

Objetivos de las experiencias:

- Evaluar la calidad microbiológica del agua de distintos orígenes.
- Evaluar la calidad del agua de la red de distribución de la ciudad.
- Realizar la discusión e Informe de los resultados.

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE LAS AGUAS

INTRODUCCION

En la siguiente guía se describen técnicas para realizar estudios microbiológicos sobre muestras de agua con el fin de determinar su calidad sanitaria. Se utilizan más pruebas para la detección y recuento de microorganismos indicadores que para los de patógenos. El grupo de bacterias coliformes, tal como se define aquí, es el principal indicador de la adecuación del agua para usos domésticos, industriales o de otro tipo. Las reacciones de cultivo y las características de este grupo de bacterias han sido profusamente estudiadas. La experiencia ha demostrado que la densidad del grupo de los coliformes es un indicador del grado de contaminación y, por tanto, de la calidad sanitaria. Tanto el significado de las pruebas como su interpretación están bien precisados y se han utilizado como patrones de comparación de la calidad bacteriológica de los suministros de aguas. La técnica de la filtración por membrana (FM), que implica una siembra directa para la detección y cálculo de la densidad de coliformes, es tan eficaz como la fermentación en tubos múltiples para la detección de bacterias de este mismo grupo. La modificación de los detalles del procedimiento, y sobre todo de los medios de cultivo, han hecho que los resultados sean comparables a los que se obtienen con el método de la fermentación en tubos múltiples. Aunque existen limitaciones a la aplicación de la técnica de FM, puede ciertamente considerarse equiparable a la anterior si se emplea teniendo en cuenta de manera estricta sus inconvenientes y sus especificaciones

técnicas. Por tanto, se pueden contar con dos métodos estándar para la detección de las bacterias del grupo coliformes. Se informa los resultados de los análisis de coliformes obtenidos por la técnica de los tubos múltiples utilizando un índice el Número Más Probable (NMP), que es un registro del número de bacterias coliformes que, con mayor probabilidad, podría dar los resultados arrojados en el análisis efectuado, no se trata, pues, de un número real.

Los métodos de siembra directa, como FM, permiten el recuento directo de las colonias de coliformes (UFC). En ambos casos, la densidad de coliformes se expresa en NMP o recuento en UFC por 100 ml. El uso de cualquiera de ellos permite obtener una valoración de la cantidad sanitaria del agua y de la eficacia del tratamiento a que ha sido sometida. Como no es necesario aportar un registro cuantitativo de las bacterias coliformes en todas las muestras, se incluye también una prueba cualitativa de Presencia – Ausencia (P / A). Se presentan asimismo métodos para diferenciar el grupo coliformes, diferenciación que, en general, se considera de valor limitado en lo que se refiere a la evaluación de la calidad del agua potable, ya que la existencia de cualquier bacteria coliforme la hace potencialmente peligrosa. La determinación de las especies de coliformes, puede proporcionar información sobre la colonización de un sistema de distribución y confirmar la validez de los resultados acerca de la existencia de bacterias coliformes. Las bacterias del grupo coliformes se encuentran en el intestino y en las heces de los animales de sangre caliente y el hombre, entre ellas suele haber gérmenes capaces de producir gas a partir de la lactosa en un medio de cultivo adecuado a $44,5 \pm 0,2$ °C. Dado que otros bacilos Coliformes procedentes de otras fuentes no suelen producir gas en estas condiciones, tal criterio se utiliza para diferenciar el componente fecal del grupo coliforme. El Recuento de heterótrofos en medios de cultivo generales puede determinarse en placa o por FM. Proporciona un recuento aproximado del número total de bacterias viables, lo que suministra valiosa información sobre la calidad del agua y puede aportar datos que respalden el significado atribuido a los resultados de los

