

ARTICULO ORIGINAL

Determinación de la calidad microbiológica de las aguas de pozo artesiano de distritos de los departamentos Central, Cordillera y municipio Capital

Determination of the microbiological quality of the water of artesian wells in the districts of Central and Cordillera departments and the capital

***Sotomayor F, Villagra V, Cristaldo G, Silva L, Ibáñez L**

Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN). Asunción-Paraguay

RESUMEN

Entre las fuentes principales que suministran agua para consumo humano se encuentran los acuíferos, que son formaciones geológicas que almacenan agua y actúan como depósito y reserva y se encuentran en toda la superficie terrestre. La explotación se realiza mediante pozos artesianos. La demanda creciente de consumo de agua potable en zonas densamente pobladas han requerido su instalación. El objetivo de este estudio fue determinar el grado de contaminación expresado en la concentración de coliformes fecales, totales y aerobios mesófilos en muestras de agua de pozo del departamento Central, Cordillera y municipio Capital, dentro del límite de afloramiento del acuífero Patiño. Se evaluaron 57 muestras de agua de pozo artesiano de 20 a 130 m de profundidad, tratadas y no tratadas remitidas por propietarios de pozos particulares y aguaterías al INTN durante el año 2008. Se usó la técnica de tubos múltiples para la determinación de coliformes totales y fecales y la de número más probable para aerobios Mesófilos. Fueron clasificadas como contaminadas el 58%(33/57) de las muestras. En las aguas tratadas el 12,5; 40 y 31,2% tenían valores fuera de lo permitido para coliformes fecales, aerobios mesófilos y coliformes totales respectivamente. En aguas no tratadas el 19,5; 61,5 y 48,8% tenían coliformes fecales, aerobios mesófilos y coliformes totales, respectivamente, en niveles fuera de lo permitido de acuerdo a lo establecido en la Norma Paraguaya NP 24 001 80 (5ª edición). Es importante detectar la contaminación microbiológica en las aguas subterráneas, ya que constituyen fuentes de agua potable.

Palabras claves: acuífero, pozo artesiano, calidad microbiológica.

ABSTRACT

Among the major sources that supply drinkable water are the aquifers which are geological formations that store water and act as a deposit and reserve, being in the entire terrestrial surface. Their exploitation is performed by artesian wells and the increasing demand for drinkable water in densely populated areas has forced the installation of these wells. The aim of this study was to determine the degree of contamination expressed by the concentration of fecal, total coliforms and aerobic mesophilic bacteria in samples of water from artesian wells from the Central and Cordillera departments and the capital city, within the limits of the Patiño aquifer outcrop. We evaluated 57 water samples from artesian wells of 20 to 130 m depth, treated and untreated, that were sent to INTN by owners of artesian wells and water sellers in 2008. We used the multiple tube technique for the determination of total and fecal coliforms and the most probable number for aerobic mesophiles. Of the samples, 58% (33/57) were classified as contaminated. In treated water, 12.5, 40.0 and 31.2% of fecal coliforms,

**Autor Correspondiente: Ing. Qca. Fabiola Sotomayor. Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN) Asunción, Paraguay. Email: rsotomayor@intn.gov.py
Fecha de recepción: diciembre de 2012; Fecha de aceptación: mayo de 2013*

aerobic mesophiles and total coliforms respectively had values outside the permitted limits. In untreated water, 19.5, 61.5 and 48.8 % of fecal coliforms, aerobic mesophiles and total coliforms respectively had values outside the permitted limits by the provisions of the Paraguayan Standard 24 001 80 (5th edition). It is important to detect microbiological contamination in groundwater, as they are sources of drinkable water.

Keywords: acuífero, artesian well, microbiological quality.

