

TALLER REGIONAL
SOBRE CONTROL Y CALIDAD DEL AGUA

Técnicas cualitativas para el control de calidad del agua

Ing. Andrés Sánchez
Ottawa, Canadá
octubre, 1997

ARCHIV
SANCHE
NO. 117813

organizado por
Fundación Tecnológica de Costa Rica (FUNDATEC/ITCR); Unión Mundial para la Naturaleza (UICN)
Organización Panamericana de la Salud (OPS)
con colaboración de
Laboratorio Central del AyA-Costa Rica
Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID) del Canadá

Reconocimiento

Este manual fue preparado por W.A. Sánchez con la colaboración de B.J. Dutka, Lorena Aguilar y Elías Rosales. Partes del material técnico fueron extraídas de los siguientes manuales:

"Water Quality Technician Training Program - Split Lake Cree First Nation, Participant Manual". V. Spence *et al.*, Split Lake FN, Manitoba, printed by Health Canada (1995).

Procedures For Microbiological Testing of Drinking and Recreational Waters in Remote and Isolated Communities". B.J. Dutka and P. Seidl. National Water Research Institute, Environment Canada (1993).

Bacteriological Methods Manual for Testing Drinking Water in Rural and Isolated Indonesian Villages". B.J. Dutka, National Water Research Institute, Environment Canada (1996).

"Guidance Document for Sample Collection and the Use of Commercial Presence-Absence (P-A) Tests for the Bacteriological Analysis of Drinking Water". Laboratory Services Branch, Ministry of Environment and Energy, Ontario, Canada (January 1997).

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
-------------------	---

PARTE 1: ENSAYOS PARA AGUA DE CONSUMO

Generalidades.....	2
1 Contaminantes microbiológicos.....	2
2 Descripción general de los ensayos bacteriológicos.....	5
3 Características sobresalientes.....	5

Seguridad e higiene en trabajos microbiológicos

1 ¿Por qué es importante mantener un alto nivel de higiene?.....	8
2 Limpieza del área de trabajo.....	9
3 En caso de accidentes o derrames.....	9

Recolección y manejo de muestras

1 Muestras con residuos de cloro.....	10
2 Muestras de agua cruda (sin tratamiento).....	10

Ensayo de tira de papel indicador de Sulfuro de Hidrógeno (H₂S)

1 Preparación del medio de cultivo H ₂ S.....	11
2 Preparación de botellas y tubos de ensayo.....	14
3 Recolección y proceso de muestras.....	15
4 Interpretación y registro de resultados.....	19

Ensayo de Presencia-Ausencia (P/A)

1 Preparación del medio de cultivo P/A.....	20
2 Preparación de botellas de ensayo.....	21
3 Recolección y proceso de muestras.....	21
4 Interpretación y registro de resultados.....	23
5 Medio de cultivo con suplemento MUG.....	25

Otros procedimientos rutinarios

1 Prueba de control de calidad.....	26
2 Desechando el contenido de botellas de muestreo y de ensayo.....	27

Hojas para registro de resultados

1 Hojas de Campo.....	30
2 Registro de muestreo de agua para los poblados - Ensayos H ₂ S de 10 mL y 1 mL.....	31

3	Registro de muestreo de agua para los poblados - Ensayos H ₂ S de 100 mL y 20 mL.	32
4	Registro de muestreo de agua para los poblados - Ensayos P/A de 100 mL y 20 mL.	33

PARTE 2: ORGANIZANDO UN PROGRAMA LOCAL DE VIGILANCIA

Comunicación y Educación

1	Identificando a personas y grupos que deben ser informados	35
2	¿Cómo informar a la comunidad?.	36
3	Definiendo obligaciones y responsabilidades.	37
4	Cuando vaya a tomar una muestra.	38

	Identificando puntos de vigilancia rutinaria	39
--	---	-----------

Notificación de resultados y medidas correctivas

1	¿Qué hacer cuando una muestra sale positiva?	43
2	Usando apoyo y recursos de su región.	45

INTRODUCCIÓN

El Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID) del Canadá por varios años ha venido promoviendo la utilización de técnicas de vigilancia y control de la calidad del agua que permitan la participación de las comunidades para garantizar que el agua que consumen sea sana, libre de riesgos para la salud.

Una de las deficiencias más comunes en el manejo de sistemas de abastecimiento es la falta de una vigilancia rutinaria de calidad microbiológica del agua. Los recursos que se destinan a esta actividad son típicamente muy escasos. Siempre se da prioridad a satisfacer aspectos de dotación y suministro más constante a usuarios, descuidando aspectos de calidad. La prestación de servicios de vigilancia también ha tendido a estar centralizada y bajo el control exclusivo de las instituciones encargadas del suministro de agua y/o de Ministerios de Salud.

Falta de recursos y centralización caracterizan, pues, los esfuerzos de vigilancia en la mayoría de los países en vías de desarrollo. Éstos son obstáculos importantes que se hacen sentir más en poblados rurales y/o de difícil acceso. Aún cuando se realizan muestreos en estos sitios, se hacen de manera muy esporádica y pocas veces se devuelve la información a tiempo para que la comunidad pueda tomar medidas preventivas y/o correctivas en casos de contaminación.

Este módulo presenta técnicas apropiadas para el análisis de calidad microbiológica del agua que están al alcance de laboratorios descentralizados, y que por su fácil aplicación en el campo, también permiten una participación real y activa de las comunidades. Las técnicas aquí descritas han sido probadas a través de proyectos de investigación en varios continentes (Africa, Asia, América Latina). El módulo pretende servir como guía de referencia para participantes en un taller práctico sobre vigilancia y control de calidad del agua. Está dirigido tanto a personal de laboratorio, de instancias encargadas de la calidad de agua, como a representantes locales de juntas o comités administradores de agua a nivel de comunidad.

El módulo se divide en dos partes. La primera comienza con una revisión breve de conceptos básicos sobre calidad de agua y exámenes bacteriológicos. Las personas familiarizadas con el tema pueden saltar estas páginas. Seguido a esta revisión se presenta la información necesaria para preparar las botellas de ensayo, hacer muestreos, interpretar resultados, y disponer de manera segura los contenidos de muestras una vez que los análisis hayan terminado. La segunda parte cubre aspectos prácticos sobre la planeación y puesta en marcha de programas locales de vigilancia y control de calidad del agua.

PARTE 1: ENSAYOS PARA AGUA DE CONSUMO

Generalidades

1 Contaminantes microbiológicos

Las pruebas de calidad del agua que se describen en este módulo se usan para poder detectar la presencia de pequeños animales en el agua que bebemos que pueden ser dañinos para la salud. Antes de abordar este tema central, examinemos brevemente algunos conceptos o ideas importantes.

¿Qué son los microorganismos?

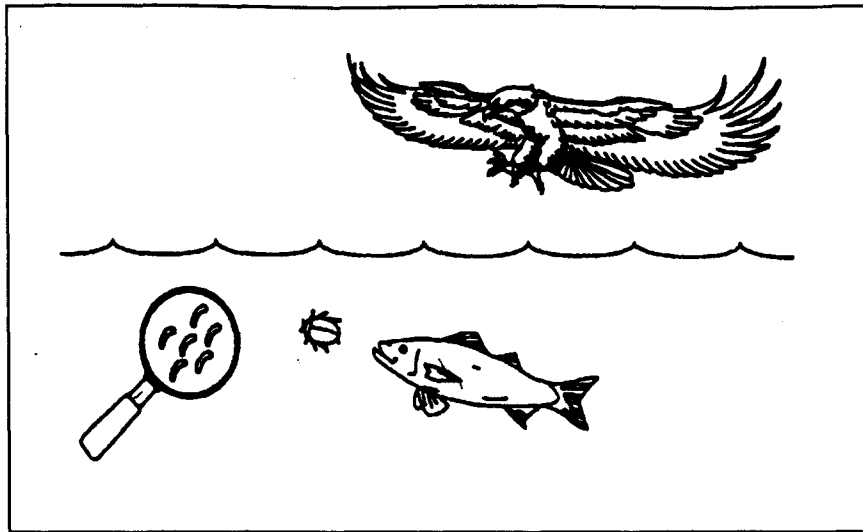
Los seres vivos en la tierra son numerosos y diversos. Alrededor de nosotros podemos ver sin esfuerzo plantas como flores y hierbas, y animales como perros, gallinas, e insectos. Pero existen otros seres vivos que son tan pequeños que no se pueden ver sin la ayuda de un lente de aumento (como un microscopio). Éstos se llaman *microorganismos*. Micro quiere decir pequeño. Hay varios tipos de microorganismos, como las *bacterias*, también conocidas como gérmenes o microbios. Las bacterias son minúsculas, la mayoría mide de 1 a 10 micrómetros (hay un millón de micrómetros en un metro de largo). También hay otros microorganismos aún más pequeños que las bacterias y se les llama virus.

Se cree que las bacterias fueron las primeras formas de vida que existieron en la tierra. Estos microorganismos están por todos lados - los hay en el suelo, el agua, el aire, y también en nuestros cuerpos (por ejemplo, en la piel, en la boca, el estómago, y el intestino grueso).

Los microorganismos tienen un papel importante en el Ciclo de Vida

- Muchos microorganismos descomponen materia orgánica. Ésto quiere decir que convierten a un animal muerto o una planta en tierra, energía (calor), y nutrientes.
- Muchos microorganismos son una fuente de alimentación para otros organismos más grandes en la cadena alimenticia.

Sin embargo, ciertos microorganismos pueden hacer daño a otros seres vivos, incluyendo al ser humano.



Fuente: "Water Quality Technician Training Program - Split Lake Cree First Nation, Participant Manual". V. Spence et al., Split Lake FN, Manitoba (1995), p.6.

Figura 1. Cadena alimenticia

Ciertos microorganismos pueden causar enfermedad

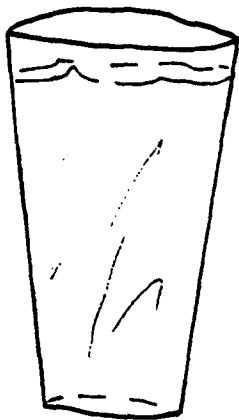
- A estos microorganismos se les llama *patógenos*.
- Microorganismos patógenos pueden vivir en agua no tratada.
- Agua clara que sabe y huele bien puede contener muchos tipos de patógenos.
- Personas que beben agua contaminada pueden contraer rápidamente enfermedades infecciosas tales como: diarreas, disentería, hepatitis A, cólera, o tifoidea.

Sin un examen microbiológico de calidad del agua, no podemos darnos cuenta de la presencia de microorganismos dañinos, y se corre el riesgo de facilitar la transmisión de enfermedades al suministrar el agua a los hogares. También tenemos que tener en cuenta que el agua que consumimos, no solo se puede contaminar en la fuente, pero también puede contaminarse después de ser recaudada y/o tratada, durante su transporte y almacenaje en el hogar. Por consiguiente, se hace necesario una vigilancia y control rutinario de su calidad desde la fuente hasta el vaso.

