

UN MÉTODO PRÁCTICO PARA LA EVALUACIÓN RÁPIDA DE LA CALIDAD BACTERIANA DEL AGUA

UNA GUÍA BASADA EN LA EXPERIENCIA EN EL CAMPO



INTERNATIONAL WATER AND HEALTH ALLIANCES (IWHA)
Alianzas Internacionales de Agua y Salud



UN HABITAT
FOR A BETTER URBAN FUTURE

INTRODUCCIÓN

¿Por qué analizar el agua?

Es importante que las comunidades tengan conocimiento de la calidad de sus fuentes de agua y si hay riesgos de contaminación porque se pueden enfermar si toman agua contaminada con microbios que causan enfermedades, como bacterias y virus. Las enfermedades tales como Tifus, Cólera, Disentería, Giardia, Rotavirus, Poliovirus, Hepatitis A, o Diarrea resultan cuando los microbios infectan el tracto intestinal y la gente enferma elimina millones de microbios en las heces. Cuando estos microbios caen en el agua potable, pueden infectar a otras personas y causar más enfermedades.

Así como la calidad del agua potable y su seguridad es importante al considerar la propagación de enfermedades, los temas del saneamiento y de la higiene también se deben de considerar.

Hace pocos años, para determinar si el agua estaba contaminada, se debía de tener un laboratorio bien equipado, que requería de electricidad, incubador y equipo de esterilización. Sin embargo, resultados recientes de investigación han demostrado que existe un indicador específico para la bacteria *Escherichia coli* (*E. Coli*), el cual posee nutrientes específicos que otras bacterias no pueden usar. Basado en este descubrimiento, una nueva generación de análisis para detectar la *E. Coli* se ha introducido. El único requisito para realizar estos análisis es de agregarles una muestra de las fuentes de agua, estos análisis se pueden realizar en cualquier sitio y con un entrenamiento mínimo.

EL LABORATORIO PORTÁTIL DE MICROBIOLOGÍA (LPM)

Análisis prácticos para determinar calidad bacteriológica del agua

Un método sencillo, efectivo y económico para analizar el agua ha sido diseñado y ensamblado por el Doctor Bob Metcalf, catedrático en la Universidad del Estado de California, Sacramento. El Laboratorio Portátil de Microbiología (LPM) consiste de componentes comerciales. Las ventajas en usar el LPM son las siguientes:

- Se puede usar en el campo ya que no requiere electricidad, equipo de refrigeración o incubador comercial.
- El método es económico, sencillo y efectivo.
- Los resultados están disponibles al día siguiente.
- No se necesita conocimiento de microbiología ni una educación formal para analizar el agua.

La meta de estos análisis es de detectar la presencia de la *E. Coli*. Esta información ayuda en poder prevenir enfermedades causadas por agua contaminada.

***E. Coli* como indicador de presencia de materiales fecal**

La razón por la cual se determina la presencia solamente de *E. coli* y no de otras bacterias es porque no es práctico ni posible determinar en el agua potable todos los tipos de microbios que pueden causar enfermedades. Por lo tanto, el agua se analiza para la presencia de la bacterium que indica una contaminación fecal reciente. Este indicador de bacterium tiene el nombre de *Escherichia coli*, comúnmente, la abreviación es *E.coli*.

La *E. coli* ha sido el mejor indicador de que el agua está contaminada por material fecal, las razones se describen a continuación:

1. *E. coli* siempre está presente en gran cantidad en las heces de los humanos y otros mamíferos sanos y/o enfermos (aproximadamente en un gramo de heces humanas existen cien millones a mil millones de células de *E. Coli*).
2. *E. coli* no crece en el medio ambiente, por ejemplo en las plantas, el suelo y agua; exclusivamente crece en el agua contaminada con heces.
3. *E. coli* muere despacio en las heces, pero sobrevive en el agua por seis a doce semanas como la bacteria que causa Tifus, Cólera, Disentería, Giardia, Hepatitis A o Diarrea.
4. *E. coli* es relativamente fácil detectar.