INTRODUCCIÓN

Entre las fuentes principales que suministran agua para consumo humano se encuentran los acuíferos, los cuales son formaciones geológicas que almacenan agua y actúan como depósito y reserva (1). En nuestro país los principales acuíferos son: Guaraní, Yrenda y Patiño. Este último abarca el área comprendida por el triángulo formado por Lambaré al suroeste, Limpio al noroeste y Paraguarí al sureste. Las cuencas del lago Ypacaraí y del acuífero Patiño se encuentran administrativamente en las gobernaciones de Central, Cordillera y Paraguarí y geográficamente en un total de 27 municipios: Limpio, Luque, Areguá, Itauguá, Ypacaraí, San Bernardino, Emboscada, Altos, San Lorenzo, Capiatá, J.A. Saldívar, Itá, Guarambaré, Fernando de la Mora, Caacupé, Pirayú, Paraguarí, Yguarón, Ypané, Nueva Colombia, Atyrá, Lambaré, Villa Elisa, Ñemby, San Antonio, Mariano Roque Alonso y Asunción (2,3). La explotación del acuífero se efectúa mediante el bombeo en pozos. Generalmente, la calidad del agua subterránea es superior a la del agua superficial con respecto al contenido bacteriológico, turbiedad y diversos parámetros físicos y químicos. Por otra parte, hay que tener en cuenta que el acuífero no es renovable: si se explota con una tasa mayor a la de recarga, puede agotarse o deteriorar su calidad (1,3). La demanda creciente de consumo de agua potable y las necesidades de abastecimiento en zonas densamente pobladas han hecho que las autoridades locales instalaran pozos artesianos, que consisten en agujeros cavados en un acuífero, con un tubo y una bomba que se utilizan para sacar agua del subsuelo. Este tubo está provisto de un filtro que impide que las partículas de materia puedan taponarlo (4,5). La ubicación del acuífero Patiño en una zona cuya población ronda los dos millones, sus sustanciales tasas de recarga anual y su gran almacenamiento de agua subterránea permiten calificarlo como una reserva estratégica clave, que amerita una gestión y protección eficaces (5). En la práctica, los usuarios que extraen agua subterránea se pueden dividir en cuatro categorías; (1) La empresa autónoma de servicios públicos existente (Empresa de Servicios Sanitarios del Paraguay ESSAP), que desde la década de 1980 ha operado entre 10 y 18 pozos productivos de gran diámetro, con una profundidad de entre 150 y 250 m, para proporcionar abastecimiento de agua y presión más confiables en los puntos más alejados de su red de distribución; (2) Las casi 300 'aguaterías', que empezaron a surgir desde la década de 1970 para abastecimiento de agua con base en redes locales de distribución alimentadas con pozos de pequeño diámetro y profundidades de 80 a 120 m, que generalmente abastecen entre 100 y 600 conexiones, sobre todo en los municipios de San Lorenzo, Lambaré y Luque; (3) Los usuarios comerciales individuales (locales industriales, condominios residenciales, empresas de agua embotellada, multinacionales de cerveza y gaseosas, etc.) que operan pozos similares a los de los 'aguateros'; (4) Los pozos artesanales domésticos (norias), construidos en muchas viviendas peri-urbanas, con profundidades de hasta 20 m y con bombas sencillas manuales o mecánicas (5,6).

Ciertos estudios revelaron niveles alarmantes de contaminación en aguas de pozo superiores (cerca del 40 %) del total estudiado en zona del Departamento Central (3,7). El problema es no menor en la capital porque aunque la proveedora estatal de agua Empresa de Servicios Sanitarios, se abastece del río Paraguay, extrae además agua subterránea. Sin embargo, el resto de los municipios extraen directamente agua del acuífero a través de sistemas comunitarios, proveedoras privadas (aguateras) o perforaciones domiciliarias.

Además, se debe tener en cuenta su cercanía a la región occidental o Chaco, que tiene una alta contaminación salina que actualmente afecta a este acuífero. Pero, quizás el principal foco de contaminación siga siendo la extracción masiva y sin control debido a la población de la zona que migró en las zonas urbanas del Departamento Central debido al avance de la agricultura mecanizada (7).