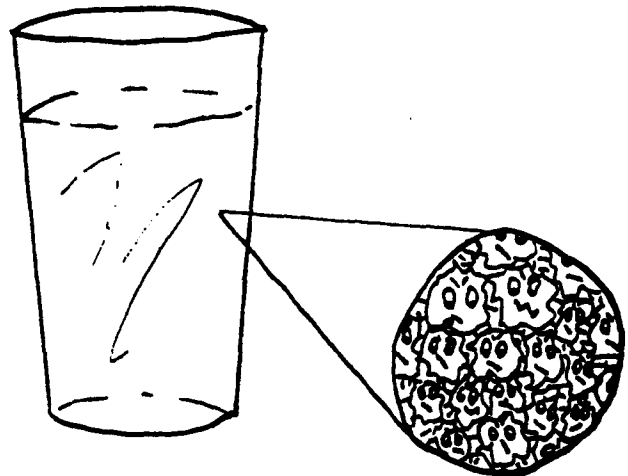
LOS MICROORGANISMOS SON TAN PEQUEÑOS
QUE NO SE VEN A SIMPLE VISTA.

¡AGUA QUE PARECE LIMPIA PUEDE ESTAR
CONTAMINADA!

Recuerde que:



Agua que parece limpia ...



!Puede estar contaminada!

Figura 2. Microorganismos en un vaso de agua

2 Descripción general de los ensayos bacteriológicos

Las pruebas (también llamadas ensayos) que se describen en este módulo *indican* la *presencia* o la *ausencia* de bacterias que ordinariamente están presentes en los intestinos de seres humanos y otros animales de sangre caliente, y que se evacúan en grandes cantidades con las excretas. La presencia de estas bacterias en una muestra de agua *indica* por lo tanto que el agua ha sido contaminada por excretas, y por consiguiente, que microorganismos patógenos también pueden estar presentes.

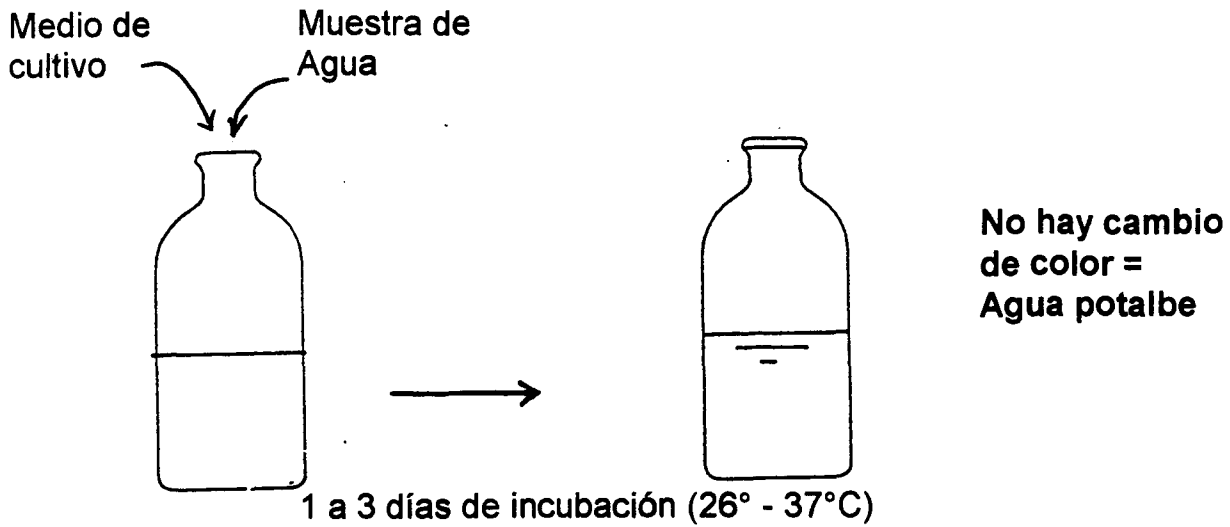
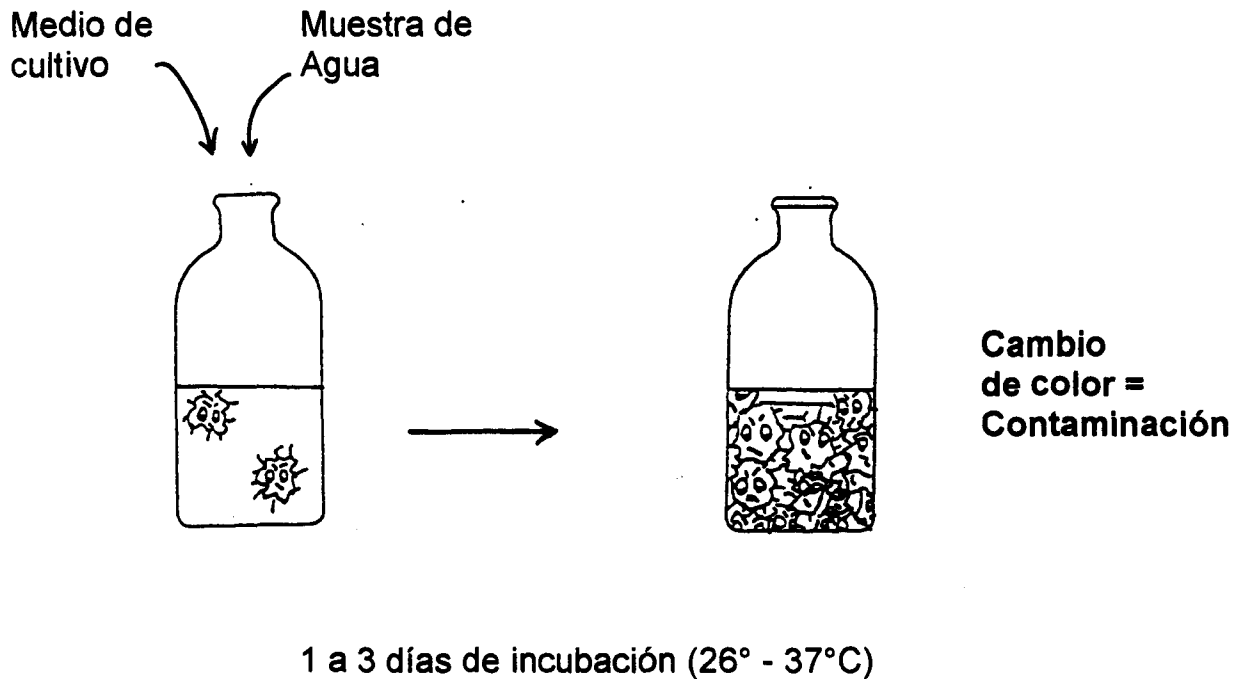
Los ensayos se basan en el crecimiento de estas *bacterias indicadoras*, durante un período de incubación (o crecimiento) determinado, y en botellas que contienen una muestra de agua mezclada con un medio de cultivo (ver figura 3). El medio de cultivo sirve como fuente de alimentación para las bacterias que se encuentran en la muestra de agua. Durante el tiempo de incubación, las bacterias se reproducen en gran número y provocan un cambio de color en los líquidos contenidos en las botellas, haciendo visible su presencia.

Estos ensayos se llaman *cualitativos* porque indican principalmente si las muestras de agua contienen bacterias indicadoras o no. Los ensayos no dan información directa sobre la cantidad o número de bacterias presentes en el agua. Sin embargo, como se describirá en las secciones correspondientes, el uso de diferentes volúmenes de muestra puede dar una indicación de grados generales de contaminación (alto, mediano o bajo).

3 Características sobresalientes

Dos tipos de pruebas se presentan en las secciones siguientes: **Ensayo de tira de papel indicador de Sulfuro de Hidrógeno (H₂S)** y **Ensayo de Presencia-Ausencia (P/A)**. Ambos ensayos funcionan como se describió anteriormente, sin embargo cada uno tiene características particulares que los hacen más o menos convenientes en cada situación.

El ensayo H₂S: Este ensayo es de muy bajo costo. Si las botellas o tubos de ensayo son recirculados, los costos de suministros y reactivos pueden ser tan bajos como US\$0.05-0.12 por prueba, dependiendo de la cantidad de tiras de papel que se preparen por lote y el volumen de la muestra que se analice. Esta prueba es muy conveniente para poblados aislados, dado que las tiras de papel pueden fácilmente transportarse y almacenarse (en condiciones secas y sin refrigeración) por más de un año. La desventaja principal de este ensayo es que no pueden modificarse para detectar el *E.coli*, el cual es un tipo específico de bacteria que se está volviendo rápidamente el indicador estándar de calidad bacteriológica del agua en América del Norte.

Caso 1: Agua potable**Caso 2: Agua contaminada con bacterias****Figura 3. Ensayo bacteriológico de una muestra de agua**

El ensayo P/A: En su forma más común, este ensayo se ha vuelto muy popular en América del Norte. Se ha comprobado ser más sensible que la técnica de filtración por membrana para coliformes fecales cuando las muestras se incuban por más de 24 horas¹. Pero como prueba cualitativa, no proporciona información sobre cantidades precisas de bacterias en el agua. El costo de reactivos puede variar entre los US\$0.30-0.60 por prueba, dependiendo de las cantidades que se preparen. Este ensayo si puede ser modificado para poder confirmar la presencia de *E.coli* en muestras contaminadas. Para esto se añade un reactivo particular, como se describe en la sección correspondiente, que aumenta el costo de reactivos a US\$1.0 por muestra. Aunque las botellas ya preparadas se pueden también almacenar por más de un año sin refrigeración, su forma líquida hace la prueba inconveniente para transportar que con el ensayo H₂S.

Alternativas de abasto: Hay varias versiones comerciales disponibles en el mercado norteamericano para el ensayo P/A, en forma "lista-para-uso". El medio de cultivo se vende también ya pre-mezclado en polvo. Este no es el caso para el ensayo H₂S, el cual se necesita preparar desde sus ingredientes básicos. La preparación de botellas o tubos de ensayo "listos para uso" requiere de un trabajo de laboratorio y de cierto equipo. El establecimiento de un laboratorio local puede ser una opción si el número de muestras es suficientemente grande para justificar las inversiones de capital necesarias. Sin embargo, dado que ambas pruebas pueden ser almacenadas sin refrigeración por largos plazos, es posible su preparación en laboratorios provinciales o centrales, y su distribución periódica a poblados apartados (en forma trimestral o semestral). El equipo requerido es también mínimo, lo que permite contemplar también la alternativa de preparar los medios de cultivo y botellas de ensayo en laboratorios de biología de escuelas secundarias rurales. Esto no solo facilita una fuente de abasto más cercano al lugar de uso, pero puede también ser una manera de involucrar más a escuelas rurales y estudiantes en estudios y actividades que sean de relevancia a su región.

Las secciones siguientes describen en detalle todos los pasos necesarios para efectuar ambos ensayos. Estos incluyen:

- Preparación de medios de cultivo
- Preparación de botellas o tubos de ensayo
- Recolección y proceso de muestras
- Interpretación y registro de resultados
- Control de calidad
- Disposición final del contenido de los ensayos

¹ Ver: "Guidance Document for Sample Collection and the Use of Commercial Presence-Absence (P-A) Tests for the Bacteriological Analysis of Drinking Water". Laboratory Services Branch, Ministry of Environment and Energy, Ontario, Canada (January 1997), p.7.

Seguridad e higiene en trabajos microbiológicos

1 ¿Por qué es importante mantener un nivel alto de higiene?

Siempre existe la posibilidad de encontrar microorganismos patógenos (causantes de enfermedades) en el trabajo rutinario que requieren los exámenes microbiológicos del agua. Por ejemplo, los medios de cultivo utilizados en los análisis, aunque no están diseñados para favorecer la reproducción de microorganismos patógenos, sí pueden permitir su crecimiento. Si estos microorganismos dañinos están presentes en las muestras de agua, pueden llegar a multiplicarse en grandes cantidades durante el período de incubación dentro de las botellas o tubos de ensayo. Por lo tanto es necesario tener mucho cuidado en el manejo y disposición final de los recipientes que se utilizan.