análisis de coliformes. El recuento heterótrofo en placa es útil para valorar la eficacia de los distintos procesos de tratamiento y puede tener una importante aplicación como análisis del control dentro de la propia planta depuradora. También es útil para controlar la calidad final del agua de un sistema de distribución, como indicador del recrecimiento de microorganismos y de la acumulación de sedimento en secciones de circulación lenta y en extremos muertos. La experiencia en el envío de muestras al laboratorio no refrigeradas prueba que pueden producirse cambios importantes en el tipo o en el número de bacterias durante el trayecto, aun cuando la duración de éste sea escasa. Por lo tanto se recomienda refrigeración (4 °C) durante el transporte para disminuir en lo posible los cambios, sobre todo cuando la temperatura ambiente es superior a 13 °C. Se presentan procedimientos para determinadas bacterias y parásitos patógenos, se tratan de técnicas tediosas y complicadas que no están recomendadas para uso habitual. De la misma forma, se ofrecen procedimientos provisionales para virus entéricos, pero no se defiende su utilización general. No se puede esperar del estudio de las muestras bacteriológicas habituales que proporcionen información completa sobre la calidad del agua. Hay que considerar siempre los resultados bacteriológicos a la luz de la información de que se disponga sobre las condiciones sanitarias del lugar de donde procede la muestra. Se considerarán inadecuados los resultados de cualquier estudio que se realice sobre una única muestra de fuente determinada. Siempre que sea posible, la valoración de la calidad del agua se basará en el análisis de una serie de muestras recogidas durante un período de tiempo conocido.

MUESTRAS

Las muestras para estudios microbiológicos se recogerán en envases estériles. Se puede añadir un agente reductor a los recipientes en los que se vaya a recoger agua con residuos de cloro u otro halógeno, a menos que dichos recipientes contengan caldos para siembra directa de la muestra. El tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) es un buen agente desclorante

que neutraliza todos los residuos de halógenos e impide el mantenimiento de la acción bactericida durante el transporte de la muestra. El posterior estudio de ésta indicará, por tanto, de forma más exacta el verdadero contenido microbiano del agua en el momento de realizarse la toma. Para efluentes: 0,1 ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10 % esterilizado cada 120 ml de muestra, neutralizará una muestra que contenga alrededor de 15 ppm (mg/lt) de cloro residual. Para agua potable: 0,1 ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 3 % esterilizado cada 120 ml, neutraliza un muestra que contenga alrededor de 5 ppm.

PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRAS

Al hacer la toma de muestra se dejará un amplio espacio aéreo en la botella (al menos 2,5 cm) para facilitar la mezcla por agitación antes de proceder al estudio. Se tomarán muestras representativas del agua objeto de la prueba, se limpiará con agua o se desinfectará la salida de la muestra y se utilizarán técnicas asépticas para evitar la contaminación de la misma. Los envases que se utilicen para la toma se mantendrán cerrados hasta el momento de llenarlos. Se retirarán las tapas o tapones a la vez, para no contaminar la superficie interna del tapón o tapa ni el cuello del envase. Se llenará el envase sin enjuagarla, se cerrará inmediatamente con el tapón o tapa.

Agua potable: si se va a tomar una muestra procedente de un grifo de una red de distribución, se elegirá un grifo al que llegue el agua por una tubería conectada directamente con la red de distribución y no, por ejemplo, procedente de una cisterna o un depósito de almacenamiento. Ábrase completamente el grifo y déjese correr el agua durante 2 o 3 minutos, o durante el tiempo suficiente para que se limpie la tubería de servicio. Redúzcase el caudal de agua para poder llenar el envase sin que se derrame. Si la limpieza del grifo es dudosa, aplíquese a la boca del mismo una solución de hipoclorito de sodio 100 ppm (100 mg de NaOCl por litro de agua) antes de tomar la muestra, déjese correr el agua otros 2 o 3 minutos después del tratamiento. No se harán toma de muestras de grifos que tengan fugas y dejen salir agua por encima de su superficie externa. Cuando se tomen muestra de grifos mezcladores, se retirarán

los filtros, protectores contra salpicaduras y demás accesorios semejantes, se dejará correr agua caliente durante 2 minutos, después agua fría durante 3 minutos, y se realizará la toma de la forma anteriormente indicada.

Muestra de un pozo con bomba de mano: se bombeará agua durante alrededor de 5 minutos antes de hacer la toma. Si el pozo está equipado con una bomba mecánica, se hará la toma en un grifo de descarga.

En caso de que no exista sistema de bombeo, se hará toma del pozo por medio de un envase provisto de un peso en la base, hay que tener cuidado para evitar la contaminación de las muestras por la espuma superficial.

En los estudios de agua potable se harán tomas de agua terminal y de distintos puntos del sistema de distribución, elegidos de forma que se asegure una cobertura sistemática todos los meses. Se escogerán cuidadosamente los puntos de toma de muestra en el sistema de distribución, incluyendo las secciones ciegas, para poder demostrar la calidad bacteriológica de la totalidad de la red y asegurarse de que no hay contaminación localizada en las interconexiones transversales y no existen roturas en las tuberías de distribución, ni reducción de la presión positiva. Los lugares de toma de muestra pueden ser sitios públicos (comisarias o parques de bomberos, edificios oficiales, escuelas, estaciones de tren o omnibús, aeropuertos, parques públicos) establecimientos comerciales (restaurantes, gasolineras, edificios de oficinas, plantas industriales) domicilios particulares (viviendas familiares, edificios de apartamentos y complejos urbanísticos) y estaciones especiales construidas al efecto en la red de distribución.

