# TALLER 4: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE AGUAS

El agua constituye un alimento esencial, puesto que es indispensable para la vida. Interviene en nuestra alimentación, y en la preparación de alimentos además en la limpieza de equipos, utensilios, instalaciones, manipuladores, materia prima. Las aguas pueden ser un vector de gérmenes patógenos.
El agua potable ordinaria posee cualidades fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas que la hacen apta para consumo humano.

## 1. AGUAS DE CONSUMO

**Aguas de distribución pública (grifo):** aguas potables. La procedencia de la captación de aguas es superficial o subterránea. Antes de su distribución son sometidas a tratamientos de depuración:

- Coagulación y floculación: Coagulación: formación de partículas grandes usando coagulantes (sulfato de aluminio, aluminato de sodio, sulfato ferroso, sulfato ferrico). Floculación: sedimentación de esos coágulos (quedan en la parte de abajo).
- Decantación: por la parte de arriba sale el agua y sedimentos en fondo.
- Filtración: Para eliminar suciedad macro y parte de microscópica que haya quedado en el agua, a través de filtros de arena, carbón activado, tierra de diatomeas.
- Desinfección: se clora el agua antes de salir del acueducto a una concentración aproximada de 5 a 7 ppm (cloro residual en la red: 0,3 a 2 ppm según resolución 2115/2007).

**Aguas de captación individual (pozos):** proceden de fuentes o yacimientos subterráneos y se suelen usar en zonas rurales para abastecer casas de capo o industrias que no reciben agua de distribución pública. Debe ser tratada para su utilización.

**Aguas envasadas:** proceden de yacimientos subterráneos protegidos de contaminación y no sometidos a tratamiento desinfectante, envasándose en condiciones higiénicas para su consumo.

**Aguas de bebida envasadas:** son las presentas como minerales naturales, de manantial y potables preparadas, comercializadas envasadas:

- Aguas minerales naturales envasadas: las que emergen espontáneamente de la superficie de la tierra o se captan mediante labores prácticas para este efecto. Esta agua debe tener una acción favorable complementaria de las funciones fisiológicas sin llegar a poseer propiedades terapéuticas.
- A. De manantial envasadas: potables que emergen espontáneamente de la superficie de la tierra o se captan mediante labores prácticas para este efecto.
- A. Tratadas envasadas: es aquella que, habiendo sido sometida a un tratamiento adecuado, reúne las características propias de aguas potables o sanitariamente permisibles: coagulación y floculación, decantación, filtración. No se les agrega cloro.

**Aguas para preparación de hielo:**

- Hielo natural: es el que se obtiene por procedimientos no mecánicos, aprovechando los agentes atmosféricos o la climatología propia de la región (ejemplo: nieve, témpanos de hielo)
- Hielo artificial: se obtiene por procedimientos mecánicos. Debe ser incoloro, incoloro, insípido, exento de impurezas visibles, dar por fusión un líquido que satisfaga exigencias para agua potable.

## 2. AGUAS NO DESTINADAS AL CONSUMO

**Para industria de alimentos:** se usa para los siguientes fines: - Lavado y tratamiento de alimentos. – Preparación de hielo para conservación de alimentos. – Lavado de material, equipos, instalaciones. – Enfriamiento de conservas y otros alimentos.

El agua usada en la industria debe ser potable a excepción de la usada en enfriamiento indirecto de alimentos (en conservas debe ser potable).

**Aguas para uso recreativo:** aguas costeras, ríos, balnearios naturales.

**Aguas para acuicultura.**

**Aguas para riego.**

## 3. MICROBIOLOGÍA GENERAL DE LAS AGUAS

En todos los casos tanto el agua destinada a la alimentación como el agua de bebida deben presentar gran pureza microbiológica que depende en gran medida de su procedencia. Las aguas subterráneas, si proceden de capas profundas, están mejor protegidas que las superficiales; las contaminaciones son difíciles y la filtración a través de las capas sedimentarias limita el número de microorganismos.

**Flora del agua:** es muy variada encontrándose:

- Gérmenes habituales del agua: son principalmente algas microscópicas y bacterias de los géneros: *Vibrio, Pseudomonas, Achromobacter sp, Corynebacterium sp y otros.*
- Gérmenes de origen telúrico: se encuentran habitualmente en el sedimento de ríos y lechos marinos más que todo costeros. Entre estos tenemos dos géneros principales que son bacterias esporuladas: *Bacillus sp y Clostridium sp.* También se han encontrado los pertenecientes al género *Streptomyces sp* y a veces, esporas fúngicas.
- Gérmenes de origen humano o animal: son frecuentemente patógenos y, esencialmente enterobacterias de origen industrial y doméstico (heces humanas, de animales o desperdicios líquidos industriales). Entre las enterobacteriaceas tenemos: *E. coli, Salmonella sp, Shigella sp*. También se pueden encontrar *Streptococcus faecium, Clostridium pergringens*, *Vibrio cholerae*, etc. En climas tropicales se puede encontrar en el agua protozoos y parásitos (amebas, etc.). el agua puede transportar también virus (poliomielitis, hepatitis).

