de colonia (UFC) por volumen de muestra obtenidos la fuente de Cedofeita.

EDOFEITA		Microorg. aerobios (UFC/ml)		Coliformes totales (UFC/100ml)	Coliformes fecales (UFC/100ml)	Enterococos (UFC/100ml)	Pseudomonas aeruginosa (UFC/100ml)	Clostridium perfringens (UFC/20ml)
		37°C	22°C		1			
		0	1	0	0	0	0	0
		1	1	0	0	0	0	0
		1	1	0	0	0	0	0
	Media	0,67	1	0	0	0		0
	Desv.	0,58	0	0	0	0		0

Tabla 6. Resultados microbiológicos, en unidades formadoras de colonia (UFC) por volumen de muestra obtenidos en el pozo.

POZO	Microorg. aerobios (UFC/ml)		Coliformes totales (UFC/100ml)	Coliformes fecales (UFC/100ml)	Enterococos (UFC/100ml)	Pseudomonas aeruginosa (UFC/100ml)	Clostridium perfringens (UFC/20ml)
	37°C	22°C					
	2	3	0	0	0	0	0
	0	1	0	0	0	0	0
	2	2	0	0	0	0	0
Media	1,33	2	0	0	0		0
Desv.	1,15	1	0	0	0		0

Tabla 7. Resultados microbiológicos, en unidades formadoras de colonia (UFC) por volumen de muestra obtenidos en el río.

RÍO	Microorg. aerobios (UFC/ml)		Coliformes totales (UFC/100ml)	Coliformes fecales (UFC/100ml)	Enterococos (UFC/100ml)	Pseudomonas aeruginosa (UFC/100ml)	Clostridium perfringens (UFC/20ml)
	37°C	22°C					_
	400	150	79	154	236	0	12
	100	160	92	173	226	0	12
	300	140	85	146	207	0	14
Media	266,67	150	85,33	157,67	223		12,67
Desv.	152,75	10	6,51	13,87	14,73		1,15

5. CONCLUSIONES

- 1. Los resultados obtenidos muestran que todas las fuentes y el pozo cumplen con los parámetros recogidos en el Real Decreto 140/2003 en el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
- 2. Los resultados analíticos de la muestra tomada en el río de Esteiro indican la presencia de microorganismos de origen fecal, que podrían acompañar a microorganismos potencialmente patógenos.

CONCLUSIÓNS

- 1. Os resultados obtidos amosan que tódalas fontes e o pozo cumpren cos parámetros establecidos no Real Decreto 140/2003 no que se establecen os criterios sanitarios de calidade da auga de consumo humano.
- 2. Os resultados analíticos da mostra tomada no río de Esteiro indican a presenza de microorganismos de orixe fecal, que poderían acompañar a microorganismos potencialmente patóxenos.

CONCLUSIONS

- 1. The obtained results showed that all fountains and the well fulfil the parameters established in the Royal Decree 140/2003 in which health criteria of water quality of human comsumption are established.
- 2. The analytical results of the sample taken on the "río de Esteiro" indicate the presence of microorganismsmof faecal origin, which could go with potentialy pathogenic microorganisms.

6. BIBLIOGRAFÍA

APHA-AWWA-WPCF. 1992. "Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales". Ed. Díaz de Santos, pp. 9/64 - 9/128.

Boletín Oficial del Estado. Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. Ministerio de la Presidencia. B.O.E. núm. 45 de 21 Febrero 2003.

Diario Oficial de la Unión Europea. Directiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 15 de febrero de 2006 relativa a la gestión de la calidad de las aguas de baño y por la que se deroga la Directiva 76/160/CEE. (DO L 64 de 4.3.2006, p. 37).

El agua, recurso necesario para la vida. 2007. 1ª edición. Ed. Cultural, 248 pp.

Gamazo de la Rasilla, C., Alonso-Urmeneta, B., Díaz, R. y López-Goñi, I. 2003. "Manual práctico de microbiología". 2ª edición. Ed. Alfaomega, 216 pp.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., y Parker, J. Brock "Biología de los Microorganismos". 10^a edición. Ed Prentice-Hall. Madrid, 2003, 1011 pp.

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Iguadad. 2017. "Calidad del agua de consumo humano en España 2015". Informe técnico. 347 pp.

Molinero Huguet, J., Soriano Hoyuelos, G. y Samper Calvete, J. 1998 "Calidad y contaminación de las aguas subterráneas en Galicia: situación actual y estudio de detalle en la cuenca del Valiñas. Jornadas sobre contaminación de aguas subterráneas: pp.255-261.

Pascual Anderson, M. y Calderón Pascual, V. 2000. "Microbiología alimentaria". 2ª edición. Ed. Díaz de Santos, 441 pp.

Rodier, J., Legube, B. y Merlet, N. 2011. "Análisis del agua". 9ª edición. Ed. Omega, 1539 pp.

Romero Rojas, J. 1999. "Calidad del agua". 2ª edición. Ed. Alfaomega, 273 pp.

Smool, L.M., Pierson, M.D., 2001. Microorganismos indicadores y criterios microbiológicos. En "Microbiología de los alimentos". Doyle, M., Beuchat, L., Montville, T. eds. 1ª edición. Ed. Acribia. 799 pp.

UNE-EN ISO 9308-1:2014. Calidad del agua. Recuento de *Escherichia coli* y de bacterias coliformes. Parte 1: método de filtración por membrana para aguas con bajo contenido de microbiota. (ISO 9308-1:2014). AENOR. Madrid