Las precauciones siguientes son esenciales, no solo para evitar la contaminación de las muestras y de los medios de cultivo, sino también para evitar los peligros de infección para las personas que efectúan los exámenes microbiológicos.

- Mantenga cortas las uñas de las manos; utilice, de ser necesario, protección para el pelo y la barba.
- Lávese las manos con jabón y agua tibia antes y después de trabajar con pruebas microbiológicas y también después de ir al baño.
- No toque su boca o sus ojos mientras trabaja con las botellas de ensayo.
- Si tose o estornuda, cúbrase la boca. Lávese y seque las manos antes de seguir trabajando con los exámenes microbiológicos.
- Mantenga su ropa de trabajo limpia.
- Si se siente enfermo, no debe trabajar con los ensayos.
- Si es posible, use guantes de hule mientras limpia las botellas de ensayo.
- No coma, beba o fume en el área de trabajo.

Estas precauciones ayudarán a prevenir la contaminación de las muestras de agua durante su análisis. Se debe asegurar que si los resultados de un ensayo indican contaminación de la muestra, ésta provenga del sitio de muestreo y no se deba al mal manejo de la muestra misma. Estas precauciones también ayudarán a prevenir una posible infección por el manejo no adecuado de muestras de agua contaminada. La forma de infección más común es por el contacto "mano a boca" o "mano a ojo", así que es muy importante no tocar su boca ni sus ojos mientras trabaja con las botellas de ensayo, y lavarse las manos al terminar de trabajar con ellas.

2 Limpieza del área de trabajo

- Debe limpiar y sanear las superficies de trabajo *antes de y después de* cada uso.
- Limpiando la superficie con detergente y agua se quita el polvo, pero no quita todos los gérmenes. Es necesario desinfectar el área de trabajo. Lejía o cloro (desinfectante casero, 5.25 % de cloro disponible) mezclado con agua es una solución barata para desinfectar superficies después de ser lavadas.
- La solución de cloro debe dejarse sobre la superficie por lo menos 30 segundos para que desinfecte bien. Luego, seque el área con una toalla de papel limpia. Es más efectivo preparar la solución de cloro cada día que se necesite.

SOLUCIÓN DE LIMPIEZA

En un recipiente limpio se pone la lejía (cloro doméstico) y enseguida se mezcla con agua de la siguiente manera:

LEJÍA		AGUA
5 ml (1 cucharadita)	y	½ litro (2 tazas)
15 ml (1 cucharada)	y	1½ litros (6 tazas)

3 En caso de accidentes o derrames

Si se derrama algún líquido o se rompe algún frasco o botella, límpielo de inmediato.

- Debe poner toda la cristalería que se rompa en un basurero cubierto que contenga una bolsa de plástico adentro.
- Si el derrame o la rotura de botellas son de una muestra contaminada (o posiblemente contaminada), desinfecte el área con una solución de cloro.
- Use guantes de plástico durante la limpieza.
- Es importante no tocar la boca ni los ojos con sus manos.
- Si se hace daño, vea a una enfermera o doctor.

Recolección y manejo de muestras

Para recoger muestras, use solamente botellas o tubos de vidrio o de plástico que hayan sido previamente esterilizados. Tenga mucho cuidado de no tocar la superficie interior de las tapas y protéjalas para que estas no sean contaminadas mientras se llenan los tubos o botellas de ensayo con la muestra de agua. Si la superficie interior de la tapa o la boca de la botella se tocan accidentalmente con la mano, el recipiente de muestreo puede contaminarse. La tapa no debe ponerse en ningún lugar mientras se toma la muestra porque esto también puede resultar en su contaminación. Retenga la tapa con las yemas de los dedos durante esta operación.

1 Muestras con residuos de cloro

Recolección: Si se conoce o sospecha que la muestra de agua contiene un residuo de cloro, esta debe ser recogida en una **botella de muestreo** que contenga tiosulfato de sodio para así neutralizar el cloro y eliminar sus propiedades desinfectantes. En este caso se usa una botella esterilizada (de 120-150 ml de volumen) conteniendo 0,1 ml de solución de tiosulfato de sodio al 3% ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). La solución de tiosulfato debe ser añadida antes de esterilizar la botella de recolección de muestras. Esta botella se puede esterilizar en autoclave (a 115°C por 15 minutos), olla de presión (15-20 minutos) o por calor seco (160° por una hora).

Transporte: En general, las muestras deben ser transportadas lo más pronto posible al laboratorio o lugar donde se harán los exámenes.

- Si es probable una demora, las muestras deben ser colocadas en un recipiente fresco y de material aislante que contenga hielo en proceso de derretirse y ser procesada no más allá de 30 horas después de haber sido recolectadas.
- Muestras no-refrigeradas deben ser examinadas tan pronto como sea posible, y dentro de las 6 horas después de haber sido recolectadas.
- Las muestras nunca deben ser congeladas.
- Durante su transporte, las muestras deben ser protegidas de los rayos de sol.

2 Muestras de agua cruda (sin tratamiento)

Si la fuente de agua no ha sido clorada, la muestra puede ser recogida directamente en las **botellas o tubos de ensayo** preparados con anterioridad. En este caso, no guarde las muestras en el refrigerador, ni en hielo. Al contrario, incube las lo más pronto posible, a una temperatura entre los 26° y los 37°C; la temperatura preferida es de 35°C. Durante su transporte, asegurese que las muestras estén protegidas de los rayos de sol.

Ensayo de tira de papel indicador de Sulfuro de Hidrógeno (H₂S)

En 1975, Allen y Geldreich demostraron que la presencia de bacterias coliformes en el agua estaba asociada con organismos que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Más tarde, en 1982, Manja et al. presentaron un reporte sobre el uso de un método de tira de papel indicador para detectar la contaminación bacteriológica de aguas potables. En este estudio, ellos confirmaron que la presencia del H₂S en las muestras de ensayo era indicativo de la presencia de coliformes. Diversos estudios de campo en la India, las Filipinas, las Islas Salomón, Indonesia, Hawái, Perú, Chile y Brasil han corroborado que el procedimiento funciona adecuadamente.

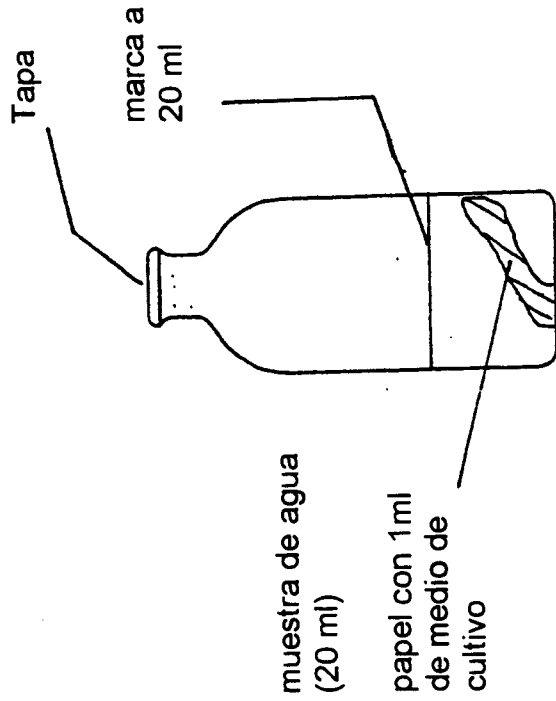
Con esta técnica, tiras de papel filtro o de cualquier otro papel absorbente no tóxico se impregnan con una mezcla química simple (medio de cultivo) dentro de botellas o tubos de ensayo que tengan tapas resistentes al calor. Los recipientes con su tira de papel se secan entonces bajo condiciones estériles a 160°C. Para hacer un análisis de agua, la muestra se agrega al recipiente de ensayo y se incuba a 26-37°C por 3 días. Un ennegrecimiento de la tira de papel durante este periodo de incubación indica la presencia de una o más bacterias indicadoras en la muestra; en nuestra experiencia, estas son por lo general enterobacterias (coliformes y/o enterococos).

El ensayo H₂S también permite estimar diferentes grados de contaminación al usar distintos volúmenes de muestras de agua, con cantidades mayores o menores de medio de cultivo impregnadas en la tira de papel. La siguiente tabla describe las variantes más comunes.

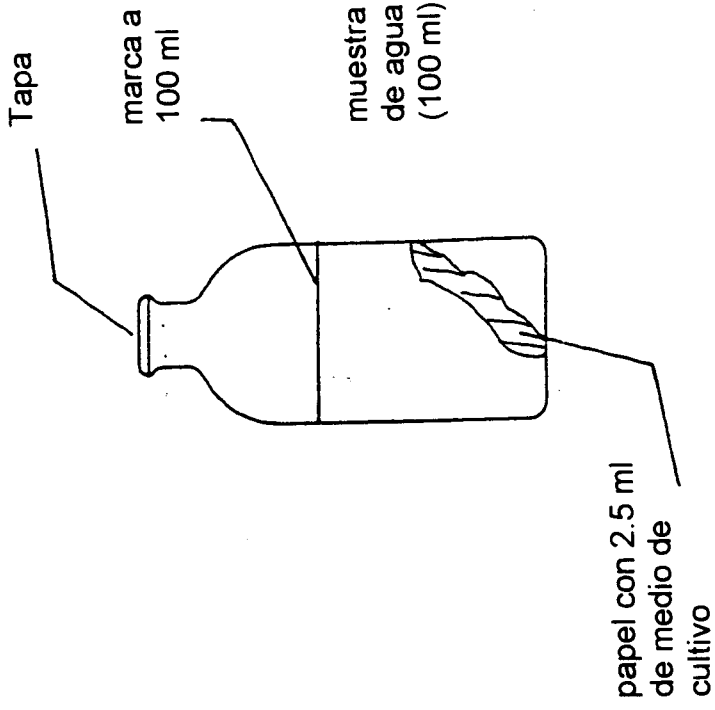
Tabla 1. Ensayo H₂S: para estimar grados de contaminación

Volumen de muestra	Volumen del medio de cultivo	Uso recomendado	Grado de contaminación indicado por el ennegrecimiento de la tira de papel (cantidades aprox. de bacterias por 100 ml)
1 ml	0.5 ml	aguas sin tratamiento; sospecha de niveles altos de contaminación	100 o más bacterias indicadoras
10 ml	0.5 ml	aguas sin tratamiento	10 o más bacterias indicadoras
20 ml	1 ml	aguas tratadas	5 o más bacterias indicadoras
100 ml	2.5 ml	aguas tratadas (cloración)	1 o más bacterias indicadoras

