

ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE CONSUMO EN
DISTINTAS EXPLOTACIONES CUNICOLAS DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE
ARAGÓN

A.A. Rodríguez Moure; M.V. Latre Cequiél; C. Lara Gargallo; J.F.
González Cabo; J. Ducha Sardaña; A. Cabrejas Segura y T. Campillo
Martínez

Departamento de Patología Animal (Microbiología e Inmunología)
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

Proyecto de Investigación de la D.G.A. nº CA 10/85

INTRODUCCION

En el presente trabajo se resumen los resultados obtenidos a lo largo de 30 meses, en los cuales se han efectuado análisis del agua utilizada para el consumo en distintas explotaciones cunícolas de los tipos industrial, semiindustrial y familiar, en las que no se han detectado problemas patológicos que hubieran podido ser achacados a la ingestión de agua contaminada.

MATERIAL Y METODOS

Para efectuar los correspondientes análisis se ha seguido la normativa propuesta en el B.O.E., según el Real Decreto 1423/1982 de 18 de Junio, en el que se establecen como microorganismos indicadores de los caracteres microbiológicos de las aguas los siguientes:

- Bacterias aerobias totales a 37°C.
- Bacterias aerobias totales a 22°C.
- Bacterias coliformes.
- Estreptococos fecales.
- Clostridios Sulfito-Reductores.

La toma de muestras se realizó siguiendo esta misma normativa, teniendo en cuenta en las aguas con trazas de cloro, cloraminas

u ozono, el neutralizar dichas sustancias con la adición de 0'2 cc de una solución acuosa al 3% de tiosulfato sódico cristalizado ($S_2O_3Na_2 \cdot 5H_2O$).

Recuento de bacterias aerobias viables

Se utilizó Agar Nutritivo cuya composición es:

- Peptona bacteriológica ... 5 gm
- Extracto de carne 3 gm
- Agar 15 gm
- Agua destilada 1000 cc.

Tras la siembra y posterior homogenización de la muestra de agua con el medio de cultivo, se deja solidificar y se incuban a 37°C y 22°C, durante 48 horas.

Bacterias Coliformes: Prueba presumptiva

. Metodología de los tubos múltiples:

Se utilizó Caldo lactosado biliado cuya composición es:

- Extracto de carne de buey 3 gm
- Peptona bacteriológica 5 gm
- Lactosa 6 gm
- Agua destilada 1000 cc.

Se distribuía en tubos y se les incorporaba a todos ellos Campana Dürham para detectar la posible producción de gas. Se incubaban tras la siembra del agua a 37°C \pm 1°C durante 24-48 horas.

Prueba confirmativa (coliformes totales)

Se utiliza el medio de Levine (E.M.B.) cuya composición es:

- Peptona bacteriológica 10 gm
- Lactosa 10 gm
- Fosfato bipotásico 2 gm
- Agar 15 gm

- Eosina Amarillenta 0'4 gm
- Azul de Metileno 0'005 gm
- Agua destilada 1000 cc.

De los tubos positivos de la prueba presumptiva (ácido y gas) se sembraban tantas placas como tubos positivos se obtenían y se incubaban a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas y se estudiaban las bacterias fermentadoras de lactosa.

Posteriormente fueron realizadas técnicas bioquímicas de identificación bacteriana con los cultivos puros obtenidos de estas bacterias.

Prueba confirmativa de coliformes fecales

Se utilizó medio E.C. de Hajna y Perry:

- Peptona bacteriológica 20 gm
- Lactosa 5 gm
- Mezcla de sales biliares o sales biliares n° 3 1'5 gm
- Fosfato bipotásico 4 gm
- Fosfato monopotásico 1'5 gm
- Cloruro sódico 5 gm
- Agua destilada 1000 cc

Los tubos, en los que se distribuía el medio, se introducía una campana Dürham para la detección de gas.

Tras la siembra de tantos tubos de este medio, como tubos positivos obteníamos en la prueba presumptiva, realizábamos la incubación de los mismos a $44^{\circ}\text{C} \pm 0'5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, dando como positivos aquellos tubos que presentaban crecimiento y gas.

Estreptococos fecales

Utilizamos el método de los tubos múltiples empleando el medio de Rothe:

- Peptona bacteriológica 20 gm
- Glucosa 5 gm
- Cloruro de sodio 5 gm
- Fosfato bipotásico 2'7 gm
- Fosfato monopotásico 2'7 gm
- Azida sódica 0'2 gm
- Agua destilada 1000 cc

Tras la siembra se incubaban a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas, dando como positivos aquellos que presentan enturbiamiento y/o sedimento.

Prueba confirmativa

De todos los tubos positivos de la prueba presumptiva sembrá-bamos el medio de cultivo Litsky:

- Peptona bacteriológica 20 gm
- Glucosa 5 gm
- ClNa 5 gm
- Fosfato bipotásico 2'7 gm
- Fosfato monopotásico 2'7 gm
- Azida sódica 0'3 gm
- Solución acuosa etil-violeta al 0'01% (P/V) 5 cc
- Agua destilada 1000 cc

El cual distribuíamos en tubos. Se incubaban los tubos resembrados a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas y en caso negativo hasta 48 horas.

