











MICROORGANISMOS DEL AGUA

The background of the slide is a photograph of water flowing from a pipe into a pool. The water is clear and blue, with some ripples and reflections. The pipe is dark and appears to be made of metal or plastic. The overall scene is bright and clean, suggesting a focus on water quality.

- El agua es un elemento esencial para todo ser vivo
- La calidad del agua puede alterarse fácilmente por la contaminación con excrementos y microorganismos patógenos.
- El análisis biológico del agua determina la calidad sanitaria e indica el grado de contaminación con excrementos.
- Entre los organismos infecciosos que se liberan en las heces o el estiércol tenemos *Vibrio cholerae* (cólera), *Salmonella typhi* (fiebre tifoidea o entérica), *Shigella*, entre otras.

- 
- 
- 
- 
- El análisis de agua mas factible es el de organismos marcadores de la presencia y el grado de la contaminación fecal

Un organismo marcador debe:

- 
- 
1. Estar presente siempre que los patógenos estén presentes
 2. Encontrarse en gran cantidad
 3. Sobrevivir en el ambiente tanto tiempo como los posibles patógenos
 4. Ser fácil de detectar
- 
- 
- 
- 

La **bacteria marcadora** que se analiza con más frecuencia es ***Escherichia coli***.

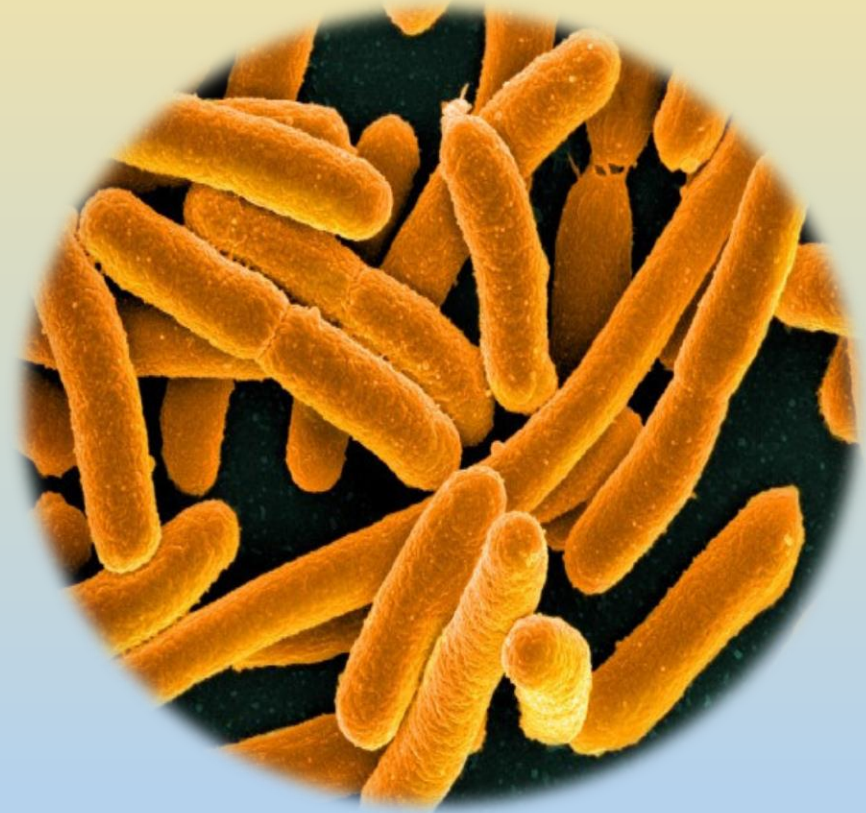
Los enterococos también son usados como marcadores de la calidad del agua debido a que son habitantes comunes del tracto intestinal.

Los clostridios sulfito-reductores (*C. perfringens*, *C. welchii*) están en las deyecciones de los animales de sangre caliente, se consideran marcadores de contaminación fecal.

Pseudomonas aeruginosa es útil para el análisis de aguas recreacionales que reciben desinfección química.