Ensayo H₂S - Método tradicional



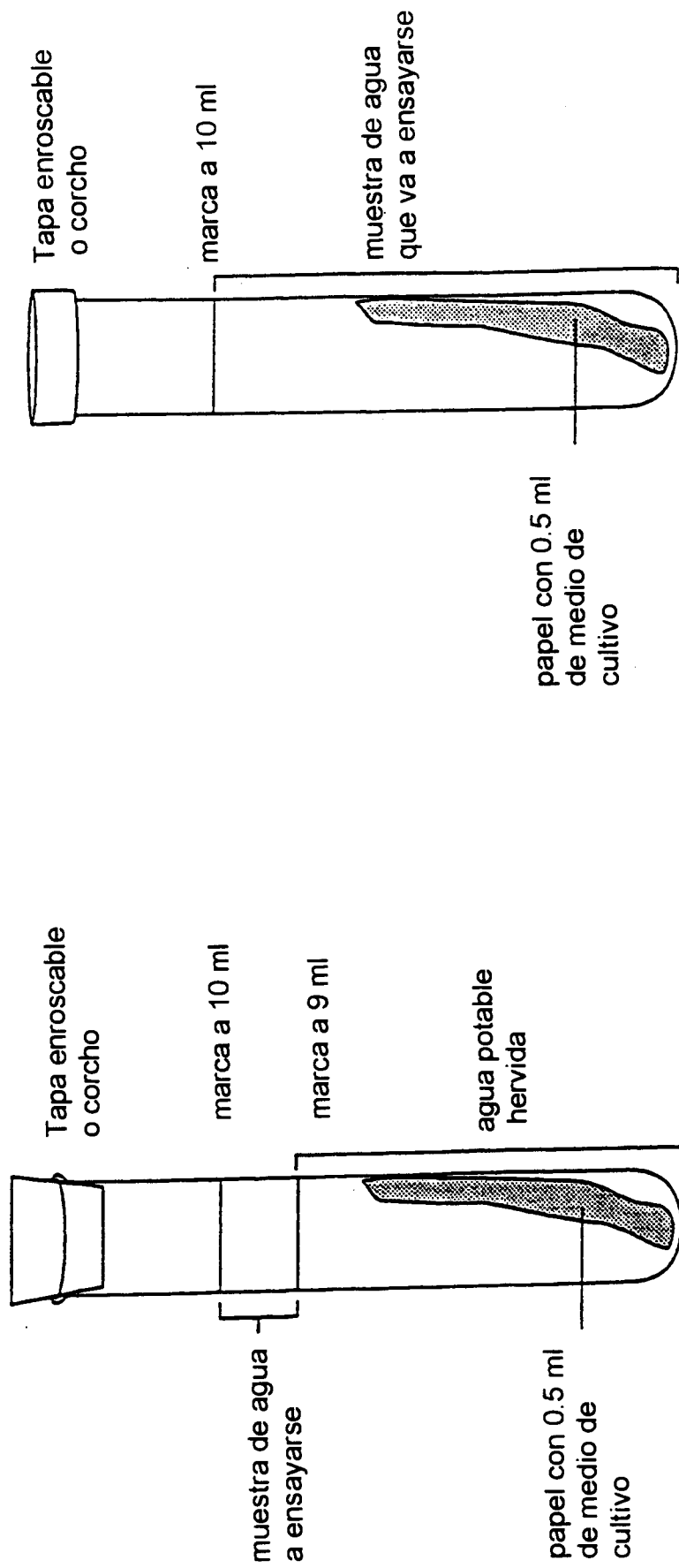
20 ml positivo = 5⁺ bacterias ind./100mL
20 ml negativo = menos de 5 bacterias ind./100mL



100 ml positivo = 1⁺ bacterias ind./100 ml
100 ml negativo = menos de 1 bacteria ind./100 ml

Figura 4

Ensayo H₂S - Método de volúmenes pequeños



10 ml positivo = 10⁺ bacterias ind./100 ml
 10 ml negativo = menos de 10 bacterias ind./100 ml

1 ml positivo = 100⁺ bacterias ind./100 ml
 1 ml negativo = menos de 100 bacterias ind./100 ml

Figura 5

1 Preparación del medio de cultivo H₂S

El medio de cultivo concentrado que se utiliza en el ensayo se prepara a base de los siguientes ingredientes. Éstos se disuelven agitándose en agua destilada o en agua de llave (grifo) de clorinada.

Medio de cultivo de H₂S:

Peptona bacteriológica	40,0 g
Fosfato dipotásico de hidrógeno	3,0 g
Citrato férrico de amonio	1,50 g
Tiosulfato de sodio	2,00 g
Teepol	2,0 ml
Agua, destilada o hervida	100,0 ml

2 Preparación de botellas y tubos de ensayo

A. Muestras de 100 ml y 20 ml

- Se puede emplear cualquier tipo de botella de vidrio limpia con un volumen de 50 mL a 200 mL, y que tenga una tapa resistente al calor.
- Tomando papel de tipo Kleenex^{MR} o papel que no sea tóxico, o filtros de papel Whattman^{MR}, etc, coloque suficiente cantidad en cada botella para que el papel pueda absorber fácilmente 1 ml (ensayo de 20 ml) o 2,5 ml (ensayo de 100 ml) del medio de cultivo.
- Las botellas pueden entonces ser tapadas (dejando las tapas sin apretar) y colocadas en el autoclave por 15 minutos a 115°C. Luego, con las tapas aún ligeramente sueltas, colóquelas a secar en un horno a 55°C. Alternativamente, las botellas tapadas de manera algo suelta pueden ser colocadas en un horno de aire caliente a 160°C por 60 minutos para esterilizarse y secarse.
- Una vez esterilizadas, y cuando las botellas se hayan enfriado, ajuste bien las tapas y marque las botellas con una línea indicando el volumen apropiado, como por ejemplo 20 ml o 100 ml. Almacene las botellas en un lugar limpio y oscuro. Las botellas de ensayo pueden almacenarse por más de 6 meses.

B. Muestras de 10 ml y de 1 ml

- Use tubos de ensayo de 16x150 mm, con tapas enroscables y resistentes al calor.
- Para tubos que se van a emplear en ensayos de muestras de agua de 10 ml, añada 10 ml de agua a un tubo de ensayo y, con un plumón marcador permanente, marque el tubo al máximo nivel del agua añadida. Empleando este tubo marcado como guía, prepare tantos tubos de ensayo como se necesiten, marcándolos con una línea al nivel de 10 ml.
- Para tubos que se van a emplear en ensayos de muestras de agua de 1 ml, añada 9 ml de agua a un tubo y, con un plumón marcador permanente, marque este tubo al máximo nivel del agua añadida. Luego, añadiendo 1 ml más de agua a los 9 ml ya presentes, marque este nuevo nivel total (es decir, al nivel de 10 ml). Empleando este tubo con marcas a los 9 ml y a los 10 ml como guía, prepare tantos tubos como se vayan a necesitar.
- Tomando toallas resistentes de papel no tóxico, o filtros de papel Whattman^{MR} #3, etc, coloque suficiente cantidad en cada tubo de ensayo para que el papel pueda absorber fácilmente 0.5 ml de la solución química (medio de cultivo).
- Los tubos entonces pueden ser tapados (sin apretar las tapas) y colocados en el autoclave por 15 minutos a 115°C. Luego, con las tapas aún ligeramente sueltas, colóquelos a secar en un horno a 55°C. Alternativamente, los tubos tapados de manera algo suelta pueden ser colocados en un horno de aire caliente a 160°C por 60 minutos para esterilizarse y secarse.
- Una vez esterilizados los tubos y cuando se hayan enfriado, ajuste bien las tapas y almacene en un lugar limpio y oscuro. Los tubos de ensayo pueden almacenarse por más de 6 meses.

3 Recolección y proceso de muestras

- En situaciones donde la contaminación del agua por bacterias es poco probable, como en muestras de agua que provienen de un sistema que funciona adecuadamente y el cual incluye cloración, se utilizan dos volúmenes grandes de muestra (20 ml y/o 100 ml) en botellas de ensayo apropiadamente marcadas (ver figura 4).
- Para aguas no tratadas, en las que se sospechan altos niveles de contaminación, se utilizan dos volúmenes pequeños de muestra (10 y 1 ml) en tubos de ensayo apropiadamente marcados (ver figura 5).

A. Toma de muestras

- Las botellas o tubos no deben abrirse sino inmediatamente antes de tomar la muestra de agua.
- Si la muestra es de agua de llave o grifo y la fuente de **agua no ha sido clorada**, la muestra puede ser recolectada directamente en las botellas o tubos de ensayo preparados anteriormente.

Abra la llave y deje correr libremente el agua por unos 30 segundos. Luego coloque la botella o tubo con la tira de papel indicador debajo de la llave y llene con agua hasta la marca de volumen apropiada. Tape la botella, agítela bien e incube, lo más pronto posible.

- Los ensayos de 1 ml requieren un paso más de preparación antes de tomar una muestra dado lo pequeño del volumen que se recoge. Se utiliza en este caso agua potable local hervida y cuidadosamente, por medio de una técnica estéril, se añade el agua hervida hasta alcanzar la marca de los 9 ml. Enseguida se añade con cuidado la muestra de agua hasta alcanzar la marca de 10 ml.
- Si el agua que se va a analizar está en un recipiente (como un balde o tanque), o si proviene de una fuente natural de agua corriente, utilice para recolectarla el mismo utensilio de recolección que los dueños de casa utilizan normalmente, enjuagándolo al menos tres veces en el agua de donde se tomará la muestra. Vierta cuidadosamente con este utensilio ya enjuagado, el volumen requerido de muestra en las botellas o tubos de ensayo, ponga la tapa, agite e incube por tres días.

Para simplificar la transferencia de la muestra del recipiente grande a los tubos de 10 ml y 1 ml, vierta agua del recipiente a una taza o vaso que haya sido esterilizado llenándolo con agua hirviendo y dejando esta agua reposar en él por 2 o 3 minutos. Tire el agua hervida y añada la muestra de agua, siguiendo a partir de allí, el mismo procedimiento descrito arriba.

- Si la muestra que se ha de recoger proviene de una **fuentes de agua clorada**, tome la muestra en una botella esterilizada (de 120 a 150 ml de volumen) conteniendo 0,1 ml de una solución de tiosulfato de sodio al 3% ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). De ser posible, después de tomar la muestra, guarde la botella en hielo o refrigérela hasta que la muestra de agua pueda ser procesada.

Para procesar, utilice un cilindro graduado y esterilizado para medir el volumen de agua requerido antes de vertirlo en la botella con la tira de papel, o bien vierta el agua con cuidado directamente en la botella que contiene el papel indicador hasta que alcance la marca adecuada. En todo caso, antes de verter el agua, deberá flamear el cuello o boca de la botella de recolección de muestras. Ponga la tapa a la botella, agítela bien e incube, lo más pronto posible, por tres días.

B. Rotulación de botellas y tubos

- Las botellas y tubos de ensayo deben ser rotulados inmediatamente después de tomar cada muestra para que estas puedan ser identificadas correctamente. En el rótulo deberá anotarse la siguiente información:

Número de identificación

Origen de la muestra (lugar, tipo de instalación, etc)

Volumen de muestra

Fecha y hora de la toma de muestra

- Esta información deberá ser también anotada en una hoja de campo.

C. Preservación e incubación de muestras

- Cuando las muestras son recolectadas directamente en las botellas o tubos de ensayo (con tira de papel), estas deben ser incubadas lo más pronto posible, a una temperatura entre los 26° y los 37°C; la temperatura preferida es de 35°C. Se puede usar una incubadora económica como la que se presenta en la figura 6. La incubación debe continuar por un máximo de tres días.
- Cuando las muestras son recolectadas en botellas esterilizadas con tiosulfato de sodio (sin tira de papel), se deben guardar en hielo o ser refrigeradas hasta que puedan ser procesadas, como se describió anteriormente.