Es importante detectar la contaminación fecal en las aguas subterráneas, sobre todo si no existen sistemas de agua pre-tratamiento del consumo. Otras amenazas principales de contaminación son las curtiembres, las gasolineras, los talleres automotores y metalúrgicos, los fertilizantes de origen orgánico y las aguas negras de pozos ciegos que son depósitos subterráneos para almacenar las aguas residuales de domicilios que no están conectadas a las líneas de alcantarillado (8). Desde el punto de vista microbiológico, el examen de la calidad sanitaria del agua tiene por objeto determinar la presencia de ciertos grupos de bacterias, que revelen una contaminación reciente por materia fecal o materia orgánica, siendo el criterio más utilizado la determinación de la clase y número de microorganismos que ésta contiene. Tradicionalmente se han usado ensayos de microorganismos indicadores más que para la determinación de microorganismos patógenos (9,10). Los coliformes fecales y totales son indicadores de la presencia de heces y los mesófilos son indicadores de la presencia de materia orgánica que puede traer aparejada una contaminación de un sinnúmero de bacterias y por ende de enfermedades para el hombre, como salmonelosis, cólera, disentería y otros (8). Por lo cual es menester estar consciente de la necesidad de analizar datos disponibles en el INTN durante al año 2008 de muestras de aguas subterráneas del Acuífero Patiño y zonas aledañas. El grupo de bacterias coliformes ha sido siempre el principal indicador de calidad de los distintos tipos de agua; el número de coliformes totales en una muestra, se usa como criterio de contaminación y, por lo tanto, de calidad sanitaria de la misma (11,12). Varios estudios demuestran que más del 94% de los coliformes fecales aislados de heces humanas corresponden a *Escherichia coli* así como de heces de animales de sangre caliente (13). Los aerobios mesófilos, son microorganismos heterótrofos, aerobios o anaerobios facultativos, mesófilos o psicotróficos capaces de crecer en cualquier medio de agar nutritivo (11). Los aumentos en los niveles de coliformes puede indicar la necesidad de modificar los procesos de tratamiento para purificar y potabilizar el agua. Los tratamientos utilizados para eliminar o reducir los constituyentes inestables y las sustancias que pueden afectar la salud, podrían incluir la adsorción y la filtración de partículas (mecánica), tal como la lograda con filtros de superficie (p. ej., filtros de membrana plisada) o con filtros de profundidad (p. ej., filtros de arena o de cartucho de fibra comprimida) oxigenación (O₂), aireación y agregado de sustancias como cloro, que no sólo es uno de los desinfectantes más efectivos para el agua potable, sino también uno de los más baratos. Es muy eficaz contra las bacterias relacionadas con enfermedades transmitidas por el agua. La forma más sencilla de aplicar cloro al agua es con pastillas o en soluciones. Después de la aplicación del hipoclorito, el agua debe mezclarse bien y dejar reposar por 30 minutos para que el cloro entre en contacto con los microorganismos. Esto se consigue añadiendo cloro hasta conseguir cloro residual libre en el agua (breakpoint), normalmente se busca alcanzar 0.3 ppm de cloro libre. El cloro se puede adicionar en forma de cloro líquido, solución de hipoclorito de sodio o tabletas de hipoclorito de calcio (10, 14,15). La detección de coliformes totales en agua potable puede indicar el fracaso del tratamiento del sistema, rebrote o infiltración en el sistema de distribución (16). De tal manera la determinación de coliformes es reconocida como aceptable indicador de la eficacia de los procesos de tratamiento y desinfección (10,11). El objetivo de este estudio fue evaluar la contaminación microbiológica expresada en valores fuera de rango permitido de la concentración de coliformes fecales, totales y recuento de aerobios mesófilos en muestras de aguas de pozo artesiano tratadas y no tratadas del departamento Central, Cordillera y municipio capital durante el periodo de enero a julio del año 2008 (10).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: Descriptivo, de corte transversal.

Fueron estudiadas 57 muestras de aguas de pozo artesiano remitidas durante los meses de enero a julio del 2008 al INTN por propietarios de pozos y aguaterías con la intención de verificar su calidad microbiológica. Dieciséis muestras fueron cloradas y 41 muestras no fueron sometidas a ningún tratamiento antimicrobiano. Fueron extraídas de pozos artesianos de 20 a 120 m de profundidad de 10 municipios del Departamento Central, Cordillera y del municipio Capital ubicadas dentro del área de abastecimiento de agua potable circunscrita por el límite del afloramiento del acuífero Patiño y cuenca del lago Ypacarai (ver figura 1). Fueron recolectadas bajo las condiciones existentes en el sitio y tiempo de muestreo en recipientes esterilizados en estufa o autoclave. Las muestras se transportaron en hielo y se analizaron dentro de las 6 h de recolección según condiciones para recepción y toma de muestras de agua descritas en la Norma Paraguaya NP 24 005 81, "Toma de muestras para el análisis físico-químico y bacteriológico de las aguas"(17). El análisis microbiológico efectuado consistió en la determinación de coliformes totales, fecales y aerobios mesófilos de acuerdo a los requisitos microbiológicos especificados en la Norma Paraguaya NP 24 005 80 para agua potable. El método consiste en contar el número de bacterias en c.c. que contiene el agua para lo cual se siembra la muestra en un medio nutritivo sólido apropiado y se incuba según los métodos descriptos más abajo. La cantidad de colonias desarrolladas se informan en UFC/mL o NMP (10).