Coliformes

- Son bacterias fermentadoras de lactosa con producción de gas, se denominan coliformes, pero solamente *E. coli* es de origen exclusivamente fecal.
- Bacilos, gram (-)
- Los géneros incluidos son ***Citrobacter***, ***Enterobacter***, ***Escherichia*** y ***Klebsiella***
- Este grupo es el principal indicador de calidad del agua

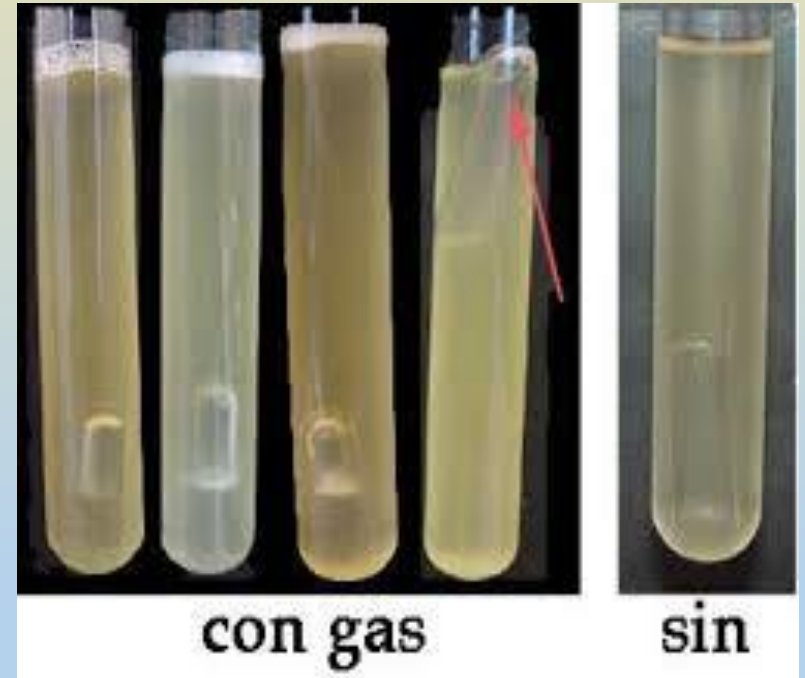


Deteccción de coliformes

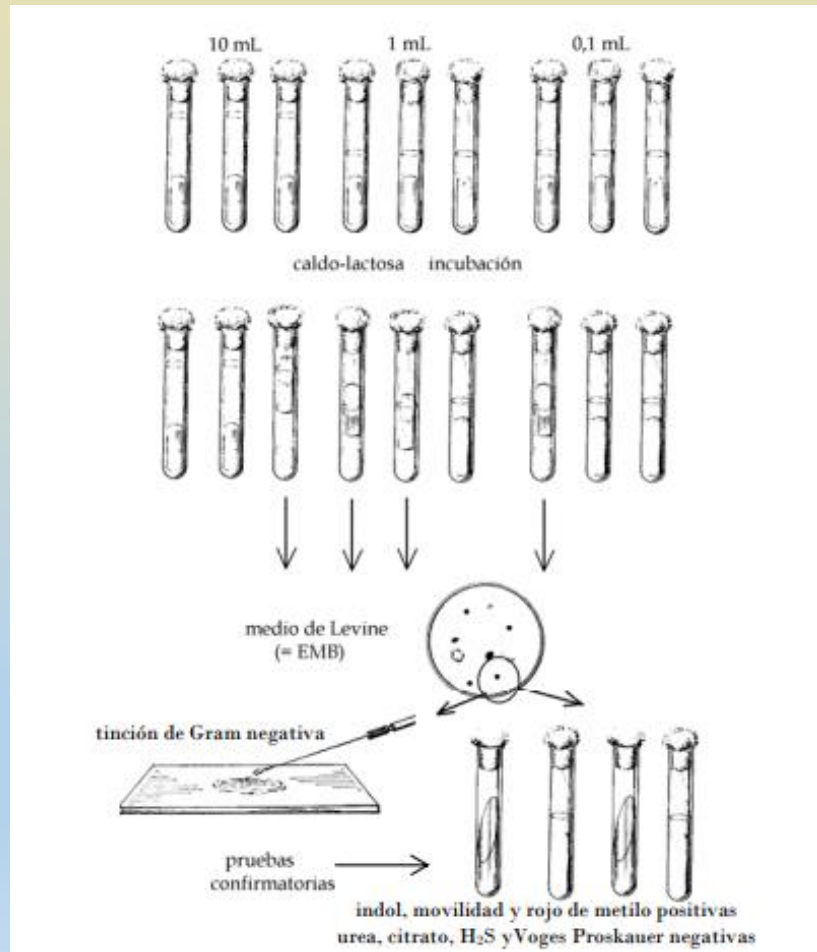
Existen varias técnicas:

- Pruebas de fermentación en una serie de tubos (caldo bilis lactosa verde brillante, caldo McConkey, etc.) con determinación de NMP
- Filtración por membrana, entre otros

Para determinar el NMP se realiza una prueba basada en la fermentación de la lactosa con producción de ácido y gas que queda atrapado en la campanita a 44,5°C. La ausencia de gas se interpreta como ausencia de coliformes

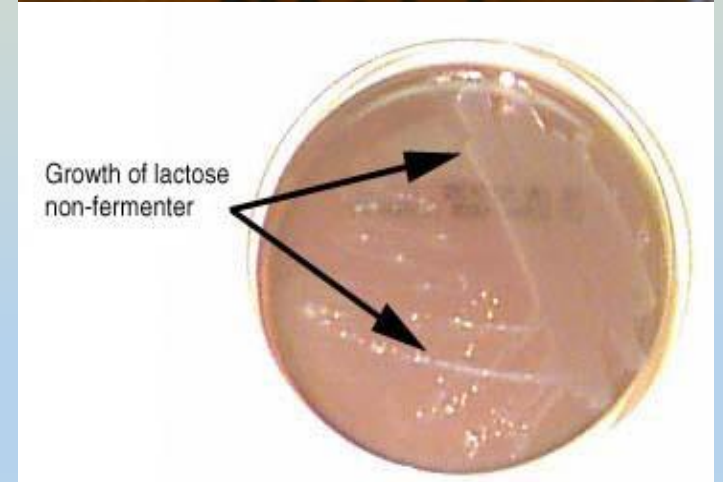
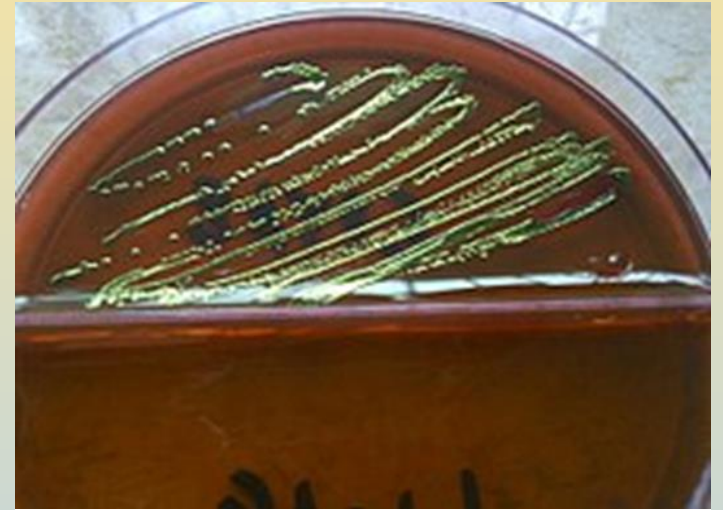


El método de NMP, entrega un valor aproximado sobre la cantidad de bacterias presente en la muestra



Número más probable por mL de muestra utilizando series de tres tubos inoculados con 10 mL, 1 mL y 0,1 mL (35)			
Número característico	Índice NMP	Número característico	Índice NMP
0 0 1	3	2 0 0	9
0 0 2	6	2 0 1	14
0 0 3	9	2 0 2	20
0 1 0	3	2 0 3	26
0 1 1	6,1	2 1 0	15
0 1 2	3,2	2 1 1	20
0 1 3	12	2 1 2	27
0 2 0	6,2	2 1 3	34
0 2 1	9,3	2 2 0	21
0 2 2	12	2 2 1	28
0 2 3	16	2 2 2	35
0 3 0	9,4	2 2 3	42
0 3 1	13	2 3 0	29
0 3 2	16	2 3 1	36
0 3 3	19	2 3 2	44
1 0 0	3,6	2 3 3	53
1 0 1	7,2	3 0 0	23
1 0 2	11	3 0 1	39
1 0 3	15	3 0 2	64
1 1 0	7,3	3 0 3	95
1 1 1	11	3 1 0	43
1 1 2	15	3 1 1	75
1 1 3	19	3 1 2	120
1 2 0	11	3 1 3	160
1 2 1	15	3 2 0	93
1 2 2	20	3 2 1	150
1 2 3	24	3 2 2	210
1 3 0	16	3 2 3	290
1 3 1	20	3 3 0	240
1 3 2	24	3 3 1	460
1 3 3	29	3 3 2	1100