Incubadora barata de campo utilizando un cofre aislante para hielo

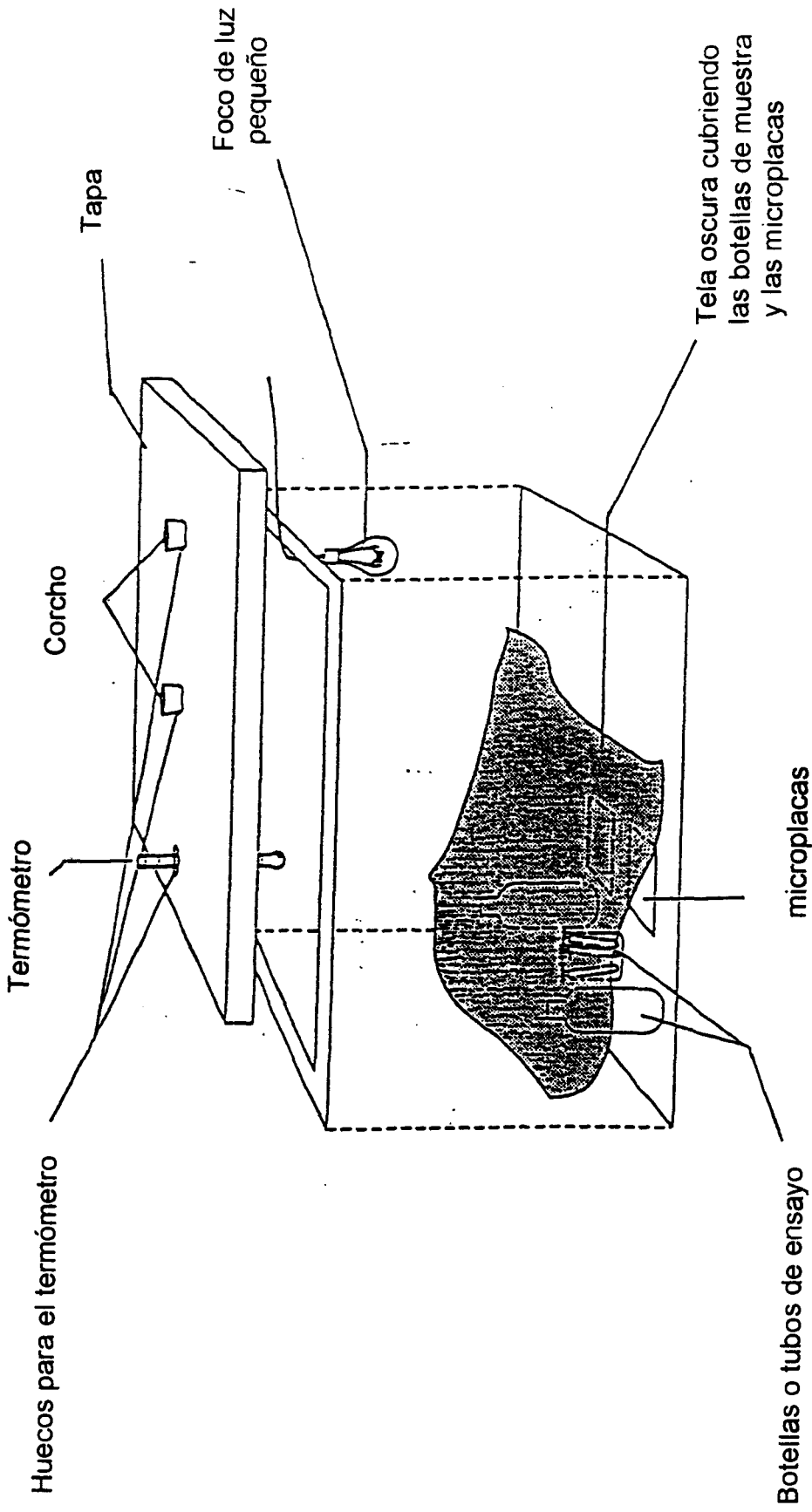


Figura 6

4 Interpretación y registro de resultados

- Inspeccione diariamente las muestras hasta por tres días. El ensayo se considera positivo si se presenta cualquier ennegrecimiento de la tira de papel indicador que se encuentra dentro del tubo o botella de ensayo. La tabla siguiente se puede usar como guía para la interpretación de resultados. Anote los resultados y sus observaciones en la hoja de datos (ver sección correspondiente).

Tabla 2. Ensayo H₂S: Interpretación de resultados

Volumen de muestra	Resultado positivo: papel ennegrecido (cantidades de bacterias por 100 ml)	Observación
1 ml	100 o más bacterias indicadoras	Probablemente más de 200 bacterias/ 100 ml si el ennegrecimiento ocurre rápida e intensamente (menos de 18 horas)
10 ml	10 o más bacterias indicadoras	Probablemente más de 100 bacterias / 100 ml si el ennegrecimiento ocurre rápida e intensamente (menos de 18 horas)
20 ml	5 o más bacterias indicadoras	Probablemente más de 50 bacterias / 100 ml si el ennegrecimiento ocurre rápida e intensamente (menos de 24 horas)
100 ml	1 o más bacterias indicadoras	Probablemente más de 10 bacterias / 100 ml si el ennegrecimiento ocurre rápida e intensamente (menos de 24 horas)

- Cuando se emplee agua hervida para preparar el tubo de ensayo de 1 ml, un "**control negativo**" deberá ser también incubado con las muestras. Este es un tubo de ensayo al cual se añade **solamente 10 ml del agua hervida** que se usó para las muestras de 1 ml. Se deberá utilizar un "*control*" (o tubo de 10 ml de agua hervida) por cada nueva fuente de agua hervida que se utilice. Si el "*control*" da un resultado positivo (coloración negra), esto indica que las muestras de 1 ml a las cuales se añadió el agua hervida no pueden considerarse válidas. También puede indicar un procedimiento inadecuado que resulta en la contaminación de los tubos de ensayo. En estos casos, repita cuidadosamente el muestreo de agua y su examen.

Ensayo de Presencia-Ausencia (P/A)

En 1968, el Dr. J. Clark, trabajando con la Comisión de Recursos Hidráulicos de Ontario (Canadá), desarrolló un ensayo de Presencia-Ausencia (P/A), utilizando un caldo MacConkey modificado para verificar la calidad de los suministros de agua potable. El ensayo P/A es esencialmente un procedimiento de gran volumen en el que 20 ml o 100 ml de muestra de agua son inoculados en botellas que contienen el medio de cultivo de Presencia-Ausencia e incubados hasta por tres días a 35°C. Diversas investigaciones han demostrado que este ensayo funciona a temperaturas que varían entre los 27° y los 37°C.

Si el color de la mezcla (muestra de agua y medio de cultivo) en la botella cambia de un morado a amarillo, el resultado se considera positivo, indicando la presencia de una o más bacterias indicadoras. Por lo general estas bacterias incluyen coliformes, coliformes fecales, y/o *E. coli*. El ensayo P/A también puede detectar la presencia de estreptococos fecales, estafilococos, *Pseudomonas* y *Clostridia*. Muchas de estas bacterias son agentes patógenos oportunistas y su presencia en agua que ha sido tratada se considera como indicación de deterioro del sistema de suministro.

1 Preparación del medio de cultivo P/A

- El medio de cultivo utilizado en este ensayo se prepara a base de los siguientes ingredientes:

Medio de cultivo de Presencia-Ausencia (P/A):

Extracto de carne Bacto	3,0 g
Peptona	5,0 g
Lactosa	7,46 g
Triptosa	9,83 g
Fosfato de potasio dibásico	1,35 g
Fosfato de potasio monobásico	1,35 g
Cloruro de sodio	2,46 g
Laurilo sulfato de sodio	0,05 g
Cresol púrpura Brom	0,0085 g

El medio se utiliza en forma de concentración triple. Por lo tanto, se pesa una cantidad tres veces mayor a las cantidades de ingredientes arriba mencionadas (dando un total de 91,5 gramos) y se añade a un litro de agua destilada o de agua declorinada de llave (o grifo). El agua y los ingredientes químicos se entibian suavemente para disolver (casi al punto de ebullición).

2 Preparación de botellas de ensayo

- Se puede utilizar cualquier tipo de botella de vidrio limpia, con un volumen de 50 a 200 ml, y con una tapa resistente al calor.
- Dispense 10 ml del caldo P/A a las botellas que serán utilizadas para los ensayos de muestras de agua de 20 ml, y 50 ml del caldo a las botellas que se utilizarán para los ensayos de la muestras de agua de 100 ml.
- Coloque las tapas en las botellas dejándolas algo sueltas y esterilíselas en una autoclave a 115°C por 15 minutos.
- Después de la autoclave, y cuando las botellas se hayan enfriado, ajuste bien las tapas y almacene en un lugar fresco y oscuro. Las botellas de ensayo pueden almacenarse hasta por un año.
- Antes de su almacenamiento efectué las marcas apropiadas de volumen en estas botellas: a un nivel de 30 ml para las muestras de 20 ml (10 ml de caldo P/A, más 20 ml de muestra); y a un nivel de 150 ml para las muestras de 100 ml (50 ml de caldo P/A, más 100 ml de muestra). Utilice como guía otras botellas ya marcadas, es decir, botellas similares conteniendo 30 ml de líquido y conteniendo 150 ml de líquido, respectivamente.

3 Recolección y proceso de muestras

- Para cada muestra de agua que se va a analizar, utilice una botella de ensayo de 20 ml (botella con marca a 30 ml) y una botella de ensayo de 100 ml (botella con marca a 150 ml). Ver figura 7.

A. Toma de muestras

- Las botellas o tubos no deben abrirse sino inmediatamente antes de tomar la muestra de agua.
- Si la muestra es de agua de llave o grifo y la fuente de **agua no ha sido clorada**, la muestra puede ser tomada directamente en las botellas adecuadas que contienen el medio de cultivo P/A.

Abra la llave y deje correr libremente el agua por unos 30 segundos. Luego coloque la botella con el medio de cultivo P/A debajo de la llave y llene con agua hasta la marca apropiada. Tape la botella, agítela bien e incube, lo más pronto posible por tres días.

- Si el agua que se va a analizar está en un recipiente (como un balde o tanque), o si proviene de una fuente natural de agua corriente, utilice para recolectarla el mismo utensilio de recolección que los dueños de casa utilizan normalmente, enjuagándolo al menos tres veces en el agua de donde se tomará la muestra. Vierta cuidadosamente con este utensilio ya enjuagado, el volumen requerido de muestra en la botellas de ensayo (con el medio P/A), ponga la tapa, agite e incube por tres días.
- Si la muestra que se ha de recoger proviene de una **fuentes de agua clorada**, tome la muestra en una botella esterilizada (de 120 a 150 ml de volumen) conteniendo 0,1 ml de una solución de tiosulfato de sodio al 3% ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

De ser posible, después de tomar la muestra, guarde la botella en hielo o refrigérela hasta que la muestra de agua pueda ser procesada.

Para procesar, utilice un cilindro graduado y esterilizado para medir el volumen de agua requerido antes de verterlo en la botella de ensayo adecuada, o bien vierta el agua con cuidado directamente en la botella de ensayo con medio de cultivo P/A hasta que alcance la marca deseada (30 ml o 150 ml). En todo caso, antes de verter el agua, deberá flamear el cuello o boca de la botella de recolección de muestras. Ponga la tapa a la botella, agítela bien e incube, lo más pronto posible, por tres días.

B. Rotulación de botellas y tubos

- Las botellas deben ser rotuladas inmediatamente después de tomar cada muestra para que estas puedan ser identificadas correctamente. En el rótulo deberá anotarse la siguiente información:

Número de identificación
Origen de la muestra (lugar, tipo de instalación, etc)
Volumen de la muestra
Fecha y hora de la toma de muestra

- Esta información deberá ser también anotada en una hoja de campo.