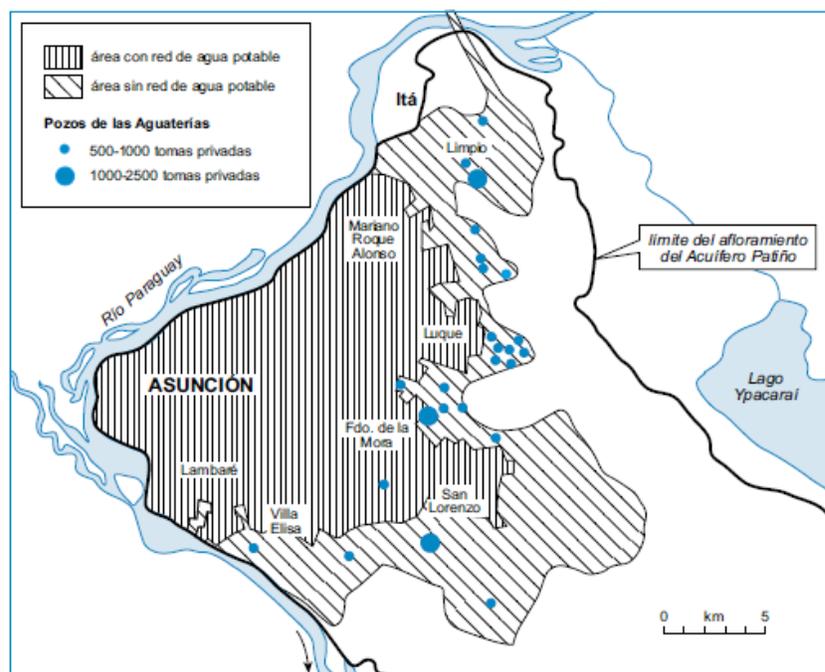


Figura 1. Cobertura Actual de Abastecimiento de Agua en Gran Asunción.

Fuente. Foster S., Garduño H., Bengoechea V. Paraguay: El Uso de Agua Subterránea en Gran Asunción – Problemas Actuales y Regulación Propuesta. Gestión Sustentable del Agua Subterránea Colección de Casos Esquemáticos Caso 3 Julio 2002 Banco Mundial Programa Asociado de la GWP -MATE El GW•MATE (Groundwater Management Advisory Team.) Organismo Contraparte: Ente Regulador de Servicios Sanitarios (ERSSAN) and Tools.85)

Determinación de coliformes: se usó la técnica de tubos múltiples para la determinación de coliformes totales y fecales según el Instituto de Salud Pública de Chile (18). El ensayo se practicó en 2 etapas: **Prueba presuntiva:** se incubaron a $35 \pm 1^\circ\text{C}$, volúmenes determinados de muestra en caldo lactosado o caldo Laurilsulfato-triptosa (HiMedia, India) durante 24-48 hrs. La formación de gas a partir de lactosa es prueba presuntiva de bacterias coliformes. **Prueba confirmativa:** todos los tubos que resultaron positivos a las 24 o 48 horas se transfirieron a caldo BVB (caldo bilis verde brillante) (Difco, Nueva Jersey-USA) para confirmar coliformes totales y a caldo *Escherichia coli* medium (Difco, USA) para confirmar coliformes fecales. **Para confirmar coliformes totales:** se transfirió un inóculo de la prueba presuntiva a tubos de fermentación que contienen caldo BVB. Se incubaron los tubos con caldo a 35°C durante 24 a 48 horas. Se observó la formación de gas que constituye la prueba confirmatoria para coliformes totales, la ausencia de gas es una prueba negativa. Se usó como control positivo cepas de *Enterobacter aerogenes* y *Staphylococcus aureus* como control negativo (Cepas ATCC N° 13048 y 25923: respectivamente) (American Type Culture Collection. Rockville, EU). **Para confirmar coliformes fecales:** se mezcló el tubo de la prueba presuntiva y se transfirió un inóculo a tubos de fermentación con caldo EC (caldo *Escherichia coli*). Se incubaron los tubos a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Se utilizaron cepas control *Escherichia coli* como control positivo y *Enterobacter aerogenes* como control negativo. Se observó la formación de gas que constituye la prueba confirmatoria para coliformes fecales, la ausencia de gas es una prueba negativa. **Cálculo de resultados:** la combinación de los resultados positivos y negativos se usó en la determinación del número más probable (NMP) según tablas de la APHA (19) y se expresa como NMP de coliformes totales y /o fecales por 100 ml de muestra. **Recuento de aerobios mesófilos:** según el método descrito por el Instituto de Salud Pública de Chile. Sub Departamento Laboratorios del Ambiente 1998 (19,20). Se sembró 1 ml de cada dilución por duplicado en placas de petri previamente identificadas. Se vertió en cada placa aproximadamente 15 ml de agar previamente fundido. Se mezcló el inóculo con el medio fundido y atemperado a 45°C . Se incubaron a 35°C - 37°C durante 48 ± 2 horas. **Expresión de los resultados:** el recuento de colonias se realizó seleccionando las placas libres de crecimiento invasivo. Se contaron las colonias y se anotaron en cada placa de cada una de las diluciones. Cuando los recuentos de los duplicados de placas de sólo una de las diluciones quedaba dentro del rango 25 a 250 colonias, se utilizó el cálculo de los recuentos obtenidos en placas normales, se calculó el promedio y se multiplicó por el valor recíproco de la dilución. Se informa en unidades formadoras de colonias (UFC/ml). El resultado se expresó con sólo un número entero y un decimal multiplicado por 10 elevado a la potencia correspondiente.