La presencia de *E. coli* en el agua potable, por lo tanto, indica contaminación fecal reciente, y la posibilidad de que microbios que causan enfermedades también puedan estar en el agua.

MUESTREO Y ANÁLISIS DE AGUA

Muestreo de agua con enfoque participativo

En el marco de desarrollo, cualquier muestreo de agua potable debe de tomar en cuenta lo complicado que son los arreglos del abastecimiento de agua, especialmente en áreas urbanas. Las fuentes de agua que se usan pueden consistir de una gran variedad de alternativas incluyendo fuentes o puntos de agua y agua de venta.

En lugares en donde el abastecimiento del agua es administrado por la comunidad, como es en el caso de los barrios, periurbanos y urbanos, el tratamiento y el análisis casi nunca se lleva a cabo. Al mismo tiempo, son estos abastecimientos los que presentan mayor problema con la calidad del agua. Por lo tanto, un enfoque participativo ofrece ventajas al incluir a las comunidades en el muestreo, el análisis y en el intercambio de información. Esto se debe ofrecer solamente como un apoyo para mejorar la administración de los análisis de agua en la comunidad.

Para diseñar una red de muestreos es importante identificar:

1. Los puntos críticos de las tomas de muestras dentro del sistema del abastecimiento de agua.
2. Tomar en consideración aquellos puntos de donde se provee de agua a una mayor cantidad de población.
3. Durante la etapa inicial de construcción de la red, se puede elaborar un mapa participativo en el que la población clave:
 - 1) indique cuales son las fuentes de agua en uso, y de ellas,
 - 2) identificar cuales son las que están más contaminadas, y a estas,
 - 3) realizar el análisis de agua para comprobar la información.

Esta red de muestreos se hace con el objetivo de identificar los sitios donde se está contaminando el agua y de esta manera plantear medidas apropiadas de mitigación.

Por ejemplo: Si la población se abastece de un río y/o quebrada y/u ojo de agua, entonces se debe de identificar con la población clave cuales son los focos de contaminación que están afectando la calidad de las fuentes antes señaladas.

Generalmente, las muestras se toman en sitios donde se considera que la calidad del agua variará considerablemente, por lo tanto, se debe de tomar las muestras en los mismos sitios (puntos de referencias) y se deben de realizar frecuentemente con el objetivo de registrar los cambios.

Aquellos puntos de muestreo en donde los resultados son constantes sin muestra de peligro los intervalos con los que se tomarán las muestras pueden ser mayores, sucediendo lo contrario en aquellos sitios donde los resultados varían.

Si no hay información disponible o si está observando un programa nuevo, los muestreos de agua se deben de realizar con intervalos frecuentes al principio y continuar hasta establecer una variedad en la calidad. Los intervalos se pueden modificar mas adelante.



También es muy útil tomar muestreo de los recipientes en que los hogares almacenan el agua. Es importante tener en cuenta el manejo y la revisión de los recipientes (baldes, tanques y/u otros) que esté utilizando la población para llevar y/o almacenar el agua en sus hogares, debido a que las experiencias han demostrado que la contaminación del agua también se da cuando el agua es transportada y almacenada en recipientes contaminados. Se debe de incluir a los hogares al hacer los análisis para que ellos puedan observar y se informen sobre la calidad de su agua. Cuando se toman muestras de los recipientes que almacenan el agua, debe echar el agua cuidadosamente en el recipiente de colección usando el utensilio que usa normalmente para sacar el agua.

El Laboratorio Portátil de Microbiología (LPM) y los procedimientos en el análisis

El LPM consiste en un equipo (kit) para realizar el análisis de Colilert y Petrifilm, los cuales son específicos para la *E. coli* porque contiene un sustrato para la enzima betaglucuronidase que es producida por la *E. coli* pero no por la bacteria coliforme ambiental.