**Examen del agua en el laboratorio:** tiene como finalidad conocer la calidad sanitaria del agua y su grado de contaminación. Los análisis de rutina son esenciales para controlar los procesos de tratamiento del agua. El principal indicador es el grupo coliformes (totales y fecales) que se pueden encontrar en el intestino humano y heces de animales. Los microorganismos patógenos más importantes encontrados son: *Salmonella sp, Shigella sp, E. coli*, *Pseudomonas sp*. Para determinar si un suministro es o no apto para consumo, se requieren además análisis fisicoquímicos para determinar sólidos totales, dureza y organolépticos que determinen turbidez, color, olor, sabor.

Cuando se analizan aguas tratadas con cloro (acueductos, albercas, piscinas, etc) debe añadirse tiosulfato de sodio a los frascos de toma de muestras para neutralizar el cloro residual y evitar la destrucción de los microorganismos en el intervalo entre la recolección y el análisis. Para 100 ml. de muestra: 100 mg/lt o 2 gotas del reactivo en concentración del 10%.

La muestra debe ser representativa y debe realizarse el análisis a la menor brevedad: - Aguas impuras: 6 horas. – Aguas puras: 12 horas.

## EXAMEN BATERIOLOGICO DEL AGUA Y SUS MICROORGANISMOS INDICADORES

El examen bacteriológico del agua es vital en la prevención de epidemias, como resultado de la contaminación del agua. El examen bacteriológico del abastecimiento del agua no implica la búsqueda directa de los gérmenes patógenos. El ensayo se basa en el supuesto de todas las aguas contaminadas con las de cloaca son potencialmente peligrosas. Por consiguiente, el control sanitario del agua se hace con métodos bacteriológicos para determinar la presencia de contaminación fecal. Ensayos para determinación de patógenos no se usan rutinariamente debido a que detectarlos en diluciones altas es muy difícil y además se encuentra en número muy inferior al de las bacterias entéricas las cuales tienen una tasa de mortalidad mucha más lenta.

El examen bacteriológico del agua usualmente involucra dos ensayos: la estimación del número de bacterias de acuerdo con el conteo total en placa y la determinación, más significativa, de la presencia o ausencia de miembros del grupo coliforme.

Las limitaciones inherentes al intento de evaluar la seguridad del agua respecto a la salud pública mediante la enumeración directa de patógenos han llevado a que se utilicen en su lugar los "organismos indicadores". Estos no tienen necesariamente una relación directa con el número de patógenos presentes en una muestra dada de agua, sino que se dirigen más a evaluar el grado en que ha sido contaminada el agua, por la presencia de heces humanas y de otros animales de sangre caliente. Entonces, en vez de intentar determinar el riesgo real de contraer alguna enfermedad específica mediante el consumo del agua, esta prueba brinda una medida de la posibilidad de transmisión por el agua de cualquier tipo de enfermedad como consecuencia de la contaminación fecal. Este método es más significativo en muchos aspectos, ya que los resultados no se limitan solamente a patógenos específicos, sino que se refieren a la posibilidad general de contraer una gran variedad de enfermedades transmitidas por el agua. Los siguientes son los grupos de indicadores más usados para determinar la calidad del agua:

**Microorganismos Mesófilos Aerobios y Facultativos Viables** (Aerobios Mesófilos)

Esta es una técnica simple sirve como una herramienta para determinar la densidad bacteriana del agua potable y para estudios de control calidad bacteriológica en los procesos de tratamiento de aguas, mediante éste se puede monitorear cambios en la calidad bacteriológica del agua a través de un sistema de distribución como de la efectividad del cloro, así como la posible existencia de conexiones cruzadas, acumulación de sedimentos y otros problemas dentro de la línea de distribución. También puede ser utilizado para monitorear cambios en la calidad del agua embotellada o en casos de emergencia de sistema de suministro de agua.
Un recuento mayor de 500-1000 UFC/ml puede indicar inhibición de coliformes o disminución de la sensibilidad de las pruebas cuantitativas para "coliformes".
Para aguas rio tratadas, no es método de rutina, sin embargo, se recomienda para cuando se está investigando la calidad de una nueva fuente de abastecimiento de agua.

**El Grupo de bacterias Coliformes** (totales)

En 1884, estudios realizados por Eschericha establecieron que en los intestinos del hombre se presentaba una numerosa población de ciertas bacterias específicas. Posteriormente, se reconoció que la presencia de estos organismos (*Escheríchia coli*) en el agua podía interpretarse como evidencia de que el agua había sido contaminada con materia fecal, siendo la población de estas bacterias función del grado de contaminación.
El "grupo coliforme" de bacterias incluye a la *Escherichia colí*, al igual que a otras numerosas bacterias originadas en las descargas fecales o provenientes de muchas otras fuentes no fecales. Se ha estimado que el número de bacterias coliformes en las descargas fecales llega hasta, quizás, 200 X $10^9$ organismos diarios por persona.