RESULTADOS

De las 57 muestras analizadas, 16 fueron tratadas o cloradas (según lo referido por las empresas o personas que remitieron la muestra) y 41 muestras fueron no tratadas. Fueron clasificadas como contaminadas (uno o más de los parámetros estudiados fuera de lo permitido) el 58% (33/57) de las muestras (ver tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de contaminación de las muestras de agua remitidas al INTN.
n= 57

Muestras	Contaminadas	No contaminadas	Total
Tratadas	7 (44 %)	9 (56 %)	16
No tratadas	26 (63 %)	15 (37 %)	41
Total	33 (58 %)	24 (42 %)	57

De acuerdo a la figura 2, que muestra datos de las aguas tratadas, un 40% de las muestras presentaron recuentos de aerobios mesófilos superiores a 25 y 100 UFC/ml. En 12,5% de las muestras se encontraron recuentos superiores a 1 y 2 (NMP/ml) de coliformes fecales. En cuanto a los coliformes totales el 31,2% de aguas tratadas presentaban contajes fuera de lo permitido superiores a 1 y 2 (NMP/ml).

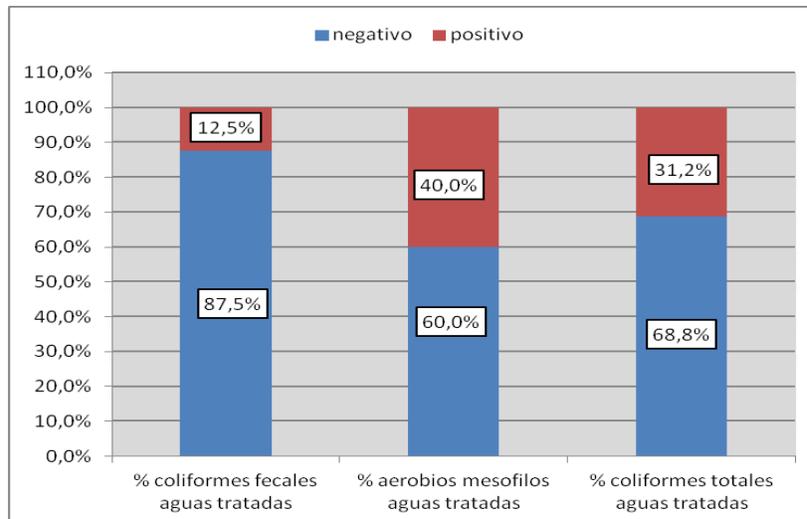


Figura 2. Porcentaje de muestras positivas y negativas para coliformes fecales y totales, en contajes encima de 1 y 2 (NMP/ml) y para aerobios mesófilos en contajes encima de 25 y 100 UFC/100 ml para aguas tratadas.

De acuerdo a la figura 3, que muestra datos de las aguas no tratadas, un 61,5 % de las muestras presentaron recuentos de aerobios mesófilos superiores a 25 y 100 UFC/ml. En 19,5% de las muestras se encontraron recuentos superiores a 1 y 2 (NMP/ml) de coliformes fecales. En cuanto a los coliformes totales el 48,8 % de aguas tratadas presentaban contajes fuera de lo permitido superiores a 1 y 2 (NMP/ml).

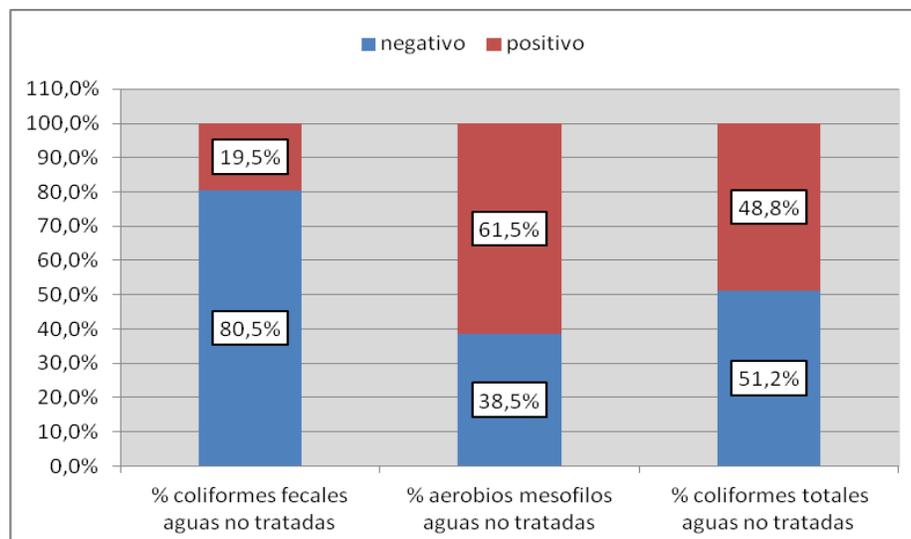


Figura 3. Parámetros microbiológicos de las muestras de aguas no tratadas

En la figura 4 se presentan los resultados de las aguas contaminadas de acuerdo a los distintos municipios. Cabe destacar que de las 27 muestras del municipio capital, el 67 % (18/27) estaban contaminadas, siendo 5 de ellas tratadas y 22 no tratadas. Las muestras de los municipios de Limpio, Luque y Capiatá no estaban contaminadas, si las de los demás municipios y el distrito capital.