El equipo del LPM consiste de los productos Colilert y Petrifilm para análisis que se incluyen en una bolsa plástica (que cierre) del tamaño de un galón, también incluye bolsa "Whirl-Paks" para recoger muestras de agua, pipettes estériles de plástico, y una luz ultravioleta con baterías para el análisis de Colilert. Solamente se agrega agua y se deja incubar.

¿Cuáles son los materiales que se necesitan para realizar el análisis del Colilert?

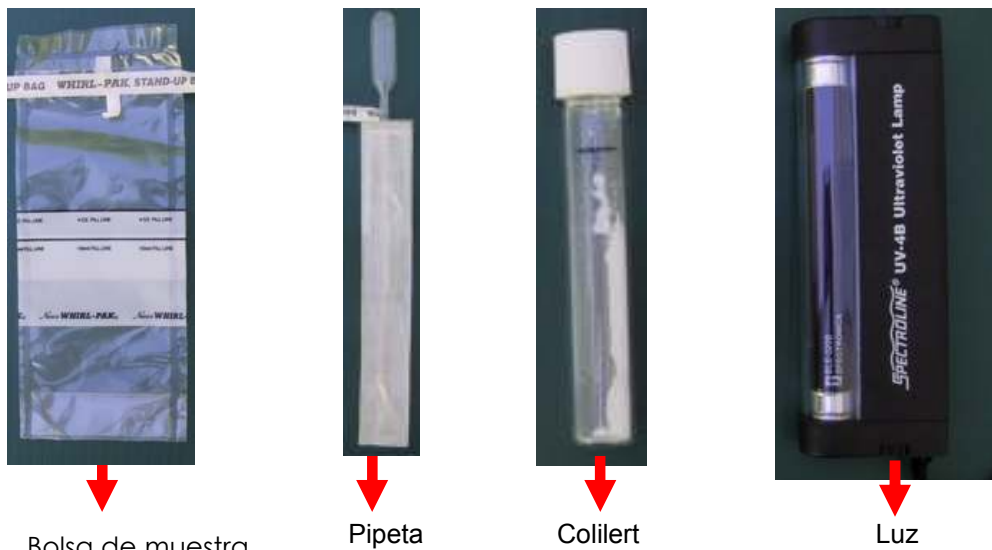


Figura 1: Materiales que se necesitan para realizar el análisis del Colilert

¿Cuáles son los materiales que se necesitan para realizar el análisis del Petrifilm?

