Escuela Superior Politécnica del Litoral

Instituto de Ciencias Matemáticas
Ingeniería en Auditoria y Control de Gestión

Celia María Castro Muñoz

Calidad del Agua

Profesor: Ing. José Chang

Coliformes Totales

Guayaquil, 26 de Junio de 2007

Introducción

Los coliformes son un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común, por su amplia diversidad se los clasifica en dos grandes grupos que son los Coliformes Totales y Coliformes Fecales. Los coliformes totales se usan para evaluar la calidad de la leche pasteurizada, leche en polvo, helados, pastas frescas, fórmulas para lactantes, fideos y cereales para el desayuno; los encontramos en varios medios principales como son el aire el agua y el suelo.

COLIFORMES TOTALES

Introducción de Coliformes

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos.

Coliforme significa con forma de coli, refiriéndose a la bacteria principal del grupo, la Escherichia coli, descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor Von Escherich en 1860. Von Escherich la bautizó como bacterium coli ("bacteria del intestino", del griego κολον, kolon, "intestino"). Con posterioridad, la microbiología sistemática nombraría el género Escherichia en honor a su descubridor

Bacterias coliformes

Clasificación científica

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gamma Proteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae

Géneros

- Escherichia
- Klebsiella
- Enterobacter
- Citrobacter

Caracteres bioquímicos

El grupo coliforme agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas:

- aerobias o anaerobias facultativas
- bacilos Gram negativos
- Oxidasa negativos
- No ser esporógenas
- Fermentar la lactosa a 35 °C en 48 horas, produciendo ácido láctico y gas.

Hábitat del grupo coliforme

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales.

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre.

Los coliformes como indicadores

Se los ha considerado como indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano en razón de que, en los medios acuáticos, los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y porque su origen es principalmente fecal. Por tanto, su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura.

Asimismo, su número en el agua es proporcional al grado de contaminación fecal; mientras más coliformes se aislan del agua, mayor es la gravedad de la descarga de heces.

Los coliformes son una familia de bacterias que se encuentran comúnmente en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo a los humanos. En general, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo.

Por su amplia diversidad el grupo coliformes ha sido divido en dos grupos: coliformes totales y coliformes fecales.

Bacterias que integran el grupo

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros:

Escherichia
Klebsiella
Enterobacter
Citrobacter
No todos los autores incluyen al género Citrobacter dentro del grupo coliforme.

Coliformes totales y coliformes fecales

No todos los coliformes son de origen fecal, por lo que se hizo necesario desarrollar pruebas para diferenciarlos a efectos de emplearlos como indicadores de contaminación.

Coliformes totales, comprende la totalidad del grupo
Coliformes fecales, aquellos de origen intestinal

Los coliformes totales se usan para evaluar la calidad de la leche pasteurizada, leche en polvo, helados, pastas frescas, fórmulas para lactantes, fideos y cereales para el desayuno. Los coliformes totales los encontramos en varios medios principales como son el aire el agua y el suelo.

Pruebas de Laboratorios.

- Tubos Múltiples
- Filtración
- Gel

La prueba de los Coliformes.

Se utiliza dos tipos de procedimientos para hacer la prueba de los coliformes.
Son el procedimiento del numero mas probable (MPN), y el de filtración a través de una membrana (MF).
El método (MPN) emplea medio de cultivo liquido en tubos de ensayos a los cuales se añaden las muestra de H2O de bebidas.
En el método más común por filtración (MF), la muestra de H2O se pasa a través de un filtro de membrana estéril, que tiene las bacterias y luego el filtro se encuba en un medio de cultivo.

El MF se basa en la filtración de una muestra para concentrar células viables sobre la superficie de una membrana y transferirlas a un medio de cultivo apropiado, para posteriormente contar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) desarrolladas después de la incubación.

Cuando se utiliza el método del filtro de membrana para el agua bebida, deben filtrarse al menos 100 ml de agua, aunque en sistemas de aguas limpias pueden filtrarse volúmenes mayores.

En sistemas de abastecimientos de aguas bien regulados, los ensayos de coliformes son siempre negativos. Si los resultados no son uniformemente negativos, se han producido una alteración en el sistema o en la red de distribución.