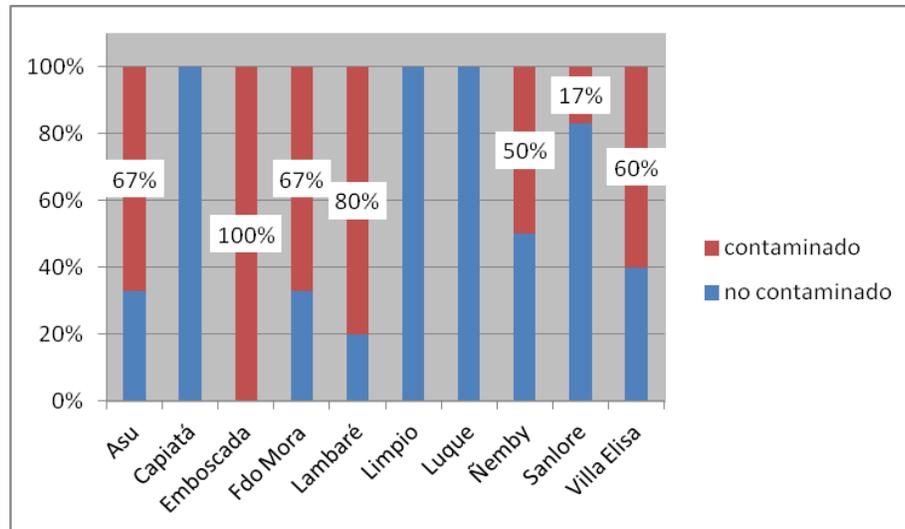


Figura 4. Porcentaje de muestras contaminadas por municipio.

Como puede verse en la figura 5 la mayoría de las muestras de todos los municipios excepto Villa Elisa eran no tratadas.

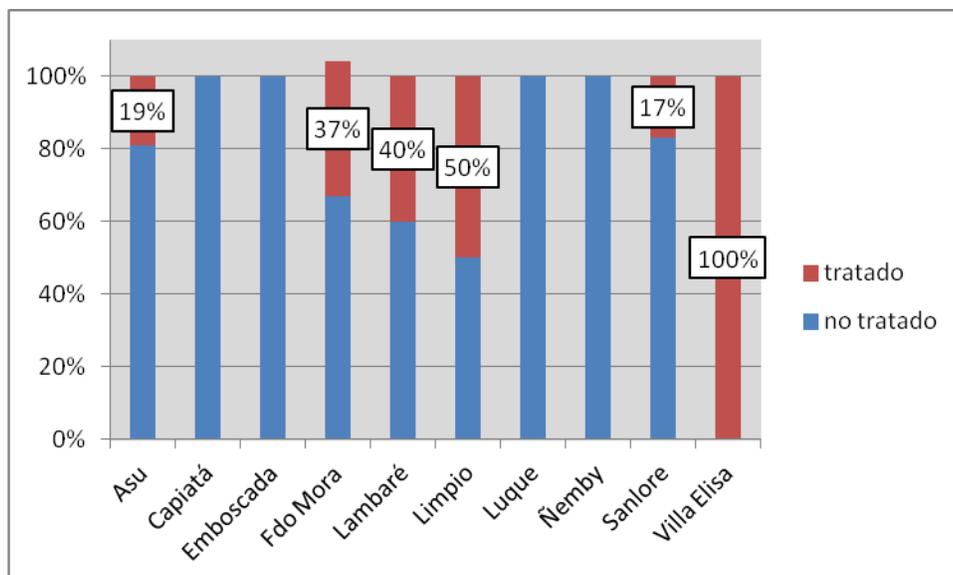


Figura 5. Comparación entre municipios de porcentaje de aguas tratadas y no tratadas.