- **Es una prueba presuntiva**, debido a que a esta T° pueden crecer otras bacterias que no son fermentadoras de lactosa y algunas bacterias lácticas producen gas.
- **Prueba confirmatoria** sobre agar Levine (EMB), las colonias oscuras de *E. coli* adquieren un brillo metálico característico y los que no fermentan la lactosa tienen colonias incoloras.
- El medio lleva un indicador de pH y sales biliares para inhibir desarrollo de bacterias no entéricas.



- 1. La falta de coliformes indica una ausencia de contaminación fecal**
- 2. La presencia de coliformes no certifica una contaminación de agua con materia fecal**
- 3. La presencia de *Escherichia coli* demuestra una contaminación fecal reciente**

La tolerancia en las **aguas de consumo** suele ser de 100 bacterias aerobias de poca significancia y 2 coliformes totales en 100 mL de agua, pero deben estar ausentes los coliformes fecales.

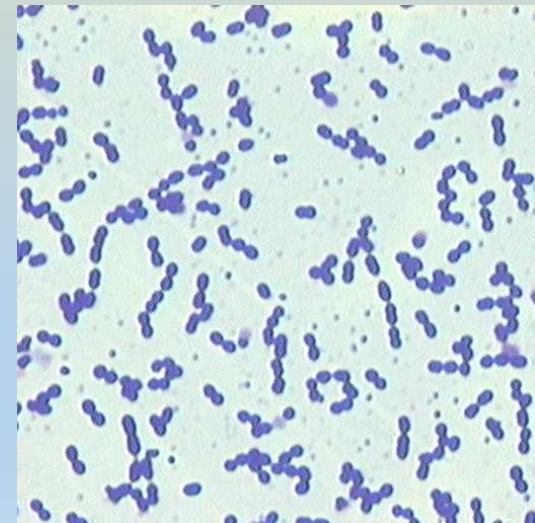
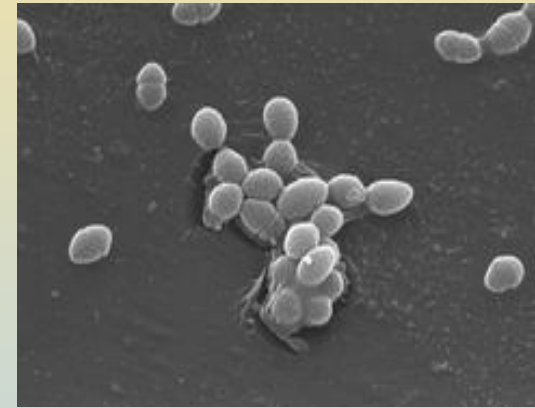
En **aguas naturales**, los coliformes fecales son competidores débiles y suelen ser eliminados por competencia y depredación.

La T° baja del agua, la adsorción al sedimento y las condiciones anóxicas, contribuyen a la supervivencia prolongada de coliformes.



Enterococos

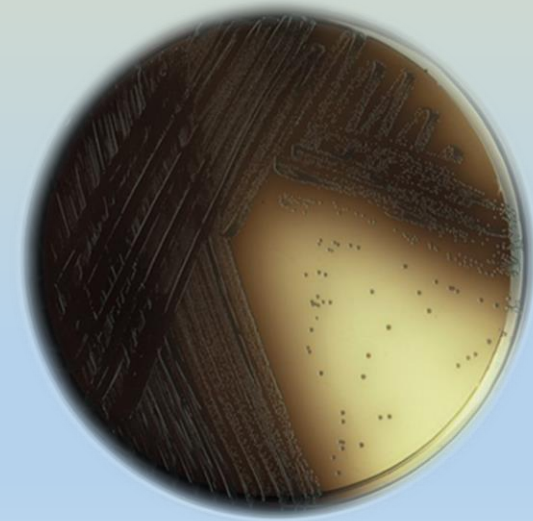
- Estreptococos fecales que incluye *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. gallinarum* y *S. avium*
- Tienen la capacidad de crecer en presencia de 6,5% cloruro de sodio, a pH 9.6, entre 10 y 45°C
- Son bacterias esféricas, gram (+)
- Tienen requerimientos nutricionales complejos, difícilmente se multiplican en el agua, resisten mejor la cloración.