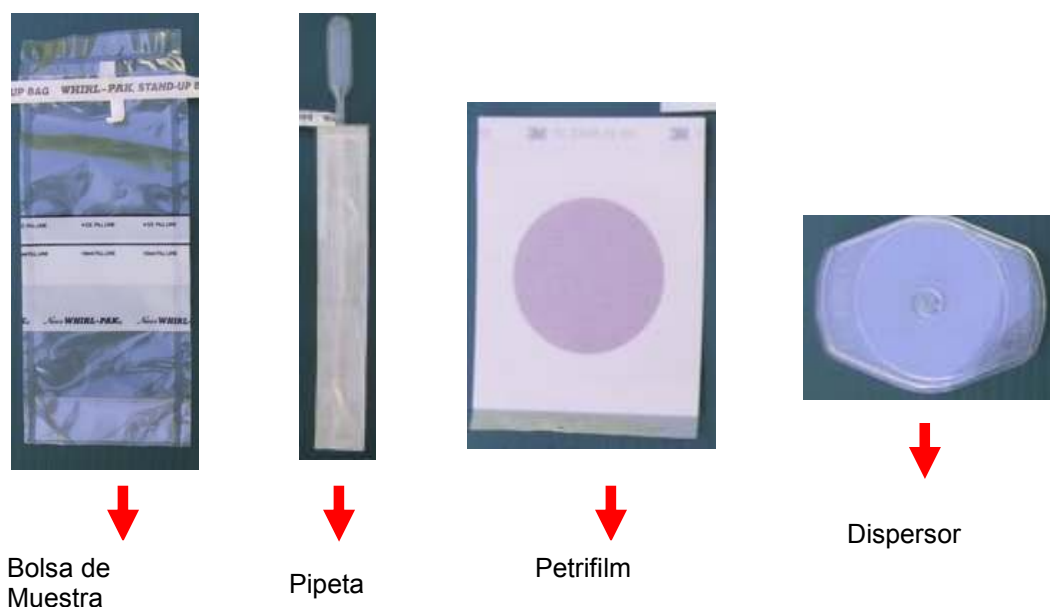


Figura 2: Materiales que se necesitan para realizar el análisis del Petrifilm

¿Qué debemos de tomar en cuenta antes de realizar el análisis del Colilert y Petrifilm?

El análisis de Colilert demuestra la presencia o ausencia de E. Coli. El análisis con el Petrifilm da más datos específicos relacionados a los niveles de riesgo.

Como usar la bolsa de muestra “WHIRL-PAK”

1. En la etiqueta de la bolsa de muestra, Whirl-Pak, debemos marcar el nombre del sitio de donde se obtiene la muestra, la fecha y la hora.
2. Cuidadosamente abrir la bolsa de muestra en donde tiene la línea perforada usando las lengüetas/pestañas que se encuentran en cada lado. La parte interior del Whirl Pak está esterilizada y se debe de tener cuidado en no contaminarla con los dedos.
3. Recoger la muestra de agua, asegurando que la muestra del agua no le toque las manos. (Figura 3) (Es necesario tomar la muestra de agua al mismo momento que se abre la llave, sin dejar un espacio de tiempo. Con el fin de que la muestra sea tomada bajo los mismos criterios con que se toma agua cotidianamente.)

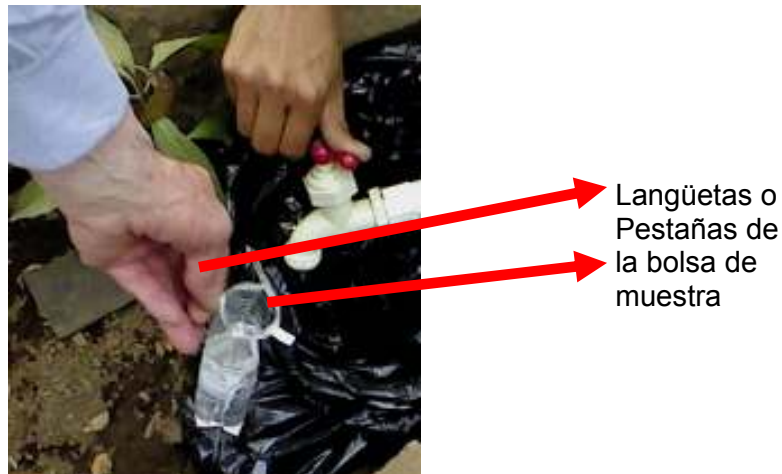


Figura 3: Procedimiento adecuado para recoger la muestra de agua

4. Una vez que se ha recogido la muestra, asegurar que la bolsa esté bien cerrada.
5. El análisis se puede hacer en el sitio en donde se recoge la muestra o se puede llevar a otro sitio en donde se va a realizar el análisis a temperatura ambiente.

Nota: Se recomienda que el procedimiento de la muestra debe hacerse dentro de las primeras 6 horas y no más.

¿Cuál es el procedimiento para realizar el análisis de Colilert?