DISCUSIÓN

En los datos encontrados en este estudio, cuyas muestras provenían en un 97% del área comprendida dentro del límite del afloramiento del acuífero Patiño, se encontró que el 58% de las mismas tenía uno o más parámetros positivos indicando contaminación y el 12,5 y 19,5 % de coliformes fecales en aguas tratadas y no tratadas respectivamente, coincidiendo con un estudio de contaminación del acuífero Patiño (7). Otros estudios

reportan contaminación de aguas subterráneas o de pozo extraídos de zonas dentro del límite de afloramiento del acuífero Patiño por diversas causas como ser el descontrol y la falta de registros de los pozos artesianos particulares, la creciente cantidad de empresas perforadoras de pozos artesianos y la falta de control y regulación de las mismas por parte del Estado, que influyen significativamente para que el recurso hídrico se degrade en capacidad y calidad (21,22). Es importante considerar que estas fuentes son utilizadas como provisión de agua potable, cuya cobertura no alcanza toda el área del Gran Asunción, existiendo en las zonas donde no existe red de agua potable, una cantidad importante de tomas privadas. La contaminación fecal de los suministros de agua cuyas muestras se han analizado es debida generalmente a la descarga de aguas residuales (23,24), un tratamiento inadecuado, y/o a un sistema ineficiente de distribución y almacenamiento así como infiltración de los contaminantes de arroyos que llegan al acuífero Patiño, y descomponen la calidad del agua (3,8). También es posible desarrollar la tolerancia por parte de las comunidades bacterianas al cloro que se utiliza en el tratamiento de los suministros de agua (24). La presencia de especies de bacterias que indican contaminación fecal en cualquier fuente de agua potable es una preocupación grave de salud pública. Las bacterias que proliferan contaminando las aguas con heces humanas son las que originan diversas enfermedades (cólera, disentería, salmonelosis, etc.). A estos indicadores de la contaminación que ciertamente son preocupantes se suma la explotación descontrolada del acuífero. Esta problemática tiene alcance ambiental y social que afecta, considerando a la población en el área de influencia del acuífero Patiño a más 2.000.000 de personas (4,5). Los factores que intervienen en la alta contaminación de los acuíferos comprenden la alta infiltración de los efluentes de aguas negras y aguas servidas (6, 20,23), que resulta, en medida importante de la baja cobertura de alcantarillado sanitario en Departamento Central y área metropolitana descrito en estudio de la Gobernación de Central (8). Se han propuesto estrategias para solucionar la contaminación del acuífero Patiño. Entre ellas existe un plan que propone, entre otras cosas, la creación de un sistema de derechos de extracción y uso, con sistema de permisos para descarga de aguas residuales, un programa de monitoreo del agua subterránea, un programa de control y reducción de pérdidas de agua y un plan maestro para el control y la protección contra la contaminación y amenazas a la calidad del agua entre los que se incluye la promulgación de la Ley de Aguas para reglamentación y uso de recursos hídricos (8,26-28). Existen además proyectos en ejecución vinculados a la protección y uso sostenible de los recursos hídricos, en Paraguay, y que se encuentran en proceso de ejecución. Es de destacar el Proyecto Acuífero Guaraní y el Programa Marco para la Gestión Integrada de los Recursos Hídricos de la Cuenca del Plata, el proyecto BIRF IV-SENASA y el proyecto BID-SENASA (29). Se requieren más estudios de la calidad de las aguas subterráneas, no solo del acuífero Patiño sino de los demás acuíferos de nuestro país, así como concienciación del cuidado de los recursos naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramírez E, Robles E, Zainz MG, Ayala R, Campoy E. Calidad microbiológica del acuífero de Zacatepec, Morelos, México. Rev. Int. Contam. Ambient [online]. 2009 [citado 2012 jun 16]; 25(4):247-55. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n4/v25n4a5.pdf>.
2. Asociación Paraguaya de Recursos Hídricos. Antecedentes de Congresos Paraguayos de Recursos Hídricos-III-CONGRESO-DE-RECURSOS-HIDRICOS-October-de-2011 pdf. [online].2009 [citado 20 de mayo de 2013] . Disponible en: <http://www.aprh.org.py/uploads/2009/06/III-CONGRESO-DE-RECURSOS-HIDRICOS-October-de-2011.pdf>.
3. Caballero W. Dos millones de habitantes pueden quedar sin agua del acuífero Patiño.[Internet]. Digital ABC color. 2007 Mayo 13: Locales. Disponible en: <http://archivo.abc.com.py/2007-05-13/articulos/329286/dos-millones-de-habitantes-pueden-quedar-sin-agua-del-acuifero-patino>.
4. Riveros M. Metropolitana-Interior: Central está a punto de tener dos millones de habitantes 2009. [Internet]. UltimaHora.com 2009 jul. 19. Disponible en: [http://www.ultimahora.com/central-esta-punto-tener-dos-millones-habitantes-n239058.html](http://www.ultimahora.com/Disponibile%20en%20http://www.ultimahora.com/central-esta-punto-tener-dos-millones-habitantes-n239058.html).