- Son indicadores fecales
- Para su análisis se emplean pruebas de cultivo en una serie de tubos de medio selectivo (caldo glucosa azida) para determinar el NMP y la filtración por membrana.

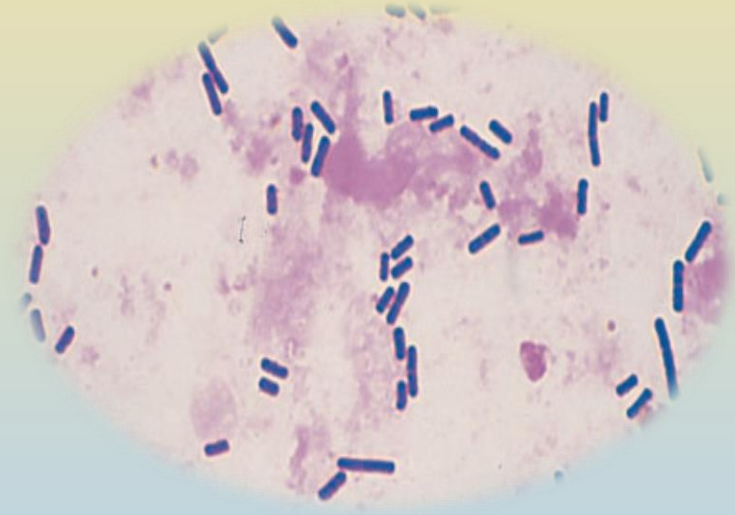


Si la relación: **N° de coliformes fecales/N° de enterococos** > 4 indica **contaminación fecal humana**, mientras que si es < 1 sugiere otra fuente de contaminación



Clostridios

- *C. perfringens* tiene la capacidad de formar endosporos. Es una bacteria Gram +, esporulada y ampliamente distribuida
- Los clostridios como indicadores fecales son muy reducidos.



La detección simultánea en una muestra de agua de *Cl. perfringens* y coliformes o *E. coli* constituye una clara evidencia de contaminación de origen fecal.

- La presencia exclusiva de los clostridios debe interpretarse como un indicio de contaminación fecal
- La existencia de endosporos de clostridios en aguas tratadas no es de importancia

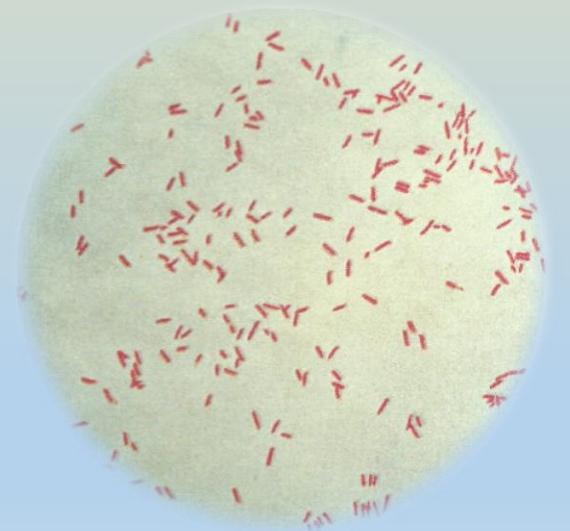
El ensayo se funda en el sistema enzimático de la sulfito-reductasa, tienen la capacidad de reducir los sulfitos a sulfuros.

Se detecta por la coloración negra dada por la formación del precipitado de sulfuro de hierro, si en el medio existen sales solubles de hierro.



Pseudomonas

- *P. aeruginosa* esta asociado al tracto respiratorio o la piel, es un patógeno oportunista.
- Es un indicador de la eficiencia de la desinfección.
- Se suele sembrar en caldo acetamida, agar leche, agar King A y B, entre otros.