Recuentos de microorganismos viables "Totales"

Los recuentos "totales" expresan el número por gr o ml de unidades formadoras de colonias (ufc), de alimentos obtenidos en determinadas condiciones de cultivo en medio sólido incubado en aerobiosis. No existe una relación directa entre la flora aerobia y la posible presencia en los alimentos de microorganismos patógenos de procedencia intestinal, ni tampoco de otros agentes de infecciones e intoxicaciones alimentarias de diversas procedencia.

Conclusión

La determinación de bacterias coliformes totales, pueden estar presentes tanto en los alimentos como en los sistemas de agua potable, ya que estos microorganismos se pueden transmitir a través de diferentes vías.

Los coliformes totales así mismo nos ayudan a determinar si los productos alimenticios y el agua son actos para el debido consumo.

ANEXOS

PRUEBA DISCO AGUA-TEST PRESENCIA-AUSENCIA COLIFORMES TOTALES (DAT P-A CT)MR

DAT P-ACT MR es una bolsa de plástico estéril y descartable que contiene un disco de papel filtro impregnado de un medio de cultivo, basado en los medios convencionales para el crecimiento fermentación de la lactosa de las bacterias coliformes. DAT P-A CT MR es una prueba de campo de fácil aplicación, que no requiere de instalaciones ni personal especializado de laboratorio, para la determinación de bacterias coliformes en agua para consumo humano, uso industrial y doméstico. Para evaluar la calidad biológica del agua, no es práctico buscar todos los posibles microorganismos patógenos que pueden contaminar el agua; por lo que se acepta universalmente la determinación de bacterias indicadoras de contaminación fecal, siendo las del denominado "grupo coliforme" las más aceptadas.

DAT P-ACT MR es una tecnología sencilla que puede ser aplicada a nivel comunitario en el monitoreo de la calidad higiénica del agua, de evaluación en puntos seleccionados del sistema de abastecimiento y puede facilitar la vigilancia sistemática que debe tener todo suministro de agua a nivel comunitario en la prevención de las enfermedades diarreicas.

Para el uso del DAT P-ACT MR , se agrega dentro de la bolsa un volumen de aproximadamente 20 mililitros del agua a examinar, tomando cuidado de no tocar el interior de la bolsa. El medio de cultivo del disco de papel filtro se libera y el agua toma un color púrpura. Inmediatamente después se cierra la bolsa, se coloca en posición vertical y luego se incuba a una temperatura de 35 a 37 ºC, o a una temperatura ambiente en lugares cálidos, por 24 a 48 horas, para determinar la presencia o ausencia de los coliformes totales.

Una prueba positiva de la presencia de coliformes con el DAT P-ACT MR es cuando el agua examinada cambia de color púrpura a amarillo. El cambio de color se debe a que cuando los coliformes están presentes en el agua se manifiestan por su crecimiento y fermentación de la lactosa del medio de cultivo.

Esta prueba ha sido validada con el método de fermentación de tubos múltiples (1,2), que es un método de referencia para la determinación de coliformes en agua, obteniendo una especificidad de 95% y una sensibilidad de 93%. El valor predictivo positivo es de 97% y el negativo 93%. El índice de correlación (prueba de Kappa) es de 0.88, lo que significa que esta prueba tiene una muy buena correlación con el método de referencia.

Almacenamiento

Las condiciones de almacenamiento y el tiempo de estabilidad es de tres meses en refrigeración (4 ºC) y sin luz directa, a partir de la fecha en que fue obtenida.

Evidencia de deterioro

No se recomienda utilizar la prueba DAT P-ACT MR cuando el disco de papel filtro no es de un color verde grisáceo a gris perla.

Aspectos generales para la toma de la muestra de agua para examen bacteriológico

Cuando se toman muestras para examen bacteriológico, es necesario adoptar todas las precauciones para que éstas sean representativas del agua a ser examinada y para evitar la contaminación accidental durante las operaciones de recolección. Cuando se toman muestras al mismo tiempo y en el mismo sitio, se deben tomar primero las muestras para los exámenes bacteriológicos y así evitar el riesgo de contaminación en el lugar del muestreo mientras se recogen los demás especimenes (3); por ejemplo, para determinación de cloro, pH, temperatura, substancias químicas, etc.