Suministro de agua sin tratar: cuando se hagan tomas directas de ríos, corrientes, lagos, pantanos, fuentes o pozos, se obtendrán muestras representativas del agua que llega a los consumidores. No es conveniente tomar muestras demasiado cerca de la orilla o demasiado lejos del punto de extracción ni a una profundidad superior o inferior a la de dicho punto de extracción.

Aguas superficiales: los estudios de corrientes son en muchos casos trabajos breves y de gran intensidad. Para la toma de muestra bacteriológicas se elegirán localizaciones que incluyan una línea de base aguas arriba del área de estudio, las salidas industriales y municipales de aguas residuales a la corriente principal del área de estudio, los tributarios, salvo los que tengan un caudal inferior al 10 % de la corriente principal, los puntos de toma de los suministros de agua industriales y municipales, muestras abajo según el flujo de la corriente y áreas recreativas situadas aguas abajo. La dispersión de las aguas residuales en la corriente receptora puede exigir estudios previos de sección transversal para determinar la homogeneidad de la mezcla. Cuando se trate de una corriente tributaria, se elegirá un punto de toma cercano a la confluencia con la corriente principal. Pueden tomarse las muestras desde una barca o desde puentes próximos a los puntos críticos de estudio.

FRECUENCIA DE MUESTREO

Se elegirá una frecuencia para la toma de muestras que refleje las condiciones de la corriente o masa de agua. Así, por ejemplo, para valorar las descargas de residuos se harán tomas cada 4 – 6 horas y se adelantará el horario durante un período de 7 a 10 días. Para controlar la calidad del agua de corrientes y lagos se establecerán localizaciones de toma de muestras en zonas críticas. La frecuencia de las tomas será estacional en el caso de las aguas de uso recreativo, diaria en el de las tomas para suministro de agua, horarias cuando el control del tratamiento de los residuos sea errático y los efluentes salgan a áreas de explotación marisquera o incluso continua. Playas: las localizaciones de toma de muestras en las zonas recreativas deben reflejar la calidad del agua en la totalidad de las mismas. Se incluirán puntos de las zonas periféricas situadas aguas arriba y lugares adyacentes a desagües o perfiles naturales que puedan constituir aliviaderos de aguas torrenciales o de aguas sépticas. En las zonas de baños se tomarán las muestras a una profundidad uniforme de alrededor de 1 metro. Se tendrá en cuenta

la posibilidad de tomar muestras de sedimentos de la zona de contacto agua playa (suelo, arena), dada la exposición de los niños pequeños al borde del agua. La frecuencia de las tomas se establecerá en relación directa con el período de máxima afluencia de bañistas, que en general coincide con las primeras horas de la tarde. Lo más conveniente es hacer tomas diarias durante la temporada oficial de baños, como mínimo, se tomarán muestras los viernes, sábado, domingos y días festivos o feriados. Si se limitan las tomas a los días de mayor uso recreativo, es preferible hacerlas por la mañana y a la primera hora de la tarde.

Los datos bacteriológicos se pondrán en relación con los niveles de turbidez o lluvia caída sobre el agua para hacer rápidas valoraciones de los cambios en la calidad del agua. La toma de muestras en ríos, arroyos, lagos o pantanos se hará sosteniendo el envase estéril cerca de la base con una mano y sumergiéndola boca abajo. Gírese el envase hasta que la boca quede dirigida hacia la corriente. Si no hay corriente, como en el caso de un pantano, se crea una corriente artificial empujando el envase horizontalmente en dirección contraria a la de la mano. Si la toma se hace desde un barco, se recogen muestras del lado de río arriba del mismo. Si no es posible hacer la toma de esta forma, se coloca un peso en la base del envase y se sumerge en el agua. En cualquier caso, deberá evitarse el contacto con la orilla o el lecho del río, pues de lo contrario el agua puede ensuciarse.

BACTERIAS INDICADORAS

Deben tener las siguientes características: No estar presentes en aguas puras, aumentar su concentración en forma proporcional al grado de contaminación, ser inocua para el hombre, tener más sobrevivencia que los patógenos en los procesos de autodepuración y tratamiento, desaparecer rápidamente cuando mueren los patógenos y ser fáciles de identificar y enumerar.