El enturbiamiento del medio de cultivo tras la incubación señala un resultado positivo.

La determinación del N.M.P. (número más probable) de microorganismos se realizó utilizando las tablas correspondientes.

Clostridios Sulfito-Reductores

Utilizamos el medio Agar-Glucosa-Sulfito-Hierro (Wilson-Blair).

| | |
|--------------------------------|---------|
| - Peptona bacteriológica | 10 gm |
| - Extracto de carne | 3 gm |
| - Cloruro sódico | 5 gm |
| - Glucosa | 20 gm |
| - Agar | 30 gm |
| - Agua destilada | 1000 cc |

Tras la esterilización se atempera a 70°C y se le adicionan a 20 cc del medio, 0'5 cc de una solución de citrato de hierro amoniacal (5%) y 1 cc de una solución de sulfito sódico (10%). Tras la siembra se incuban las placas a 37°C (\pm 1°C) durante 48 horas.

Las colonias de color negro, corresponden a este grupo de microorganismos.

RESULTADOS y CONCLUSIONES

Vienen reflejados en las siguientes tablas:

MUESTRAS DE AGUA CON TRAZAS DE CLORO, CLORAMINAS U OZONO

| MUESTRAS | RECUENTO VIABLES | | COLIMETRIA | ESTREPTOMETRIA | ANAEROBIOS SULFITO R ⁻ |
|----------------------------|------------------|------------|---|--|--------------------------------------|
| | 37°C/cc | 22°C/cc | | | |
| M-1 Lema CHUPETES | 300 UFC/cc | 300 UFC/cc | 50 UFC/100 cc (-) E. coli (+) Citrobacter | 11 UFC/100 cc (+) Streptococ. faecalis | +300 UFC |
| M-2 Lema final CHUPETES | 300 UFC/cc | 266 UFC/cc | 250 UFC/100 cc (-) E. coli | 0 UFC/100 cc (-) Ausencia de Strep. faecalis | 270 UFC |
| M-3 | 2813 UFC/cc | 160 UFC/cc | 0 UFC/100 cc (-) ausencia E.coli | 350 UFC/100 cc (+) Stp.faecalis | +300 UFC |
| M-4 | 178 UFC/cc | 239 UFC/cc | 0 UFC/100 cc (-) ausencia E.coli | 0 UFC/100 cc (-) ausencia | +300 UFC |
| M-4 Lema CEBO A | 163 UFC/cc | 300 UFC/cc | 500 UFC/100 cc (+) E. coli | 170 UFC/100 cc (+) Stp.faecalis | 189 UFC |
| M-5 Lema POZO | 300 UFC/cc | 19 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E.coli | 250 UFC/cc (-) Stp.faecalis | 170 UFC |

MUESTRAS DE AGUA CON TRAZAS DE CLORO, CLORAMINAS U OZONO

| MUESTRAS | RECuento VIABLES | | COLIMETRIA | ESTREPTOMETRIA | ANAEROBIOS SULFITO R ⁻ |
|------------------------|------------------|-------------|---|-------------------------------------|--------------------------------------|
| | 37°C/cc | 22°C/cc | | | |
| M-6 Lema ENGORDE | 142 UFC/cc | 121 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 35 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 0 UFC Ausencia |
| M-6 Lema MATERNIDAD | 90 UFC/cc | 20 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 2 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 97 UFC |
| M-7 Lema GRIFO | 4 UFC/cc | 19 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 5 UFC/100 cc (-) Stp. faecalis | 0 UFC Ausencia |
| M-7 Lema CHUPETES | +300 UFC/cc | +300 UFC/cc | +1800 UFC/100 (+) E. coli | 130 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 170 UFC |
| M-8 | 352 UFC/cc | 271 UFC/cc | 350 UFC/100 cc (-) E. coli (+) Enterobac. cloacae | 12 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 180 UFC |
| M-9 Lema ACEQUIA | 124 UFC/cc | 474 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia | 0 UFC/100 CC (-) Stp. faecalis | +300 UFC |

MUESTRAS DE AGUA CON TRAZAS DE CLORO, CLORAMINAS U OZONO

| MUESTRAS | RECUESTO VIABLES | | COLIMETRIA | ESTREPTOMETRIA | ANAEROBIOS SULFITO R ⁻ |
|-------------------------|------------------|------------|---|---------------------------------------|--------------------------------------|
| | 37°C/cc | 22°C/cc | | | |
| M-10 | 429 UFC/cc | 267 UFC/cc | +1800 UFC/100 cc (-) E. coli (+) Citrobac. freundii | 7 UFC/100 cc (-) Stp. faecalis | +300 UFC |
| M-11 | 104 UFC/cc | 146 UFC/cc | 3 UFC/100 cc (-) E. coli | +1800 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 100 UFC |
| M-12 Lema CEBO | 210 UFC/cc | 211 UFC/cc | 11 UFC/100 cc (+) E. coli | 3 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 50 UFC |
| M-12 Lema MATERNIDAD | 0 UFC/cc | 0 UFC/cc | 0 UFC/100 cc (-) E. coli | 0 UFC/100 cc (-) Stp. faecalis | 0 UFC |
| M-13 Lema GRIFO | 270 UFC/cc | 650 UFC/cc | 900 UFC/100 cc (+) E. coli | 170 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 80 UFC |
| M-13 Lema CHUPETE | 224 UFC/cc | 153 UFC/cc | 20 UFC/100 cc (+) E. coli | 17 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 87 UFC |
| M-14 | 508 UFC/cc | 372 UFC/cc | 130 UFC/100 cc (+) E. coli | 80 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | +300 UFC |

