



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 11 – OCTUBRE DE 2008

## “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA”

AUTORIA <b>AZAHARA CABRERA ORTEGA</b>
TEMÁTICA <b>PRÁCTICA</b>
ETAPA <b>SECUNDARIA POSTOBLIGATORIA</b>

### Resumen

El objetivo fundamental de esta práctica es conocer los caracteres que hacen posible una adecuada calidad del agua potable y tener claro cuando un agua es o no apta para su consumo; para esto hay que saber en qué consisten las diferentes tomas de muestra para un análisis microbiológico de aguas.

### Palabras clave

- Clasificación sanitaria de aguas
- Toma de muestras
- Bacterias
- Coniformes
- Clostridios
- Streptococos
- Mohos y levaduras



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 11 – OCTUBRE DE 2008

## INTRODUCCIÓN

Para saber si el agua es apta o no apta para su consumo se tiene que someter a cuatro tipos de análisis:

- Químico: se determina su dureza, residuo seco, oxígeno disuelto, pH, cloruros, sulfatos...
- Físico: determina turbidez, color, sabor y olor
- Biológico: determina la presencia de algas, protozoos, larvas...
- Microbiológico: determina el número de bacterias presentes en el agua, la presencia o ausencia de coliformes y *Streptococcus faecalis*, cuya presencia indica contaminación fecal y como consecuencia se pueden producir enfermedades.

### 1. CARACTERES DE LAS AGUAS POTABLES

1. Organolépticos: sabor color, olor, turbidez

2. Físico-químicos:

- pH de 7 a 8
- oxígeno disuelto hasta 5 mg/l de agua
- residuo seco a 110°C hasta 750 mg/l de agua
- dureza total mínima 150 mg carbonato cálcico por litro de agua
- cloruros hasta 25 mg/l de agua
- calcio hasta 100 mg/l de agua
- magnesio hasta 30 mg/l de agua sulfatos hasta 25 mg/l de agua
- aluminio hasta 50 microgramos/litro de agua



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 11 – OCTUBRE DE 2008

### 3. Microbiológicos

- hasta 100 bacterias aerobias/ml de agua a 22°C
- hasta 10 “ “ “ 37°C
- ausencia total de bacterias coniformes, *Streptococcus faecalis*, clostridios sulfito reductores en 100 ml de agua
- ausencia total de elementos formes
- un máximo de 200 bacterias aerobias/ml de agua a 37°C

## 2. CLASIFICACIÓN DE LAS AGUAS

- aguas potables: los tres tipos de caracteres son aceptados por la reglamentación técnico-sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables
- aguas sanitariamente permisibles: algunos de sus caracteres físico- químicos sobrepasan los límites tolerables, sin presentar productos tóxicos, ni elementos radiactivos, ni contaminación fecal. Consumo excepcional y con carácter temporal.
- Aguas no potables: sus caracteres físico- químicos y/o microbiológicos o de radiactividad hacen imposible su consumo, quedando prohibido su uso.

## 3. TOMA DE MUESTRA PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Hay que obtener del agua a analizar una cantidad de muestra suficiente para poder determinar a partir de ella su calidad microbiológica de interés sanitario.

Hay tres tipos de muestras:

- Simple: se toman en un lugar determinado para análisis individual



**ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 11 – OCTUBRE DE 2008**

- Compuesta: se toman muestras simples en el mismo punto pero en diferentes tiempos y se mezclan
- Integradas: mezcla de muestras simples en distintos puntos y recogidas al mismo tiempo

Se deben recoger en recipientes de vidrio neutro e incoloro de boca ancha y con tapón de vidrio esmerilado. Este recipiente no debe desprender materia orgánica ni nada que contamine la muestra, ni reaccionar con ningún componente de la muestra.

El volumen de muestra adecuado para este análisis se tomará en una sola muestra cuyo recipiente debe tener una capacidad mínima de 250 ml.

Este frasco hay que rotularlo con los datos de quien solicita el análisis con la dirección completa incluyendo la entidad a que pertenece con los datos del origen del agua (lugar, término municipal, provincia, fecha, hora de la captación...) e indicar si el agua es natural o tratada, o si sufre algún tipo de depuración.

El material para este análisis debe estar esterilizado previamente en autoclave (120 °C 30 minutos) o en el horno Pasteur a 180 °C durante 2 horas.

Una vez recogida la muestra, deberá ser examinada en el menor tiempo posible.

Para aguas impuras el tiempo máximo a transcurrir será de 6 horas. Para aguas relativamente puras será 12 horas. Las muestras se mantendrán durante este tiempo entre 6-10 ° C.

Si el análisis se realizase sobre aguas de piscinas, se podrá añadir tiosulfato sódico (20 a 50 mg) En 250 ml de muestra, con el fin de neutralizar el cloro residual y evitar la destrucción de las bacterias en el tiempo que transcurre desde la toma de la muestra a su posterior análisis.

Las muestras deberán mantenerse en oscuridad y se conservarán un máximo de 24 horas siempre y cuando su temperatura haya sido 6 °C

#### **4. RECUENTO DE BACTERIAS**

El objetivo es determinar el número de bacterias existentes en el agua de muestra.

Hay que realizar diluciones de la muestra del agua. A partir de aquí se realizan determinaciones específicas.