C. Preservación e incubación de muestras

- Cuando las muestras son recolectadas directamente en las botellas de ensayo con medio P/A, estas deben ser incubadas lo más pronto posible, a una temperatura entre los 26° y los 37°C; la temperatura preferida es de 35°C. Se puede usar una incubadora económica como la que se presenta en la figura 6. La incubación debe continuar por un máximo de tres días.

- Cuando las muestras son recolectadas en botellas esterilizadas con tiosulfato de sodio (sin tira de papel), se deben guardar en hielo o ser refrigeradas hasta que puedan ser procesadas, como se describió anteriormente.

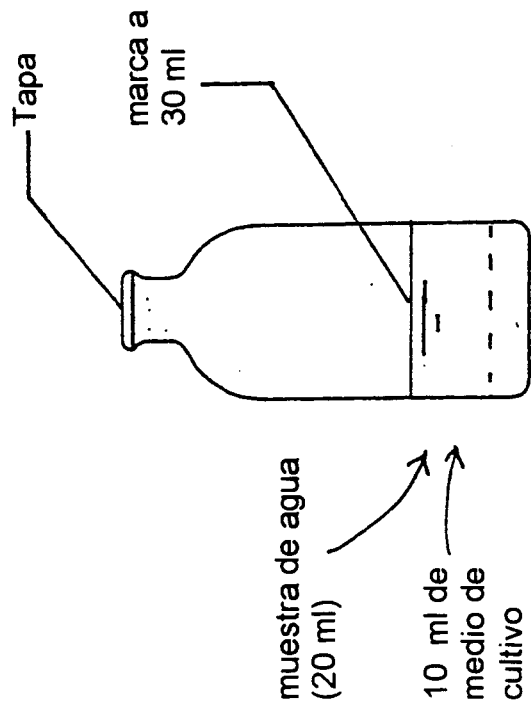
4 Interpretación y registro de resultados

- Inspeccione diariamente las muestras por tres días. **Si el medio de cultivo cambia del color púrpura original al amarillo, esto es una indicación que está presente al menos un tipo bacteria indicadora.** Sin embargo, si se agita este medio de cultivo amarillo y se observan burbujas de gas, esto indica muy probablemente la presencia de coliformes o coliformes fecales en la botella. La presencia de ácido (color amarillo) no excluye la presencia de otras bacterias indicadoras como los estreptococos, la *Clostridia*, o los estafilococos, o la presencia de bacterias patógenas. La tabla siguiente se puede usar como guía para la interpretación de resultados. Anote los resultados en la hoja de datos.

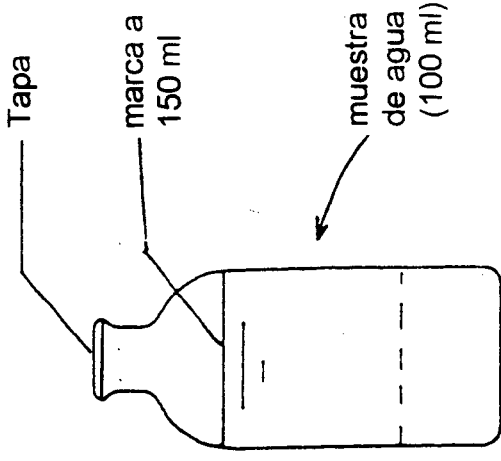
Tabla 3. Ensayo P/A: Interpretación de resultados

Volumen de muestra	Resultado positivo: color amarillo (cantidades de bacterias por 100 ml)	Observación
20 ml	5 o más bacterias indicadoras	Probable presencia de coliformes o coliformes fecales si se observan burbujas de gas al agitar la botella de ensayo
100 ml	1 o más bacterias indicadoras	Probable presencia de coliformes o coliformes fecales si se observan burbujas de gas al agitar la botella de ensayo

Ensayo Cualitativo P/A - Método tradicional



20 ml positivo = 5⁺ bacterias ind./100 ml
20 ml negativo = menos de 5 bacterias ind./100 ml



50 ml de medio de cultivo

100 ml positivo = 1⁺ bacterias ind./100 ml
100ml negativo = menos de 1 bacteria ind./100 ml

Figura 7

5 Medio de cultivo con suplemento MUG

El ensayo P/A indica la presencia o la ausencia de microorganismos que con gran probabilidad provienen de las excretas de animales de sangre caliente, incluido el ser humano. Si se requiere corroborar que los microorganismos son de origen fecal, se puede modificar el ensayo P/A, haciéndolo específico para detectar la presencia de *E.coli*. Este es un tipo de bacteria (también clasificada como coliforme fecal) que se encuentra en el intestino de seres humanos y animales, y se evacúa en grandes cantidades con las excretas. La modificación del ensayo P/A se hace añadiendo un compuesto llamado MUG al medio de cultivo P/A original. Fuera de esto, se sigue el mismo procedimiento de muestreo y examen, excepto que se requiere de una lámpara de luz ultravioleta especial para examinar las muestras en incubación.

A. Preparación de las botellas de ensayo (trabajo de laboratorio):

Siga el mismo procedimiento descrito anteriormente para la preparación del caldo P/A con las modificaciones siguientes:

- Añada los ingredientes del medio de cultivo P/A (91,5 gramos) a un litro de agua destilada o agua de llave de clorinada. El agua y los ingredientes del medio P/A se calientan suavemente para que se disuelvan (sin llegar al punto de ebullición).
- Saque una ampollita del suplemento MUG del refrigerador (de 50 mg). Quite el casquete y póngalo boca abajo en la mesa de trabajo.
- Usando una pipeta de 1 ml, añada 2mL de agua (destilada o de clorinada) a la ampollita de suplemento MUG. Maneje la pipeta esterilizada del lado del algodón para no contaminar la punta de la pipeta que se va a meter en la botella de agua destilada. Retape la ampollita e inviértala rápidamente varias veces para disolver su contenido.
- Añada el contenido de la ampollita (50 mg MUG + 2 ml agua) al caldo de cultivo P/A y mezcle bien.
- Añada las cantidades de caldo P/A en las botellas de ensayo como se describe anteriormente para el método tradicional.

B. Interpretación y registro de resultados:

- Inspeccione diariamente las muestras hasta por tres días. Si el medio de cultivo cambia de color, del púrpura original al amarillo, esto es una indicación que está presente al menos un tipo de bacteria indicadora de contaminación. Sin embargo, si se agita este medio de cultivo amarillo y se observan burbujas de gas, esto indica muy probablemente la presencia de coliformes o de coliformes fecales en la botella.

- Observe bajo luz ultravioleta de onda larga las botellas con medio de cultivo amarillo. La producción de una fluorescencia azul verdosa bajo luz ultravioleta es considerada como una reacción positiva y se estima que la muestra contiene *E.coli*. Anote los resultados en la hoja de datos.

Otros procedimientos rutinarios

1 Prueba de control de calidad

Es importante verificar cada serie nueva de medios de cultivo P/A y H₂S después de esterilizarla para asegurarse que no se haya contaminado.

- Ponga todas las botellas y/o tubos de ensayo ya preparados con los medios de cultivo, con tapas apretadas, en la incubadora a 35°C por una noche (15-18 horas).
- Examine las botellas al día siguiente.

Situación A:

Si el color no cambia (medio P/A morado o el medio H₂S sin ennegrecimiento), el medio de cultivo está bien. Guarde las botellas y tubos de ensayo en una alacena fresca, oscura, y sin polvo. La alacena debe tener puertas para que la luz no afecte al medio de cultivo. Las botellas y tubos de ensayo pueden almacenarse hasta 6 meses.

Situación B:

Si dos (2) o más botellas cambian de color (medio P/A amarillo o ennegrecimiento del medio H₂S), la serie P/A o H₂S está contaminada. Deseche la serie entera.

Situación C:

Si solo una (1) botella o tubo cambia de color, simplemente deseche el contenido de ese recipiente. Probablemente tuvo una tapa defectuosa y/o no se apretó bien antes de incubar. Guarde las demás botellas o tubos de ensayo en una alacena fresca y sin polvo. Las botellas y tubos de ensayo pueden almacenarse hasta 6 meses.

2 Desechando el contenido de botellas de muestreo y de ensayo

Recipientes de ensayo con crecimiento bacteriológico

Toda muestra que tenga algún indicio de crecimiento bacteriológico debe ser esterilizada antes de su disposición final. Esterilise en un autoclave las botellas o tubos de ensayo con su contenido, tapas sueltas, por 15 minutos a 15-20 libras de presión. Este proceso mata cualquier bacteria en los recipientes de ensayo. En caso de no haber un autoclave, los recipientes y su contenido pueden desinfectarse de la siguiente manera:

- Prepare una solución desinfectante en un balde de plástico (como la solución de cloro descrita más adelante). Llene el balde hasta la mitad.
- Cuidadosamente vierta en un inodoro o letrina toda muestra que sea turbia o cuyo color haya cambiado evidenciando un crecimiento bacteriológico.
- Sumerja cada recipiente de ensayo vacío en el balde con la solución de cloro. Déjelo en el balde por lo menos 30 minutos.
- Después, cuidadosamente saque los recipientes del balde y enjuague con agua de la llave o grifo. Deseche los recipientes de plástico vacíos en un depósito que recoja materiales para reciclar, y si no hay uno disponible, en un basurero. Si los recipientes son botellas o tubos de ensayo no desechables, lávelos con jabón y enjuague muy bien antes de guardar.
- Al día siguiente, deseche la solución de cloro en el lavabo y enjuague con mucha agua.
- Utilice siempre anteojos protectores y guantes de hule para el manejo de cualquier solución fuerte de cloro.

Recipientes de ensayo o muestreo sin crecimiento bacteriológico

Si las muestras no presentan evidencia de crecimiento bacteriológico pueden desecharse en un lavabo, letrina o inodoro. Enjuague muy bien el lavabo, así como los recipientes vacíos. Deseche los recipientes de plástico vacíos en un depósito que recoja materiales para reciclar, y si no hay uno disponible, en un basurero. Si los recipientes son botellas o tubos de ensayo no desechables, lávelos con jabón y enjuague muy bien antes de guardar.

Fugas o derrames

Use una solución desinfectante para limpiar fugas o derrames de cualquier recipiente de ensayo que se sospeche contenga crecimiento bacteriológico. Siga los siguientes pasos:

- Aplique bastante desinfectante (como la solución de cloro descrita más adelante) al líquido derramado y a toda área que haya estado en contacto con éste. Permita que el desinfectante esté en contacto con el líquido por lo menos 15 minutos. Limpie el derrame con toallas de papel.
- Cuidadosamente enjuague la superficie exterior contaminada del recipiente de ensayo con una toalla de papel mojada con desinfectante.
- Seque el recipiente con una toalla limpia de papel.
- Deseche las toallas de papel usadas en el basurero.
- Utilice siempre guantes de hule para limpiar derrames, y anteojos protectores para el manejo de cualquier solución fuerte de cloro.
- Lávese las manos con jabón y agua tibia después de manejar cualquier recipiente de ensayo que tenga indicios de crecimiento bacteriológico.