El reactivo Colilert de IDEXX se usa en todo el mundo para la detección de coliformes y *E. coli* en el agua. Colilert, con su patentada Defined Substrate Technology® (DST®, Tecnología de sustratos definidos). Para realizar este análisis se utiliza un tubo de vidrio que contiene sustratos definidos que indica la presencia/ ausencia de coliformes y *E. coli* en 10 ml de muestras de agua. <http://al.idexx.com/agua/colilert/>

Paso a paso - el análisis del colilert:

1. Cuidadosamente se saca la pipeta estéril de su empaque.



2. Para no contaminar el tubo de Colilert al abrirlo, se recomienda usar este método. Sostener el tubo de Colilert en la mano dominante y con la otra mano colocar el dedo meñique firmemente alrededor de la tapa. Luego, con la mano dominante darle vuelta al tubo hasta que se abra. Una vez que el tubo esta abierto, pase el tubo a la misma mano que tiene la tapa en el meñique. Sostenga el tubo y la tapa en la misma mano y con la mano dominante agarrar la pipeta que usará para llenar el tubo con el agua que se va analizar. (Figura 4)



Figura 4: Procedimiento adecuado para abrir la tapa del tubo del colilert

3. Agregar 10 ml del agua de la bolsa de muestra con la pipeta en el tubo del colilert (o sea hasta donde está la señal)(Figura 5) una vez que se realizó la inoculación se tapa el tubo con el mismo procedimiento que se abrió.



Figura 5: Procedimiento adecuado para realizar la inoculación en el tubo del colilert

4. Guardar la pipeta cuidadosamente en el empaque para no contaminarla y poder usarla al inocular la placa petrifilm con la misma muestra de agua.
5. Agitar por varios segundos el tubo del colilert con el fin de disolver el sustrato, hasta que el agua que contiene el tubo quede completamente clara (Figuras 6 y 7).



Figura 6: Color que debe de quedar el líquido del colilert una vez realizado la inoculación.

6. Incubar el tubo colilert a la temperatura del cuerpo 35°C con el fin de promover el desarrollo bacterial. Los tubos se pueden poner en el cinturón del pantalón, en el calcetín o en una bolsa junto al cuerpo y dormir con ellos o dejarlos a temperaturas ambiente si esta es igual a 35°C.
7. Revisar el tubo del colilert después de 12-14 horas hasta 24 horas. Cuando existe alta contaminación los resultados se observan después de 10 horas y se observan después de las 18 horas cuando la contaminación es menos. Si el tubo se vuelve amarillo entonces se debe de observar en un lugar oscuro con luz ultravioleta para ver si el *E. coli* está presente.

Los parámetros ideales de la temperatura son de 35 a 44 grados. Las temperaturas con más de 44 grados pueden destruir la bacteria antes que se complete el proceso de incubación.

Los resultados posibles del colilert son los siguientes:

1. Si el tubo está claro, no hay presencia de coliformes.
2. Si el tubo esta amarillo y se observa en un lugar oscuro con luz ultravioleta y no se observa fluorescente, tienen presencia de bacterias coliformes pero no de *E. Coli*. Es probable que vienen del medioambiente y no tiene significado para la salud publica. (Figura 8)



Muestras de agua en tubos de Colilert
Figura 7: Antes de incubación



Figura 8: Después de incubación, tienen presencia de bacterias coliformes

3. Si el tubo está amarillo y se observa en un lugar oscuro con luz ultravioleta y se observa un azul fluorescente, la muestra de agua tiene presencia de *E. coli* y el agua tiene riesgos sustanciales para la salud. (Figura 9)



Figura 9: Al observar los tubos con muestras de agua bajo luz ultravioleta, de izq. a der., el segundo tubo tiene presencia de la bacteria E.Coli

Para una descripción completa en como usar e interpretar el análisis del Colilert Presente/Ausente, por favor use <http://al.idexx.com/agua/colilert>

¿Cuál es el procedimiento para realizar el análisis de Petrifilm?

Las placas Petrifilm® de 3M (Figura 10) ofrecen una solución lista para usar, contiene un indicador tetrazoilo que colorea las colonias para identificarlas fácilmente y contiene en la película inferior que facilita el recuento de colonias.