MUESTRAS DE AGUA CON TRAZAS DE CLORO, CLORAMINAS U OZONO

| MUESTRAS | RECUENTO VIABLES | | COLIMETRIA | ESTREPTOMETRIA | ANAEROBIOS SULFITO R ⁻ |
|----------------------|------------------|------------|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| | 37°C/cc | 22°C/cc | | | |
| M-15 | 300 UFC/cc | 300 UFC/cc | 5 UFC/100 cc (+) E. coli | 140 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | +300 UFC |
| M-16 Iema CEBO A | 0 UFC/cc | 38UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 0 UFC/100 cc Ausenc. Stp. faec | 0 UFC |
| M-16 Iema CEBO B | 993 UFC/cc | 300 UFC/cc | 900 UFC/100 cc (+) E. coli | 5 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 0 UFC |
| M-17 | 0 UFC/cc | 0 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 0 UFC/100 cc Ausenc. Stp. faec. | +300 UFC |
| M-18 Iema ENGORDE | 341 UFC/cc | 172 UFC/cc | 8 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 275 UFC/100 cc (+) Stp. faecalis | 0 UFC |
| M-18 Iema MADRE | 28 UFC/cc | 13 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 0 UFC/100 cc Ausenc. Stp. faec. | 0 UFC |
| M-19 | 4 UFC/cc | 15 UFC/cc | 0 UFC/100 cc Ausencia E. coli | 0 UFC/100 cc Ausenc. Stp. faec. | 0 UFC |

MUESTRAS DE AGUA CON TRAZAS DE CLORO, CLORAMINAS U OZONO

| MUESTRAS | RECUENTO VIABLES | | COLIMETRIA | ESTREPTOMETRIA | ANAEROBIOS SULFITO R ⁻ |
|----------|------------------|------------|--|-------------------------------------|--------------------------------------|
| | 37°C/cc | 22°C/cc | | | |
| M-20 | 326 UFC/cc | 317 UFC/cc | 70 UFC/100 cc (-) E. coli (+) Cibrob. freundii | 8 UFC/100 cc (-) Stp. faecalis | 0 UFC |
| M-21 | 252 UFC/cc | 300 UFC/cc | 0 UFC/100 cc (-) Ausenc. E. coli | 0 UFC/100 cc (-) Ausenc. Strep | 20 UFC |
| M-22 | 68 UFC/cc | 20 UFC/cc | +1800 UFC/100 cc (-) Ausenc. E. coli | 40 UFC/100 cc (-) Ausenc. Strep. | 60 UFC |
| M-23 | 90 UFC/cc | 19 UFC/cc | 0 UFC/100 cc (-) Ausenc. E. coli | 0 UFC/100 cc (-) Ausenc. Strep. | 70 UFC |
| M-24 | 58 UFC/cc | 39 UFC/cc | 0 UFC/100 cc (-) Ausenc. E.coli | 0 UFC/100 cc (-) Ausenc. Strep. | 0 UFC |
| M-25 | 52 UFC/cc | 42 UFC/cc | 35 UFC/100 cc (-) Ausencia E. coli | 0 UFC/100 cc (-) Ausenc. Strep. | +300 UFC |

CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos y comparando éstos con los que se señalan en el B.O.E., señalamos que respecto al parámetro:

Contenido de bacterias aerobias totales a 37°C; observamos que 17 muestras están dentro de aquellas señaladas como tolerables, teniendo en cuenta que si atendemos a los caracteres orientadores de calidad, solamente 5 muestras de agua cumplirían dicha norma.

La investigación del contenido de bacterias coliformes nos conduce a citar que fueron 15 del total de muestras analizadas las que cumplían esta norma.

Respecto al contenido de *Streptococos* fecales, en nuestros análisis detectamos 15 muestras, exentas de este tipo de microorganismos bacterianos.

En cuanto a ausencia de bacterias anaerobias del tipo *Clostridium* sulfito reductoras, solamente 10 muestras cumplían este requisito.

A pesar de que algunas de estas aguas están por encima de los límites tolerables para el consumo humano, señalamos que no hemos detectado procesos digestivos concomitantes con las mismas en las distintas explotaciones.

BIBLIOGRAFIA

B.O.E., nº 154, 29 de Junio de 1.982. Real Decreto 1423/1982, de 18 de Julio

B.O.E. nº 193, 13 de Agosto de 1.983. Orden del 27 de Julio de 1.963.