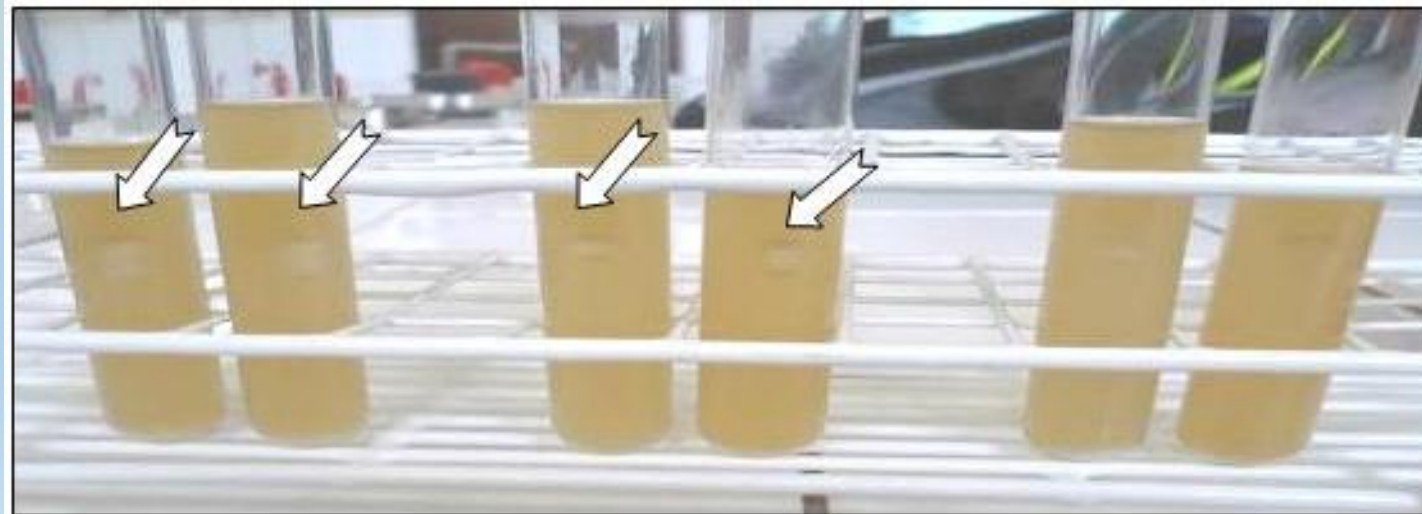


- Son bacilos Gram (-), colonias con bordes irregulares, colonias translúcidas o teñidas de verde o parduzco.
- *P. aeruginosa* forma **piocianina** que tiene un color azul-verdoso y se ve favorecida en un medio King A.
- La **fluoresceína** se favorece en un medio que contiene fosfatos y sulfatos (King B).
- Pigmentos fluorescentes bajo UV.