Figura 10: Petrifilm

Paso a paso - las placas petrifilm para el recuento de E·Coli:

1. Colocar la placa petrifilm para el recuento de E·Coli en una superficie plana y escribir en la parte blanca y superior el nombre del sitio en donde se toma la muestra de agua, la fecha y la hora en que la muestra se analiza.
2. Levantar la película superior de la placa petrifilm para depositar con la pipeta 1 ml de la muestra de agua que contiene la bolsa, depositar el agua en el centro del círculo rojo que contiene nutrientes y con cuidado de no tocar la superficie del Petrifilm

Nota: Es importante colocar el agua solamente en el centro de la placa petrifilm y no tratar de llenar toda la parte nutricional con la pipeta.

3. Bajar la película superior de la placa petrifilm despacio para prevenir las burbujas de aire. No deje caer la película superior.
4. Colocar el dispersor con la parte lisa hacia abajo sobre la película superior. Dar una ligera presión en el centro del dispersor, lo cual distribuye la muestra de agua uniformemente dentro del círculo. (Asegurar no deslizar el dispersor sobre la película.) Quitar el dispersor con cuidado para no hacerle daño a la muestra de agua. No tocar la placa por un minuto y dejar que el gel se solidifique.
5. Incubar las placas con la película superior hacia arriba a temperatura del cuerpo hasta 24 horas. Puede colocar hasta 10 placas de petrifilm en un grupo. Donde no hay incubadores, las placas petrifilm se pueden colocar entre dos pedazos de cartón del mismo tamaño del petrifilm y sujetarlas con hule e incubar el grupo de placas junto al cuerpo durante el día y al dormir durante la noche.

Nota: Anotar alguna referencia en el cartón superior, por ejemplo el sitio del análisis, para asegurar que la película superior del petrifilm está hacia arriba.

6. Las colonias azules usualmente son visibles en 8 a 12 horas, las colonias crecen a un tamaño mas grande y produce burbujas de gas con mas tiempo de incubación.

Para más información:

http://www.distribucionesbiotecnologicas.com.mx/files/guia_petrifilm_ecoli_coliformes.pdf

Los posibles resultados del petrifilm son los siguientes:

1. Las colonias de E. coli están presentes cuando aparecen puntos de color azul con burbujas de gas. Cuando existen una o más colonias de E. coli significa que el agua está contaminada y que debe ser tratada antes de consumirse.
2. Cuando las colonias son de color rojo con o sin una burbuja de gas significa que no hay presencia de colonias de E. coli.
3. Cuando existen altas concentraciones de colonias de E-Coli el petrifilm se vuelve de color azul.

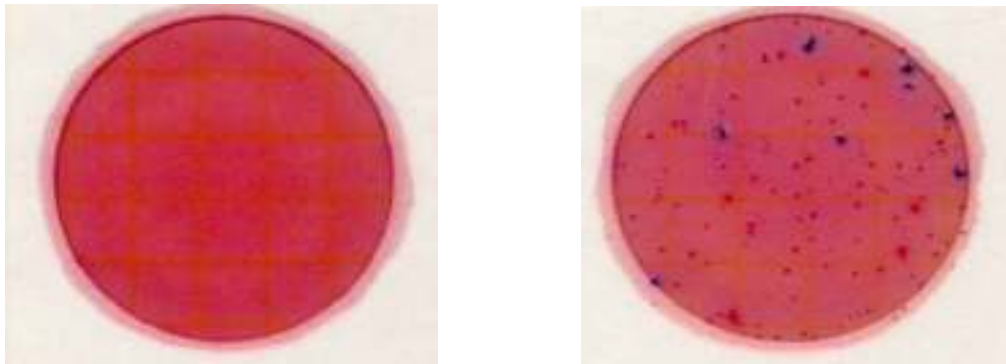


Figura 11: Petrifilm a la izquierda sin colonias de E-coli y a la derecha con colonias de E-coli

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Interpretación de los resultados del petrifilm y el colilert para el agua de consumo humano.