Indicadores de Contaminación Fecal.

1. Deben estar presentes en gran número en heces de animales de sangre caliente 2. Debe ser en lo posible no patógeno 3. Fácil de detectar por métodos sencillos y de bajo costo 4. Su persistencia y grado de eliminación durante el Tratamiento de agua deben ser similares a los patógenos 5. No deben encontrarse en aguas no contaminadas.

COLIFORMES TOTALES (β -galactosidasa +) Bacilos gram negativos, fermentadores de la lactosa a 35 - 37 °C con producción de ácido, gas y aldehído en 24 - 48 horas. Desarrollan en presencia de Sales Biliares u otros Agentes Tensoactivos con propiedades de inhibición similares.

Los géneros que satisfacen la definición son: *Escherichia coli*: se encuentra en heces de animales de sangre caliente. *Enterobacter*: se encuentra en heces y el ambiente. *Klebsiella*: se encuentra en heces y el ambiente. *Citrobacter*: se encuentra el ambiente. *Serratia*: se encuentra en el ambiente. Comprende especies que nunca se encuentran en heces, y desarrollan en aguas de buena calidad: *Serratia fonticola*, *Rahnella aquatilis* y *Buttiauxella agrestis*. Dan reacción varias especies fermentadoras de lactosa que se aíslan de suelos y aguas no contaminadas como *Serratia* y *Yersinia*. No incluye Lactosa negativa de origen fecal.

COLIFORMES FECALES o TERMOTOLERANTES. Grupo de coliformes que desarrolla a 44,5 +/- 0,2 °C en 24 horas. Son buenos indicadores de calidad de agua. No son indicadores específicos de contaminación fecal (*Aeromonas* es un falso +) Comprende el género: *Escherichia* y *Klebsiella*, en menor medida *Enterobacter* y *Citrobacter*. Las AEROMONAS desarrollan y fermentan Lactosa a 44,5 °C.

ESCHERICHIA COLI. Se encuentran en heces de animales de sangre caliente 10⁹ /gr heces. Desarrolla a 35 - 37 °C y 44,5 °C en medios complejos, fermenta la Lactosa y Manitol liberando ácido, gas y aldehído. Produce Indol a partir de Triptofano en 24 hs a 44,5 °C. No produce Oxidasa ni hidroliza la Urea.

Posee las enzimas β -galactosidasa (+) y β -glucuronidasa (+). La β -glucuronidasa (+) hidroliza el sustrato fluorogénico 4 - metil - umbellifery - β - D - glucurónido (MUG) liberando un fluorogeno que se detecta con luz UV (366 nm).

ESTREPTOCOCOS FECALES y Enterococos sp. Son más persistentes que los coliformes Resistentes al secado Indicadores de eficacia de tratamiento Indicadores de calidad de aguas recreacionales Los Enterococos actualmente es un género distinto a los Estreptococos fecales. Formado por cocos aislados de heces humanas y de animales que forman parte de este último grupo, pero con algunas restricciones en su desarrollo. Estreptococos fecales: desarrollan en Caldo Azida Glucosa (NMP y FM) y agar con Bilis Esculina. Enterococos: además crecen en Caldo Cerebro Corazón con ClNa al 6,5 % y a 45 °C. Enterococo faecalis y faecium se aíslan de heces humanas exclusivamente. No se multiplican en agua pero son más persistentes que los Coliformes. Son considerados muy buenos indicadores de contaminación fecal en aguas superficiales como Escherichia coli. Poseen la enzima Glucosidasa que hidrolizan el sustrato fluorogénico 4 - metil - umbellifery - β - D - glucósido (FANGO) en presencia de Acetato de Talio, ácido Nalidixico y Cloruro de trifenil tetrazolium (TTC) medio líquido liberando un fluorogeno que se detecta fácilmente con luz UV.

CLOSTRIDIUM reductores de sulfitos. Anaerobios Esporos resistentes Resisten la desinfección Indicadores de efectividad de tratamiento Indicadores de contaminación distantes

COLIFAGOS: Bifidobacterium -Bacteroides fragilis. Se asemejan a los enterovirus humanos Son fáciles de detectar Abundan en las aguas residuales.

Recuento de heterótrofos en placas

Indicadores de higiene del sistema de distribución (100 - 300 UFC/100ml limpiar el tanque). Incremento repentino: primer indicio de contaminación del acuífero.