SOLUCIÓN DESINFECTANTE DE CLORO:

En un recipiente limpio agregue una solución de hipoclorito de sodio y enseguida mezcle con agua de la siguiente manera:

200 ml de LEJÍA (5% cloro disponible) por litro de agua

100 ml de solución de hipoclorito (10-12 % cloro disponible) por litro de agua

Hojas de registro de resultados

Al transferir información de la Hoja de Campo, asegúrese de hacerlo sin errores. Siga las siguientes indicaciones :

- a. Fecha: Refiriéndose a su Hoja de Campo, transfiera la fecha y hora de recolección (HR) de la muestra de agua. También apunte la hora en que puso las botellas o tubos de ensayo en la incubadora (HI).
- b. Número de Muestra: Escriba cada número de muestra que tiene apuntado en la Hoja de Campo.
- c. Fuente: Refiriéndose a su Hoja de Campo, transfiera el nombre del dueño/a de la casa o el número y dirección de la casa, el nombre de la instalación pública, o fuente de agua. Describa también el tipo de fuente. P. ej., si la muestra de agua viene de un barril, escriba "B"; de un barril con un grifo, "BG"; de una fuente, "F"; de una manguera, "M"; de un depósito, "D"; de un grifo, "G"; de un pozo, "P", etc....
- d. Días: Examine las botellas o tubos de ensayo en la incubadora diariamente y escriba los resultados observados.
 - d.1 Si no hay cambio de color en el medio de cultivo del recipiente de ensayo, escriba un signo negativo (-) en la columna correspondiente al número de muestra y día de incubación.
 - d.2 Si el medio de cultivo en el recipiente de ensayo se pone amarillo (ensayo P/A) o ennegrece (ensayo H₂S), escriba un signo positivo (+) en la columna correspondiente al número de muestra y día de incubación.
- e. Comentarios: Refiriéndose a su Hoja de Campo, escriba y desarrolle cualquier nota que haya hecho en cuanto a la fuente de agua o sitio de muestreo.
- f. Seguimiento: Escriba en esta columna cualquier acción que se hizo como resultado del muestreo (ej., notificación al usuario y autoridad responsable, nuevo muestreo, consejos al usuario, otras medidas ...)

1 Hoja de Campo _____ Comunidad: _____

Fecha	Muestra No.	Hora de Muestreo	Hora de Incubación	Fuente	Tipo de Ensayo	Volumen de Muestra	Comentarios

Símbolos de las fuentes: B = barril; BG = barril con grifo; F = fuente; M= manguera; D= de un depósito; G = grifo; P pozo, etc.

2 Registro de muestreo de agua para los poblados - Ensayo H₂S (Muestras de 10 y 1 ml)

Comunidad: _____

Fecha	Muestra No.	H. M. Hora de Muestreo	H. I. Hora de Inculcación	Fuente use símbolos	H ₂ S 10 ml			H ₂ S 1 ml			Notas		
					Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Comentarios	Seguimiento	

Símbolos de las fuentes: B = barril; BG = barril con grifo; F = fuente; M= manguera; D= de un depósito; G = grifo; P pozo, etc.

3 Registro de muestreo de agua para los poblados - Ensayo H₂S (Método tradicional)

Comunidad: _____

Fecha	Muestra No.	H. M. Hora de Muestreo	H. I. Hora de Incu- bación	Fuente use símbolos	H ₂ S 20 ml			H ₂ S 100 ml			Notas		
					Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Comentarios	Seguimiento	

Símbolos de las fuentes: B = barril; BG = barril con grifo; F = fuente; M= manguera; D= de un depósito; G = grifo; P pozo, etc.

4 Registro de muestreo de agua para los poblados - Ensayo P/A (Método tradicional)

Comunidad: _____

Fecha	Muestra No.	H. M. Hora de Muestreo	H. I. Hora de Incu- bación	Fuente use símbolos	P/A 20 ml*			P/A 100 ml*			Notas		
					Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Comentarios	Seguimiento	

Símbolos de las fuentes: B = barril; BG = barril con grifo; F = fuente; M= manguera; D= de un depósito; G = grifo; P pozo, etc.
 * "-" = negativo (púrpura) "+" = positivo (amarillo) "+ G" = (amarillo + burbujas de gas) "+M" = positivo (amarillo+ fluorescencia)

PARTE 2: ORGANIZANDO UN PROGRAMA LOCAL DE VIGILANCIA

Es importante poder detectar la presencia de microorganismos dañinos en el agua antes de consumirla para poder proteger la salud de nuestras familias. Si reconocemos a tiempo que el agua está contaminada, podemos tomar medidas correctivas y así prevenir enfermedades y epidemias. Para esto es necesario un muestreo regular, porque la calidad del agua puede cambiar rápidamente. También es necesario buscar las maneras más apropiadas, en cada comunidad, para que la información que se obtenga a través del muestreo se use para proteger la calidad del agua y la salud de las personas.

Actividades que cada comunidad puede realizar:

- Exámenes de calidad de agua en puntos importantes del sistema de abastecimiento.
- Informar a la comunidad los resultados de los exámenes y medidas que deben tomar para proteger su salud.
- Educar a la comunidad acerca de las causas de contaminación.
- Planear y llevar a cabo medidas de protección de la fuentes de agua.
- Instalar sistemas de tratamiento apropiados.
- Asegurar la buena operación y mantenimiento de los sistemas de abastecimiento y tratamiento.
- Promover el diálogo y cooperación con las autoridades de gobierno responsables.

Los ensayos bacteriológicos descritos en la parte anterior de este módulo pueden ser llevados a cabo por técnicos locales sin tener que depender de laboratorios lejanos, facilitando así que la información esté al alcance de la comunidad. Pero la información por sí sola no es suficiente. Se necesita el deseo y organización local para poner en marcha medidas que conduzcan al mejoramiento y protección de la calidad del agua de consumo.

Esta segunda parte trata sobre aspectos que deben considerarse antes de iniciar un programa local de vigilancia de la calidad del agua. Se presentan algunas sugerencias que pueden ayudarle a organizar su comunidad. Dada la diversidad de comunidades y sus condiciones, estas sugerencias no son detalladas, sino más bien limitadas a lo general.

Comunicación y educación

Muchas veces, programas locales no pueden llevarse a cabo porque la gente no está debidamente informada de los objetivos, metas y/o procedimientos seguidos.

**No informar crea
desconfianza y dificulta
toda actividad.**

Esta falta de información crea desconfianza y dificulta toda actividad. Grupos o gente que pudiesen brindar apoyo no lo hacen porque se sienten ignorados o simplemente por no conocer la relevancia y/o alcance del programa. Por consiguiente, es fundamental compartir los conocimientos que se tienen con las personas de la comunidad y mantenerlos regularmente informados sobre los resultados de las actividades.

1 Identificando a personas y grupos que deben ser informados

La calidad del agua de consumo depende de un gran número de factores relacionados con el ambiente, el tipo de construcción, la operación y el mantenimiento del sistema de abastecimiento o tratamiento del agua, las medidas de saneamiento existentes y costumbres de higiene. A su vez, la calidad del agua que se consume tiene un impacto directo en la salud del individuo y la comunidad. Por estas razones, existen varias personas en la comunidad, que de una forma u otra, comparten responsabilidades e intereses en asegurarse que la calidad del agua sea buena y que haya una vigilancia rutinaria. Estas personas pueden incluir:

- organizaciones o comités relacionados con el sistema de abastecimiento de agua y saneamiento (por ejemplo, el comité o junta administradora del agua)

- personas o grupos en la comunidad que trabajan en salud (comité de salud, trabajadores rurales de salud, enfermeras, doctores, otros grupos)
- trabajadores y representantes de autoridades locales, municipales, o estatales responsables del sistema de abastecimiento y de la calidad del agua
- personas respetadas (líderes) en su comunidad como maestros de escuela, líderes religiosos, y otros.

Es necesario que se discuta con todos ellos, ya sea en grupo o individualmente, los objetivos, beneficios y alcance del programa. Busque su respaldo y consejo al planear y realizar actividades que ayuden a mejorar y proteger la calidad del agua de consumo y la salud de la comunidad.

2 ¿Cómo informar a la comunidad?

Una de sus tareas principales es enseñar. Esto es decir, ayudar a la gente a conocer la calidad de agua que consume, reconocer las formas cómo se contamina, y aprender más sobre cómo evitar enfermedades que se relacionan con el agua y el saneamiento. Los trabajadores de salud de la comunidad buscan cumplir muchos de estos mismos objetivos. Por ello, es importante buscar su apoyo y cooperación. Se puede planificar de manera conjunta pláticas y demostraciones, tratando que ellas formen parte de las primeras pláticas con los grupos de la comunidad. Durante las pláticas, se debe promover que los presentes compartan ideas y desarrollen el conocimiento que ya se tiene en la comunidad.

Debe buscarse el apoyo y cooperación de los trabajadores de salud en la comunidad y planificar con ellos/ellas sus pláticas y demostraciones.

Algunas oportunidades para dar pláticas y/o hacer demostraciones incluyen:

- **Reuniones con distintos grupos** (por ejemplo, reunión mensual de la junta administradora de agua, reunión del comité de salud, reunión con grupos de madres e hijos)
- **Fiestas del pueblo** (por ejemplo, poner un puesto de calidad de agua y hacer demostraciones)
- **Visitas a escuelas**
- **Visitas a los hogares**

3 Definiendo obligaciones y responsabilidades

Es necesario definir claramente sus obligaciones y responsabilidades. Para ello, se deben discutir éstas con gente clave en su comunidad (por ejemplo, con los integrantes de la junta administradora del agua y con los representantes de las autoridades responsables). En estas discusiones se debe examinar:

- las necesidades (lugar, equipo, insumos, transporte,)
- los recursos disponibles
- sus limitaciones (qué puede y qué no puede hacer)
- obligaciones y procedimientos (qué debe hacer y cómo)

Es importante mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos de agua y observaciones que haga durante las visitas, excepto para informar a los entes responsables. Éstos pueden ser el padre o madre de familia (en caso de muestreo en el hogar), los operadores de la planta de tratamiento y la junta administradora de agua (en caso del muestreo en la planta de tratamiento o acueducto), el director o el maestro de la escuela (muestreo en la escuela), y las autoridades de salud en

**Discreción y Respeto
son elementos
necesarios para hacer
un buen trabajo.**

la comunidad cuando se trata del acueducto o lugares públicos.

Es importante recordar que si no se mantiene discreción y confidencialidad, se podrá perder la confianza de la comunidad. Si se mantienen buenas relaciones con las personas que se visitan en sus hogares o instalaciones públicas, ésto permitirá discutir con ellos/ellas cualquier problema que se encuentre y medidas preventivas o correctoras necesarias para mejorar la calidad del agua.

4 Cuando vaya a tomar una muestra

Cuando se haga la primera visita a un hogar o instalación pública es muy importante explicar que parte del trabajo, además de tomar la muestra y hacer el examen de agua, es también ayudar a la gente a identificar posibles causas de contaminación y definir

**Es importante
explicar el
propósito de la
visita**

soluciones apropiadas. Es necesario explicar que el propósito es ayudar a proteger la salud de la familia, de trabajadores, o de clientes (cuando se de el caso). Ésto hará que la gente no tome solo como una crítica los resultados del muestreo o sus consejos sobre cosas que deben repararse o hacerse de manera distinta.

**Regresar a
los usuarios
los
resultados**

Hay que recordar decir también a las personas que se les informará personalmente o por teléfono (si esto es posible o apropiado) los resultados del muestreo, en caso de que el agua esté contaminada. Esto no debe olvidarse y se debe cumplir.

Cuando sea posible, también se debe informar a la gente cuando el muestreo indique que el agua es potable.