Siempre que se realiza un muestreo de agua debe tomarse en cuenta que existen diferentes formas de tomar la muestra según sea su origen: agua potable de un sistema de distribución, aguas superficiales o aguas profundas de ríos, lagos, etc.

Materiales requeridos pero no suministrados para la toma y proceso de muestras

(1) marcadores indelebles, (2) etiquetas, (3) algodón, (4) alcohol al 70%, (5) mechero de alcohol, (6) fósforos, (7) gradilla o soporte para bolsas plásticas, (8) hielera, (9) hielo en bolsa, (10) incubadora a 35 - 37 ºC.

Instrucciones para la toma de muestras de agua para exámenes bacteriológicos

1. Si el agua es recolectada de un sistema de distribución, de una planta de tratamiento, o de un pozo, se seleccionan grifos (chorros) que estén conectados directamente al servicio de distribución y en puntos representativos; el grifo debe estar en buen estado y no debe gotear para que el agua no escurra por su parte externa.
2. Limpie y desinfecte el exterior y la boca interior del grifo con un algodón impregnado con alcohol, hasta que salga limpio; si la llave del grifo es de metal, flamee la boca interior por medio de un mechero de alcohol durante 1 minuto.
3. Abra completamente la llave del grifo y el agua se deja correr durante 1 a 3 minutos o el tiempo que se considere suficiente para que se haya renovado todo el líquido contenido en las tuberías; luego se reduce el flujo de tal forma que sea posible verter agua a la bolsita sin salpicaduras.
4. Abra la bolsita DAT P-ACT^{MR} separando las pestañas de la cinta metálica blanca y desdoblándola, sin tocar el interior.
5. Agregue muy despacio el agua a examinar cubriendo el disco hasta la orilla del mismo o debajo de la marca (línea) en la bolsita, que corresponde a un volumen aproximado de 20 ml. y cierre.
6. Agite la bolsita en forma circular, permitiendo que el disco de papel se humedezca y libere el medio de cultivo. El agua toma un color púrpura. (Nota: si el agua toma color amarillo no puede realizar la prueba con este método).
7. Identifique y rotule la bolsita con los datos del punto de muestreo, tipo de fuente de agua, lugar/dirección, comunidad, Municipio, Departamento y fecha de obtención de la muestra.

8. Coloque y mantenga la bolsita en posición vertical, con una gradilla o soporte, para evitar posibles fugas de agua.
9. Envíe la bolsita lo más pronto posible al laboratorio; si esto no es posible se transporta o almacena a una temperatura entre 4 y 10 ºC colocando las muestras en una hielera, donde se rodea con bolsas plásticas llenas de hielo, las cuales se cierran por medio de un trozo de cinta adhesiva, bandas de hule o cualquier otro material que impida que el hielo al licuarse durante el transporte pueda contaminar la muestra bacteriológica; de preferencia, use bloques plásticos de “hielo”. El tiempo máximo prudencial para realizar el examen bacteriológico después de la recolección de la muestra es de 6 horas; el tiempo máximo entre la colección y análisis es de 24 horas.
10. Coloque la bolsita en una incubadora a 35 - 37 ºC por 24 a 48 horas.

Interpretación y reporte de resultados de muestras para exámenes bacteriológicos

1. Prueba negativa. No hay cambio de color y el agua permanece de color púrpura. Si la prueba DAT P-ACT^{MR} es negativa, se continúa incubando por 24 horas más; si pasadas 48 horas desde el inicio de la toma de la muestra no cambia de color, se considera como negativa, y se interpreta que esa muestra examinada sí satisface la norma de calidad y el agua es adecuada para el consumo humano. Los resultados se informan como "ausencia de coliformes totales".
2. Prueba positiva. Sí hay cambio de color y el agua cambia del color púrpura a amarillo. Si la prueba DAT P-ACT^{MR} es inicialmente negativa, se continúa incubando por 24 horas más y si a las 48 horas desde el inicio de la toma de la muestra cambia de color, se toma como positiva, lo que se interpreta que esa muestra examinada no satisface la norma de calidad y el agua no es adecuada para el consumo humano. Los resultados se informan como "presencia de coliformes totales; se recomienda clorar el agua para consumo humano". En este caso es importante buscar coliformes termotolerantes (fecales) y Escherichia coli, con un método bacteriológico cuantitativo.