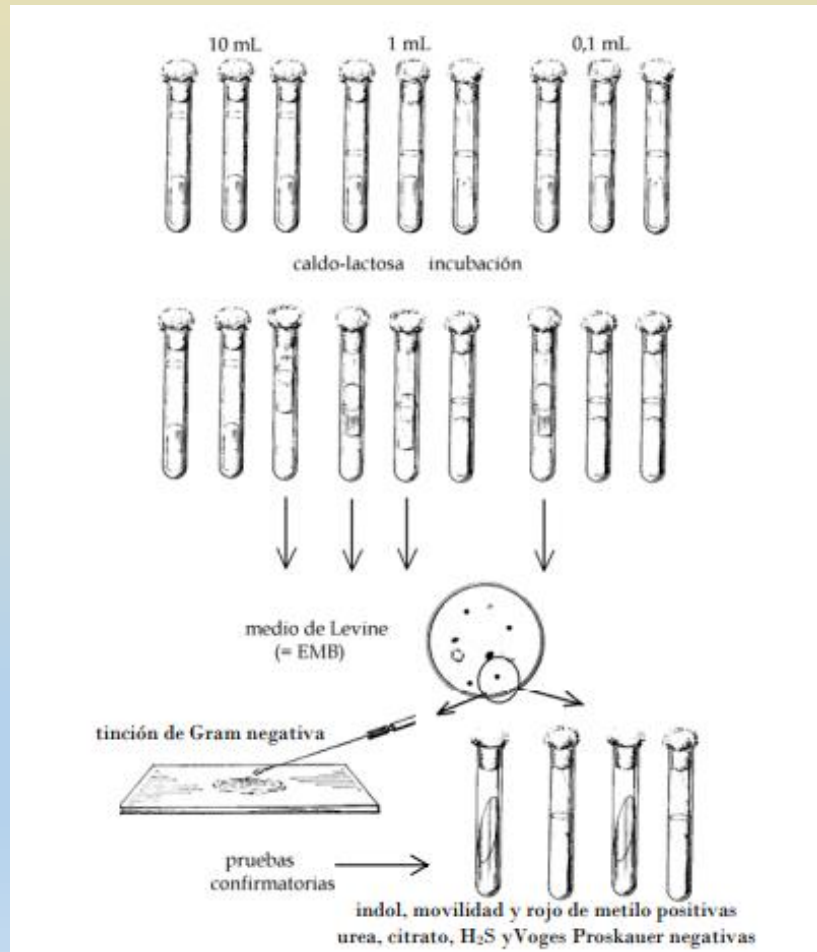


NMP coliformes y coliformes fecales

- Observar los tubos que presentan gas en cada una de las series.
- Obtener el número característico donde la primera cifra corresponde a los tubos positivos sembrados con 10 mL de muestra, la segunda a los positivos que recibieron 1 mL y la tercera a los positivos con 0, 1 mL de agua.
- Consultar la tabla para obtener el número más probable de coliformes o coliformes fecales en 100 mL de la muestra.



El método de NMP, entrega un valor aproximado sobre la cantidad de bacterias presente en la muestra



Número más probable por mL de muestra utilizando series de tres tubos inoculados con 10 mL, 1 mL y 0,1 mL (35)			
Número característico	Índice NMP	Número característico	Índice NMP
0 0 1	3	2 0 0	9
0 0 2	6	2 0 1	14
0 0 3	9	2 0 2	20
0 1 0	3	2 0 3	26
0 1 1	6,1	2 1 0	15
0 1 2	3,2	2 1 1	20
0 1 3	12	2 1 2	27
0 2 0	6,2	2 1 3	34
0 2 1	9,3	2 2 0	21
0 2 2	12	2 2 1	28
0 2 3	16	2 2 2	35
0 3 0	9,4	2 2 3	42
0 3 1	13	2 3 0	29
0 3 2	16	2 3 1	36
0 3 3	19	2 3 2	44
1 0 0	3,6	2 3 3	53
1 0 1	7,2	3 0 0	23
1 0 2	11	3 0 1	39
1 0 3	15	3 0 2	64
1 1 0	7,3	3 0 3	95
1 1 1	11	3 1 0	43
1 1 2	15	3 1 1	75
1 1 3	19	3 1 2	120
1 2 0	11	3 1 3	160
1 2 1	15	3 2 0	93
1 2 2	20	3 2 1	150
1 2 3	24	3 2 2	210
1 3 0	16	3 2 3	290
1 3 1	20	3 3 0	240
1 3 2	24	3 3 1	460
1 3 3	29	3 3 2	1100

NMP de enterococos

- Se consideran positivos los tubos que presentan turbiedad debido al crecimiento microbiano. Consultar la tabla para obtener el número más probable de enterococos en 100 mL de muestra.



Pseudomonas

Observar las colonias con pigmentos solubles y/o fluorescentes bajo luz visible y ultravioleta. *P. aeruginosa* forma piocianina que tiene un color azul-verdoso y se ve favorecida en un medio King A.

La fluoresceína se favorece en un medio que contiene fosfatos y sulfatos (King B).



Fluoresceína +

Medio King B: observación de fluorescencia bajo luz UV



Piocianina +

Medio King A

Código alimentario Argentino-Agua potable

Características Microbiológicas:

- Bacterias coliformes: en 100 ml: igual o menor de 3 NMP.
- E. coli: ausencia en 100 ml.
- Pseudomonas aeruginosa: ausencia en 100 ml.
- El recuento de bacterias mesófilas en el caso de que el recuento supere las 500 UFC/ml y se cumplan el resto de los parámetros indicados, sólo se deberá exigir la higienización del reservorio y un nuevo recuento.