La visita es una buena ocasión para observar, y discutir con las personas, causas probables de contaminación y alternativas para prevenirlas. Pero para que sea posible la comunicación,

Respetar las ideas y tradiciones locales

es necesario respetar las ideas y tradiciones locales. Si se considera que alguna costumbre casera puede ser dañina para la salud o provoca la contaminación del agua, debe examinarse y tratarse el tema con respeto. **No debe**

decírsele a la gente que sus creencias son falsas o malas. Más bien, se debe explicar y ayudar a entender por qué es mejor hacer las cosas de manera diferente.

Identificando puntos de vigilancia rutinaria

Definir el sitio donde tomar muestras, y con qué frecuencia, dependerá entre otras cosas de: los recursos que se tenga para hacerlo, el número de personas que pueden enfermarse por la contaminación del agua en un sitio particular, el tipo de fuente de agua y del sistema de abastecimiento, y la calidad misma del agua. Por ejemplo:

Hay que conocer y examinar las distintas fuentes de agua que se utilizan en la comunidad.

- Un muestreo rutinario es importante en instalaciones públicas o que controlan todo el sistema. Este es el caso del agua que sale de la planta de tratamiento, puesto que de esa agua beberá gran parte de la comunidad.
- Plantas de tratamiento que estén operando adecuadamente y produciendo agua de buena calidad no se tienen que mostrar tan frecuentemente como cuando su operación esté fallando.
- Acueductos que pierden presión regularmente (tiempos donde no hay agua) se tienen que mostrar en más puntos y más frecuentemente que otros que siempre tienen presión. Cuando "se va el agua", la tubería se puede contaminar con agua sucia que entra de afuera.

- Ciertos puntos en el acueducto, o de la comunidad, son más importantes que otros y requieren un muestreo más frecuente. Éstos son sitios donde hay:
 - ▶ muchos niños (p. ej. escuelas, guarderías)
 - ▶ gente anciana (p. ej. albergues para ancianos)
 - ▶ gente enferma (p. ej. clínicas, hospitales)

- Se deben tomar muestras de pozos públicos por lo menos dos veces al año, y una de esas veces debe ser temporada de lluvia. Si el pozo abastece a docenas de familias, la frecuencia de muestreo debe ser mayor, especialmente si la gente no acostumbra a desinfectar su agua.

- En hogares con pozos de agua, o en donde el agua para beber se guarda en baldes, recipientes, o cisternas, se pueden tomar muestras una vez al año, al azar, si la comunidad lo considera apropiado y si hay suficientes recursos para hacerlo.

- Cuando el agua se vende en pipas (camión o carro con tanque) a hogares, se debe tomar una muestra por carro, por lo menos semanal o mensualmente, dependiendo de los recursos disponibles (¡No hay por que pagar por agua contaminada!).

Hay que tener presente que muchas veces un sistema de acueducto no abastece a la comunidad entera, ya sea porque el agua no alcanza en tiempo de secas o porque la tubería nunca llegó a ciertas partes de la comunidad. Es necesario hacer un esfuerzo por conocer la comunidad y el uso de las distintas fuentes de agua que se utilizan. Por lo general, la gente no servida por un acueducto es la que consume el agua más contaminada y la que menos recursos tiene para superar enfermedades.

¿De qué instalaciones o lugares públicos deben tomarse muestras de agua en la comunidad regularmente?

Lugar:

Frecuencia:

¿Cuántas fuentes de agua para el consumo humano se utilizan a lo largo del año en la comunidad? y ¿Por cuánta gente?

Tipo de Fuente:

Número de Personas:

¿De qué otros sitios en la comunidad deberían tomarse muestras de agua para analizar?

Lugar:

Frecuencia:

Una vez que se haya pensado en todos los sitios donde deben tomarse muestras, y qué tan frecuentemente hay que hacerlo a lo largo del año, se debe discutir el plan con la Junta Administrativa o el Comité de Agua, revisar los recursos disponibles, y ajustar los planes. Es muy probable que haya que reajustar los planes varias veces hasta que se esté satisfecho con el programa de muestreo.

Durante este ejercicio se deben tomar en cuenta, entre otras cosas:

- el número de botellas o tubos de ensayo disponibles;
- el tiempo que le tomará hacer el muestreo, los exámenes de agua, y dar seguimiento a los resultados;
- los recursos que se tienen para ir a tomar las muestras (p. ej. costos de transporte);
- el tiempo que se tiene para dedicarle a esta actividad.

Si solo se pueden hacer de 10 a 20 muestras en total, por año, serán probablemente 10-20 muestras más de las que se hacen ahora y 10-20 oportunidades más para enseñar a la gente de la comunidad la necesidad y formas de proteger la calidad de su agua.

Notificación de resultados y medidas correctivas

1 ¿Qué hacer cuando una muestra sale positiva?

Si la muestra tomada en la **casa de una familia** indica que el agua está contaminada, se debe:

- Visitar personalmente o informar por teléfono al dueño/dueña, y si la muestra viene de un grifo (llave o tubo) conectado al acueducto, informar también a la persona responsable de la operación y mantenimiento del acueducto.
- Tomar otra muestra de un sitio vecino que use la misma fuente de agua (p. ej. del grifo o llave de una casa vecina conectada al mismo acueducto, o mismo pozo o toma de agua pública, o la misma cisterna).
- Si esta segunda muestra resulta positiva, informar a los hogares vecinos y a la persona responsable de la fuente de agua sobre el estado de contaminación.
- En la visita de seguimiento, examinar posibles causas de contaminación en el manejo o almacenaje del agua, discutir que acciones pueden tomarse, y recomendar hervir o desinfectar el agua, antes de beberla y hasta que la situación se corrija.
- Documentar los resultados de los exámenes bacteriológicos y las acciones seguidas.

Si una **muestra de un sistema o lugar público** resulta positiva (indica contaminación), se debe:

- Informar inmediatamente a las personas responsables del lugar, y al

representante de salud de la comunidad (o a la persona con quien previamente se acordó informar sobre esta situación).

- Visitar nuevamente con la persona a cargo del sistema, el área o áreas afectadas, y examinar las posibles causas de contaminación y medidas correctivas que los operadores o personas responsables puedan tomar (p. ej. en el caso de una planta de tratamiento con cloración, verificar que el equipo de cloración funcione y hacer los ajustes necesarios; en caso de una cisterna de almacenaje, limpiar y desinfectar ese tanque).
- Tomar muestras adicionales y repetir el examen bacteriológico; y si es posible enviar una muestra a un laboratorio acreditado para determinar, con la ayuda de ellos, el nivel de contaminación.
- Pedir al representante de salud que recomiende a los usuarios del sistema de abastecimiento (o fuente de agua) hervir o desinfectar el agua antes de beberla, hasta que la situación se resuelva. Este paso es esencial si los segundos muestreos confirman la contaminación del sistema.
- Cuando se informe que el problema con el sistema ha sido resuelto, volver a tomar una muestra para verificar que no haya más contaminación.
- Documentar los resultados de los exámenes bacteriológicos y las acciones seguidas.

Estos puntos se presentan como guías solamente. Se deben adaptar o modificar en colaboración con miembros del comité o Junta Administradora de Agua y autoridades correspondientes para satisfacer los requerimientos particulares de la comunidad. Lo importante es tener bien definidos los pasos a seguir antes de iniciar el trabajo.

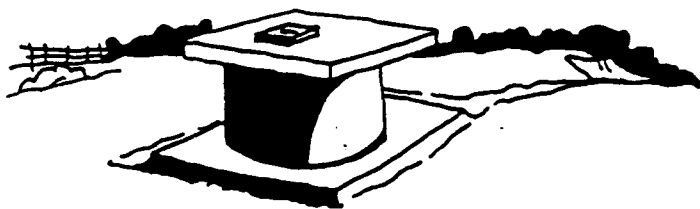
2 Usando apoyo y recursos de su región

Los recursos que se tengan al alcance determinarán la mejor forma de manejar un problema. Algunas soluciones pueden requerir recursos de afuera (materiales, dinero o apoyo técnico). Por ejemplo, si el clorador de una planta de tratamiento deja de funcionar, es posible que se necesite asistencia para su reparación.

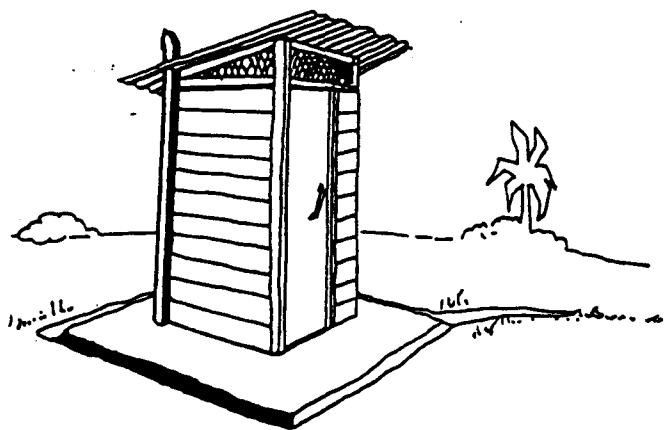
Pero hay también varias acciones que la comunidad puede tomar conjuntamente o en apoyo de cualquier intervención de afuera. Para ello es necesario usar los recursos

disponibles en la región. Hay que recordar, en toda situación, lo conveniente es prevenir la contaminación del agua y del ambiente en general. Por ejemplo, un grupo de vecinos, de familiares, o la comunidad entera se puede organizar para llevar a cabo varias actividades como las siguientes.

Use la vigilancia de calidad de agua como oportunidad para trabajar en prevenir la contaminación.



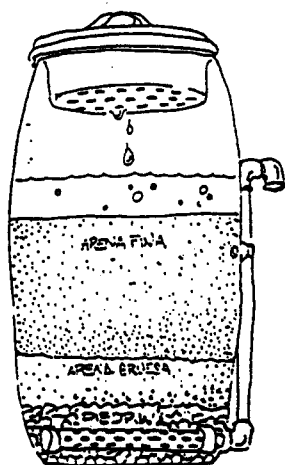
Proteger y mantener limpia el área que rodea a la fuente de agua.



Construir bien una letrina y mantenerla limpia y ventilada.

Figura 8 Previene la contaminación de la fuente de agua*

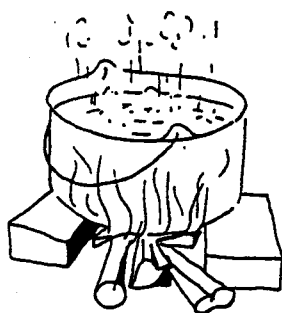
Si en su comunidad la gente usa agua de un pozo que no esté debidamente protegido, o agua del río, o en casos de contaminación en el agua del acueducto, hay que promover medidas para proteger la salud de las familias. Éstas pueden incluir:



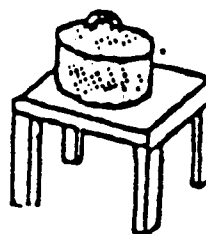
Filtrar el agua a través de filtros caseros de arena fina y piedra pequeña (y desinfectar o hervir el agua ya filtrada).



Echarle cloro al agua en el pozo o tanque de almacenamiento (consulte con el representante de salud en su comunidad).



Hervir el agua para tomar



Siempre cubrir y proteger los recipientes donde se almacena el agua de consumo, y mantenerlos fuera del alcance de los animales.

Figura 9. Alternativas para proteger el agua de consumo*

**(Fuentes de varias figuras: En busca de una buena SALUD, L. Aguilar et al., FUNDATEC, Costa Rica, 1990)*