Se usa material aséptico y, por tanto, esterilizado:



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 11 – OCTUBRE DE 2008

- Pipetas estériles de 1 ml con algodón graso que actuará como filtro
- Tubos de ensayo estériles con agua estéril
- Tapones de corcho estériles
- Placas de Petri de 10 cm de diámetro
- Medio de cultivo de agar PCA o agar nutritivo

La técnica es la siguiente:

1. agitar el frasco de la muestra
2. hacer diluciones: una primera del agua al 1:10 añadiendo con pipeta estéril 1 ml de la muestra al tubo de ensayo con 9 ml de agua estéril y posterior agitación
3. segunda dilución al 1:100 añadiendo 1 ml de la dilución anterior con otra pipeta estéril a un tubo que contiene 9 ml de agua estéril, homogeneizar
4. tercera dilución al 1:1000 (igual que en 2 y 3)
5. cuarta dilución al 1: 10000 ( igual que en 2,3,4)
6. siembra de diluciones en placa de Petri cuyo medio de cultivo estéril suele ser agar nutritivo o gelatina
7. la siembra es con un inóculo de 0,5 ml o de 1 ml
8. sembradas las placas se incubarán en estufas de cultivo en oscuridad y a 37°C durante 24 horas, saturadas de humedad o a 20°C durante 48 horas
9. cuando pase el tiempo contar las colonias observadas en las placas

## 5. COLIMETRÍA

Esta técnica la usamos para buscar bacterias coliformes que son de morfología bacilar o cocobacilar, Gram negativos aerobios o anaerobios facultativos, oxidasa negativa no formadores de esporas, que



**ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 11 – OCTUBRE DE 2008**

fermentan la lactosa con producción de gas y ácido a 37°C en un tiempo máximo de 48 horas. Si son fecales, además de todas estas características, producirán ácido y gas a 44 °C en un máximo de 24 horas.

La determinación de coliformes se realizará mediante:

a) Colimetría presuntiva:

El objetivo es estudiar la posible presencia de bacterias del grupo coliforme indicativo de posible contaminación fecal.

Se buscan coliformes mediante la siembra de distintas cantidades de agua problema ( 0,1, 1 y 10 ml) en una batería de tubos con medio caldo lactosado y un indicador de pH que virará ante la presencia del medio ácido a color amarillo a las 24-48 horas, después de su incubación. Posteriormente, se revelará a través de las tablas NMP (número más probable). En función de los datos obtenidos (casos positivos) se pasará a la siguiente prueba, la polimetría confirmativa.

b) Polimetría confirmativa:

Se estudia y confirma la presencia de coliformes totales y fecales.

Para ello es necesario que la polimetría presuntiva haya dado positiva. Así que sólo usamos los tubos positivos.

Consiste en la resiembra en medios de cultivo selectivos y diferenciales de dichos tubos positivos incubándolos a 37 °C durante 24-48 horas.

c) Determinación de coliformes: prueba IMVIC

Se identifican los tipos de coliformes contaminantes del agua problema.

Esta prueba IMVIC consiste en 4 pruebas que permitirán identificar cuáles son los tipos de microorganismos responsables de la contaminación fecal.

Esta prueba IMVIC está basada en:

- I (prueba del indol): determina la capacidad del microorganismo de producir indol a partir de agua peptonada rica en triptófano.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 11 – OCTUBRE DE 2008

- M (prueba de rojo metilo): capacidad del microorganismo para fermentar glucosa con la consiguiente producción de ácido que disminuye el pH, así que el indicador de pH virará a rojo.
  
- V( prueba de Voges- Proskawer): capacidad del microorganismo para producir acetoina ( producto intermedio en la degradación de la glucosa)
  
- C ( prueba de citrato de Simmons): capacidad del microorganismo para usar el citrato como única fuente de carbono

Dependiendo de si el resultado de estas pruebas es positivo o negativo ( lo vemos en una tabla) se tratará de un microorganismo u otro.

Por ejemplo:

- Indol : - →→→→ podría ser Enterobacter
- Rojo metilo: -
- Voges-Proskawer: +
- Uso del citrato: +

## 6. RECUENTO DE CLOSTRIDIOS SULFITO REDUCTORES

El objetivo es contar y determinar el número aproximado de colonias de bacterias sulfito reductoras capaces de formar esporas (especialmente *Clostridium perfringes*).

Se basa en el recuento en un medio sólido compuesto por glucosa, cloruro sódico, peptonas, sal férrica y sulfito sódico de aquellas bacterias que reduzcan el sulfito.

Las colonias de clostridios sulfito reductores se presentarán como colonias negras en el medio de cultivo debido a la formación de sulfuro ferrosoproducido por la acción reductora del sulfito.

## 7. RECUENTO DE *STREPTOCOCUS FAECALIS*

El objetivo es determinar en la muestra problema la presencia o no de estreptococos, especialmente *Streptococcus faecalis*, que en caso positivo sería indicativo de contaminación fecal de las aguas que se analizan.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 11 – OCTUBRE DE 2008

Son cocos Gram + aerobios o anaerobios facultativos, catalasa – y fermentadores de glucosa con la consiguiente producción de ácido a 37°C en 48 horas. Vamos a inocular distintos volúmenes de muestra problema en una batería de tubos con medio de cultivo Rothe a 37°C durante 48 horas. Posteriormente por la tabla NMP para estreptococos determinamos el número.

Se consideran tubos positivos aquellos que presenten turbidez o sedimento y posteriormente, de acuerdo con los resultados se recontará el número de estreptococos con la tabla NMP.

## 8. RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS

El objetivo es determinar la presencia de mohos y levaduras en las muestras de agua problema.

Se siembra el agua problema en medio sólido OGYE ( Oxitetraciclina, Glucosa, extracto de levadura) que impide el crecimiento de bacterias y facilita el de hongos y levaduras.

Se observa si aparecen o no colonias.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

Granados Pérez, R .y Villaverde Peris, M.(2003). *Microbiología*: Tomo II. Madrid: Editorial Thomson-Paraninfo.

### Autoría

---

- Azahara Cabrera Ortega
- Córdoba
- E-MAIL: azahara\_co@hotmail.com