TOMA DE MUESTRA

Todo programa que tenga como finalidad el Estudio de calidad de aguas, debe ser planificado cuidadosamente. El proceso de evaluación comienza con la recolección de la muestra. La naturaleza del sistema y los objetivos del estudio determinarán, en conjunto, el diseño del programa de muestreo. Los objetivos fundamentales de un monitoreo de calidad de aguas son generalmente los siguientes: 1)- Estudiar el impacto de las actividades del hombre sobre la calidad del agua y su utilización para distintas aplicaciones. 2)- Determinar la calidad del agua en su estado natural o en redes de abastecimiento. 3)- Investigar la fuente y vías de distribución de una sustancia considerada peligrosa para la salud. Los puntos clave que permitirán obtener datos útiles para elaborar un criterio respecto a ellos, son: a) Recolección de los datos adecuados. b) Ubicación de los sitios de muestreo. c) Muestreo idóneo que asegure la representatividad de las muestras.

Importancia del muestreo. De acuerdo a los objetivos mencionados, los tipos de aguas a muestrearse pueden ser: 1)- Aguas de consumo, tratadas o sin tratar. 2)- Aguas superficiales. 3)- Aguas residuales. En todos los casos es imprescindible obtener una muestra representativa, que conjuntamente con la precisión en Laboratorio, permitirá la obtención de datos reales. Para ello un muestreo deberá reunir los siguientes requisitos: a)- Será afectado por personal capacitado. b)- Responder a puntos de muestreos que mantengan regularidad y elegidos de acuerdo al objetivo que se persigue en el programa de trabajo. c)- Asegurar la representatividad de la muestra de acuerdo a los parámetros, a los que se asigna especial interés, teniendo en cuenta que al ser analizados en laboratorio, deberán tener los mismos valores correspondientes al tiempo y lugar de muestreo. d)- Considerar los tipos de alteración o interferencias que puedan afectar a dichos parámetros. e)- Tener en cuenta las precauciones respecto a envases, conservación, transporte y tiempo de análisis. f)- Reunir con exactitud los datos específicos de identificación de la muestra así como los complementarios.

Indicaciones para la extracción de agua en red domiciliaria. 1. Limpiar la canilla: eliminar del grifo cualquier adherencia que podría causar salpicaduras. Utilizar un trapo limpio, y secar el orificio de salida para eliminar cualquier suciedad. 2. Abrir la canilla: Abrir el grifo al máximo y dejar que salga agua durante 1-2 minutos y cerrar. 3. Esterilizar la canilla: esterilizar el grifo durante un minuto con llama de un mechero de gas, un encendedor corriente o a llama de un hisopo de algodón empapado en alcohol. 4. Abrir el grifo cuidadosamente y dejar que el agua salga durante uno o dos minutos a mitad de fuerza. No reajustar el chorro un vez fijado, 5. Abrir el frasco esterilizado: tomar un frasco y desenroscar cuidadosamente el tapón de rosca, o bien retirar el tapón de corcho o de goma, según el recipiente utilizado. 6. Llenar el frasco: manteniendo el tapón de rosca y el capuchón protector cara abajo (para prevenir la entrada de polvo, que puede contaminar la muestra) poner inmediatamente el frasco bajo el chorro de agua y llenarlo. Hay que dejar un pequeño espacio de aire para que sea más fácil agitar la muestra antes del análisis. 7. Tapar el frasco: introducir el tapón correspondiente y fijar el capuchón, colocando los datos correspondientes al caso.

Ficha de muestreo

PLANILLA

Procedencia de la muestra:

Localidad.....

Establecimiento,

lugar:.....

.....

Calle:.....N°.....

..... Fecha de

extracción.....Hora:.....

.....

I. Fuentes de provisión de agua.

Red

Pozo

Otros

II. Sitio de extracción de la muestra

II.A. Red de distribución.

Entrada a la Red

Estación de bombeo

Tanque de almacenamiento

En la Red de distribución

Ubicación del grifo:

Conectado a la red directamente

Conectado a la bajada del tanque

Condiciones higiénica del grifo:

Buena

Regular

Mala

Funciona normalmente

Si

No

Tiene uso continuo

Si

No

Determinación en el lugar: Cloro residual mg/l
Tem. del agua..... ° C
Tem. del aire ° C

Pozo Profundidad del pozo:..... metros

Condiciones higiénicas del pozo: Buena Regular
Mala

Antigüedad del Pozo años Tiene uso continuo Si
No Distancia al pozo ciego..... metros Observación:

.....
.....