Los resultados de los análisis se observan después de 12 a 18 horas de incubación a 35 °C. Los resultados proporcionan una evaluación del riesgo para la salud por el uso de las fuentes de agua que están contaminadas y que pueden producir enfermedades.

Los datos los podemos relacionar con las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para agua potable que establece como valor guía: ausencia de *E-coli* en 100 ml de agua para considerar un agua como apta para consumo directo.

Evaluación del riesgo de fuentes de agua para uso potable:

Nivel de riesgo para la salud	E. coli/muestra	Resultados del análisis de Colilert (fluorescencia)	Resultados del análisis de Petrifilm & gas (azul)
Bajo	<1/10 ml	-	0
Medio	1-10/10ml	+	0
Alto	1-10/ml	+	1-10
Muy Alto	>10/ml	+	>10

- Si el análisis del colilert no se muestra fluorescente con la luz ultravioleta y no hay colonias azules con burbujas de gas en el petrifilm, el riesgo de enfermedad es “bajo”
- Si el del análisis Colilert se muestra fluorescente y el petrifilm se mantiene claro, el riesgo es moderado o “medio”
- Si el análisis del Colilert se muestra fluorescente y tiene entre 1 a 10 colonias azules con gas en el petrifilm, el riesgo es “alto”
- Finalmente, si el análisis del Colilert se muestra fluorescente y tiene más de 10 colonias azules con gas en el petrifilm, el riesgo es “muy alto”

Métodos prácticos para la desinfección de aguas contaminadas con E. coli

Algunos ejemplos son:

1. Calentar el agua
(**Nota:** no es necesario hervir el agua para desinfectarla, es suficiente calentarla hasta una temperatura de 65 C o 149 F grados.)
2. Pasteurización a una temperatura de 65°C
3. Cloración
4. Filtración (los resultados dependen del sistema de filtración y su mantenimiento).

Interpretación de los resultados para el caso de la agricultura

Para riego de hortalizas para consumo en fresco se recomienda una concentración de UFC de e-coli menor o igual a 1000/ 100ml (OMS 1989). Legislaciones como la española (Real Decreto 1620/2007, diciembre de 2007) establecen dos valores límite diferentes para el riego de hortalizas de consumo en fresco en función de si el sistema de riego evita el contacto con las partes comestibles de la planta (<1000 UFC de e coli/ 100ml) o si el contacto no se evita (< 100 UFC de e coli/ 100 ml)

En base a estos umbrales, y a los resultados con el colilert y el petrifilm, se puede realizar la siguiente evaluación del riesgo

Evaluación del riesgo para la salud de fuentes de agua para riego hortícola:

Nivel de riesgo para la salud	E. coli/muestra	Resultados del análisis de Colilert (fluorescencia)	Resultados del análisis de Petrifilm & gas (azul)
Muy Bajo	<1/10 ml	-	0
Bajo	1-10/10ml	+	0
Medio	1-10/ml	+	1-10
Alto	>10/ml	+	>10

Si existe un riesgo medio o mayor esta agua solo debiera ser usada en horticultura con la aplicación de medidas que impidan o reduzcan al máximo la presencia de patógenos sobre los cultivos como por ejemplo:

1. Tratamiento del agua de riego.
2. Técnicas de riego que minimicen el contacto del agua con las partes comestibles de los cultivos, como por ejemplo el riego por goteo o la hidroponía.
3. Dejar de regar dos semanas antes de cosechar, ya que la supervivencia de bacterias patógenas a 20-30°C sobre los cultivos no supera generalmente este tiempo.
4. Desinfección y/o cocinado del producto final.

Si el agua tiene riesgo “medio” se sugiere realizar al menos una de las recomendaciones anteriores, y si el riego es “alto” se recomienda usar una combinación de dos o más barreras consecutivas antes descritas (Mateo-Sagasta, 2011).