5. Foster S, Garduño H, Bengoechea V. Paraguay: El uso de agua subterránea en Gran Asunción: problemas actuales y regulación propuesta. [internet] Washington DC: Banco Mundial; 2002. Colección de Casos Esquemáticos: Caso 3. [citado 2012 jun 16]. Disponible en: <http://www.geologiadelparaguay.com/UsodelAguaGranAsuncion.pdf>.
6. Osnaghi H. Acuífero Patiño sufre una sobreexplotación. Diario Última Hora. 2007 marzo 22.
7. Crosa C, Cardozo S. Estudio de la contaminación del acuífero Patiño [tesis]. San Lorenzo: Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Asunción (UNA); 2006.
8. Díaz A. Alcantarillado y capital social en Paraguay Gobernación Dpto. Central. Asunción: Centro de Estudios Rurales Interdisciplinarios, 2008.
9. Valenzuela M, Lagos B, Claret M, Mondaca MA, Pérez C, Parra O. Contaminación fecal en agua subterránea en una pequeña Cuenca de Secano Rural en Chile Chilean J. Agric. Res. 2009; 69(2): 235-43
10. Organismo Nacional de Certificación y Normalización del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. Norma Paraguaya NP 24 001 80 agua potable especificaciones. 5ª Ed. Asunción: INTN; 2001.
11. Silva J, Ramírez L, Alfieri J. Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela. Rev. Soc. Ven. Microbiol. [online]. 2004 [citado 2012 jun 16]; 24(1-2): 46-9. Disponible en: http://scielo.org.ve/scielo.php?pid=s1315-25562004000100008&script=sci_arttext.
12. Leclerc H, Moreau A. Microbiological safety of natural mineral water. FEMS Microbiol Rev. 2002 Jun; 26(2):207-22.
13. Tallon P, Magajna B, Lofranco C, Leung KT. Microbial indicators of faecal contamination in water: A current perspective. Water, Air, and Soil Pollution 2005; 166 (1/4): 139-66.
14. Romero M. Tratamientos utilizados en potabilización de agua. Boletín Electrónico [Internet]. [citado 2012 jun 16]; (8): 1-12. Disponible en: http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_08_ING02.pdf.
15. OMS. Guías para la calidad del agua potable: Vol. Recomendaciones. 3ª. Ed. Washington, DC: OMS; 2004.
16. Conboy MJ, Goss, MJ. Identification of an assemblage of Indicator organisms to assess timing and source of bacterial contamination in groundwater. Water, Air, & Soil Pollution 2001; 129(1-4):101-18.
17. Organismo Nacional de Certificación y Normalización del 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; 1981.
18. Chile. Ministerio de salud Instituto de Salud Pública de Chile. Sub Departamento Laboratorios del Ambiente. Manual de técnicas microbiológicas para alimentos y aguas. Santiago: El Ministerio; 1998.
19. Pouch Downes F, Ito K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington DC: American Public Health Association; 2001.
20. Silva MP, Cavalli DR, Oliveira TCRM. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. Ciênc. Tecnol. Aliment [online]. 2006, [citado 2010 nov 05]; 26(2): 352-9. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30183.pdf>.
21. Crosa C, Cardozo S. Aguas negras llegan a las subterráneas. Diario ABC. 2007 mayo 22.
22. Gaona Dígaló A. Taller de gobiernos locales y la gestión integrada de los recursos hídricos: Informe final. Asunción: S.e; 2002.
23. Monte Domecq R. Alertan que basura hospitalaria es un peligro para el acuífero Patiño. Diario ABC Color. 2006 Julio 14; Sección Locales.
24. Jerolimski T, Iriarte S, Monte Domecq R, Werhle A. El acuífero Patiño está en terapia intensiva, coinciden especialistas. Diario ABC Color. 2007 Mayo 15; Sección Locales.
25. Pathak SP, Gopal K. Prevalence of bacterial contamination with antibiotic resistant and enterotoxigenic fecal coliforms in treated drinking water. Journal of Toxicology and Environmental Health. 2008; 71: 427-33.
26. Suárez F, Lombardo R J. Pitting the polluted against the flooded: water resource management in Tigre, Buenos Aires. Environment & Urbanization. 2004; 16(2):185-98.

27. Cabral JPS. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *Int J Environ Res Public Health*. 2010; 7(10): 3657–703.
28. Trevett AF, Carter RC. Targeting appropriate interventions to minimize deterioration of drinking-water quality in developing countries. *J Health Popul Nutr*. 2008 Jun;26(2):125-38.
29. SENASA. Iniciativa para la Gestión Integrada de Recursos Hídricos en Paraguay-2009. [Internet]. [Acceso 30 de Agosto de 2012]. Disponible en: <http://www.foroagua.org.py/proyectos.html#>.