Durante más de 70 años, se ha empleado grupo coliforme para evaluar la calidad sanitaria del agua potable. Debe enfatizarse que la lógica detrás de la utilización de este grupo de bacteria como "indicadores" no se basa en su potencialidad para causar enfermedades al hombre, aunque en determinadas circunstancias ciertas bacterias coliformes pueden causar infecciones. Ellas constituyen indicadores valiosos simplemente porque están presentes

en gran número en las descargas fecales y su población está relacionada al grado de la contaminación ocasionada por estas descargas. La presencia del grupo coliforme no indica necesariamente que existen patógenos de algún tipo en el agua. Los resultados de la prueba deben interpretarse como una medida de la posibilidad de que existan patógenos en el agua en ese momento o, quizás, en algún momento posterior como se esbozó anteriormente. Por tanto, este grupo no indica necesariamente contaminación de origen fecal pero si de procesos de saneamiento inadecuados y en número alto pueden indicar la probabilidad de presencia de bacterias patógenas como *Salmonella sp, Shigella* y S. *aureus.*
El "grupo coliforme" es definido como el que incluye a todas "las bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas, gram-negativas, no esporógenas, baciliformes que fermentan la lactosa formando gas en un período de 48 horas a 35°C.

**Coliformes Fecales**
Las bacterias coliformes fecales constituyen un subgrupo de todos los organismos coliformes discutidos líneas arriba, en el que se piensa están incluidos organismos con mayor probabilidad de haberse originado en los intestinos: En consecuencia, ellos muestran una mejor correlación respecto al grado de contaminación fecal. Las coliformes fecales se caracterizan por su capacidad de fermentar lactosa y producir gas a una temperatura de 44.5ºC. También puede determinarse su presencia mediante la técnica FM si se realiza la prueba a una temperatura mayor.
Debido a que coliformes fecales no sufren un proceso de recrecimiento en las corrientes y brindan una correlación más confiable respecto al grado de contaminación fecal, se están usando actualmente en gran medida en los EE.UU. para evaluar la calidad de las corrientes, especialmente respecto a la conveniencia de bañarse en ellas o de utilizarlas para la producción de crustáceos. También se está usando ampliamente Ja prueba de coliformes fecales para evaluar la calidad microbiológica de efluentes de instalaciones de tratamiento de aguas residuales. Por supuesto, el cambio de coliformes en general a coliformes fecales ha hecho necesario reducir considerablemente las concentraciones permisibles ya que los coliformes fecales son mucho menos numerosos que el grupo coliforme total.
La presencia de coliformes fecales, por ende, indica la presencia de contaminación de origen fecal relativamente reciente y posible presencia de patógenos en los que se incluye *E. coli.*

La presencia de cualquier tipo de organismos coliformes en el agua potable tratada sugiere ya sea un tratamiento inadecuado o el acceso de materiales indeseables después del tratamiento del agua. La presencia de organismos coliformes en el agua tratada exige una acción definitiva para su eliminación.

En consecuencia, el grupo coliforme es considerado como el indicador más confiable para evaluar si un tratamiento de agua es adecuado, prefiriéndosele para esta aplicación antes que al grupo coliforme fecal.

**Hongos y levaduras**
Un número creciente de hongos suele indicar una carga creciente de material orgánico en el agua o en el suelo. Grandes números de hongos similares reflejan un exceso de carga orgánica, mientras que una microbiota diversificada implica una población ajustada a los orgánicos del medio. Pese a su amplia distribución, se ha prestado escasa atención a la presencia y significado ecológico de los hongos en los hábitats acuáticos. La importancia de los hongos y sus actividades en el agua se comprende cada vez mejor gracias al progresivo conocimiento de su capacidad patógena para el hombre, los animales y las plantas; su papel como alimento o fuente de energía; su actividad en los procesos naturales de purificación, y su función en la formación de sedimentos. Estos microorganismos sirven también como indicadores de medidas higiénico sanitarias deficientes de equipos e instalaciones, al igual que los aerobios mesófilos

## CUESTIONARIO

Señor estudiante:

- Lea el material entregado del tema: Análisis microbiológico de aguas y examen bacteriológico del agua y sus microorganismos indicadores.
- A partir de la lectura resolver las siguientes preguntas:

1. ¿Cuál es la diferencia entre aguas minerales naturales envasadas y aguas de manantial envasadas?

2. ¿Cuál es la clasificación general de las aguas?

3. ¿Cuándo se puede usar agua no potable en industrias de alimentos?

4. ¿Cuál es la finalidad de agregar cloro cuando se va a distribuir el agua después del tratamiento en el acueducto?

5. ¿Qué son gérmenes de origen telúrico?

6. ¿Cuáles son las pruebas principales para determinar la calidad microbiológica del agua?

7. ¿Para qué se usa el Tiosulfato de sodio en el análisis de aguas?

8. ¿Cuáles son los tiempos mínimos requeridos para el análisis de las aguas después de haber sido tomadas las muestras?

9. ¿Qué indica la presencia de Mohos y levaduras en las aguas?

10. ¿Qué indica la presencia de Aerobios mesófilos en las aguas?

11. Consulte las normas vigentes para Agua tratada envasada (Resolución 12186/1991) y agua para consumo humano, tratada en acueducto (Resolución 2115/2007) y consigne los parámetros microbiológicos, cloro residual y pH admitidos para cada norma.