Para ampliar la información sobre el uso seguro de aguas de calidad marginal para riego se recomiendan las siguientes lecturas:

http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/gsuww/en/index.html

<http://www.fao.org/docrep/W5367E/W5367E00.htm>

<http://www.fao.org/docrep/t0551e/t0551e00.htm>

PRODUCTOS Y PROVEEDORES

La siguiente lista incluye proveedores de los productos que se necesitan para realizar los análisis explicados en esta Guía. La lista no es exclusiva y no implica una promoción para los proveedores.

COLILERT PRESENCE/ABSENCE TEST

IDEXX Laboratories, Inc.
One IDEXX Drive, Westbrook
Maine 04092 USA
Tel: +1 207-556-4496
Or + 1 800-321-0207
www.idexx.com/water
<http://al.idexx.com/agua>

E. COLI/COUNT PLATE PETRIFILM

3M Microbiology
St. Paul, MN 55144-1000, USA
Tel +1 800-328-6553
www.3M.com/microbiology
http://solutions.3m.com.mx/wps/portal/3M/es_MX/FSD_LA/FoodSafety

4 OZ/100ML STAND-UP WHIRL-PAK

Nasco
901 Janesville Avenue
Fort Atkinson, Wisconsin,
53538-0910, USA
Tel: +1 920-563-2446

STERILE PLASTIC PIPETTE, INDIVIDUALLY WRAPPED GRADUATED TO 1 ML (3.5 ML CAPACITY, INCL. BULB)

Se puede obtener del los siguiente proveedor:

Evergreen Scientific
2300 East 49th Street
P.O. Box 58248
Los Angeles, CA 90058, USA
Tel: +1 323-583-1331
E-mail: info@evergreensci.com

RECONOCIMIENTOS

Autores originales: Robert H. Metcalf, Catedrático, Universidad del Estado de California, Sacramento y Lars Onsager Stordal, Representante de la UN Habitat en Kenya Africa.

Versión en español: preparada por Representantes de FAO Nicaragua, FAO Guatemala y FAO Roma

Edición y Revisión: Gloria y Patrick Widner, IWHA

Sección de agricultura: Preparada exclusivamente por FAO Nicaragua, FAO Guatemala y FAO Roma

“Un agradecimiento especial de parte de IWHA para FAO Nicaragua y FAO Roma por preparar la sección relacionada con el uso del agua en el riego de hortalizas. Esta sección fue preparada a continuación del Proyecto, “Implementación de Agricultura Urbana y Periurbana en el Municipio de Ciudad Sandino y Barrio Los Laureles Sur, Distrito VII”. (GCP/NIC/038/SPA) en 2010.

Fotos: Dr. Bob Metcalf, Presidente, IWHA; Patrick Widner, Director Ejecutivo, IWHA; Representantes de UN Habitat; Representantes de FAO Nicaragua y FAO Roma

Alianzas Internacionales de Agua y Salud - International Water and Health Alliances

(IWHA) es una organización sin lucros con la misión de “Reducir las enfermedades relacionadas con el agua por medio de programas de análisis, tratamiento y mejoramiento de las fuentes de agua y para apoyar proyectos de saneamiento e higiene en las poblaciones más vulnerables del mundo, especialmente los niños en los países en vía de desarrollo.”

Se autoriza la reproducción de esta Guía siempre y cuando sea con fines educativos y se cite la fuente. Cambios en esta Guía necesita aprobación de los representantes de IWHA.

Para más información: info@waterinternational.org

Renuncia de Responsabilidad: Esta metodología para analizar el agua tiene el propósito de indicar el nivel del riesgo que causa la contaminación fecal. No es la intención de reemplazar métodos estándar para analizar el agua o los procedimientos aprobados para analizar el agua por los Gobiernos de sus respectivos países.