

## **Respuestas a la Información sobre Calidad del Agua: Pruebas para Detectar Presencia de Coliformes Fecales y E. Coli**

Los problemas en la provisión y la calidad del agua están al origen de efectos negativos graves en la salud humana, principalmente afectando a los niños menores. A nivel mundial, UNICEF estima que 2,000 niños menores de cinco años mueren cada día por enfermedades diarreicas, y de estas aproximadamente 1,800 muertes están relacionadas con la contaminación del agua, la falta de saneamiento y la higiene inadecuada (UNICEF 2013).

El proyecto de agua tiene como propósito principal evaluar la respuesta a la información sobre la calidad del agua de consumo humano en las localidades altamente afectadas por la contaminación petrolera. La calidad del agua se ve afectada por varias fuentes de contaminación, por lo que es importante llevar a cabo varios tipos de análisis, como son: metales pesados, hidrocarburos, y componentes biológicos. En esta primera sección sobre aprendizajes en campo se recogerá la experiencia del equipo haciendo pruebas microbiológicas, presencia de Coliformes Totales y E. Coli, con materiales de bajo costo y en condiciones similares a laboratorios certificados.

Durante la primera campaña de agua de toma de muestras de agua de consumo, se llevaron a cabo pruebas biológicas en las muestras recogidas para diferentes localidades. El propósito de estas pruebas fue identificar contaminación fecal en las fuentes de agua, en particular se buscaba la presencia de coliformes totales y la bacteria E. Coli. Los coliformes son una familia de bacterias que han sido usualmente indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano. En los medios acuáticos los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y su origen es principalmente fecal. Por tanto, su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura, y su número en el agua es directamente proporcional al grado de contaminación fecal; es decir que mientras más coliformes se identifican del agua, mayor es la gravedad de la descarga de heces. Según la OMS, *Escherichia coli* (E. Coli) es una bacteria que se encuentra comúnmente en el intestino grueso de humanos y animales de sangre caliente, y aunque la mayoría de especies de E. coli son inofensivas, algunas pueden causar graves enfermedades (WHO 2016).

Basados en los protocolos de laboratorio de la Universidad San Francisco de Quito, el equipo realizó pruebas microbiológicas para la identificación de coliformes y E. Coli. Para analizar la calidad del agua de consumo humano se colecta las muestras de agua en los recipientes utilizados normalmente por las familias, en las mismas condiciones como si fueran a consumir el agua. Se debe utilizar frascos nuevos esterilizados que no hayan sido expuestos a ningún tipo de contaminación previa. Al momento de recoger las muestras la persona encargada tiene que utilizar guantes de látex desechables. Se debe asegurar que no hay contaminación de la muestra en su manipulación: siempre ver que no haya elementos contaminantes en la manipulación y transporte de los frascos, la manipulación debe hacerse siempre con guantes y el transporte en bolsas cerradas.

Cuando se recogen varias muestras por localidad se debe mantener una codificación y un registro de cada muestra recogida. Este código único permite identificar a la muestra y evita cualquier confusión al momento de llevar a cabo las pruebas. Tan importante es saber que el resultado de la prueba microbiológica es confiable, como asegurar que no hay confusión entre las muestras y sabemos de dónde es cada una. Adicionalmente se puede añadir coordenadas geográficas para cada muestra, de manera que se pueda identificar con precisión los puntos en donde las muestras fueron recogidas.

Se utilizaron tres pasos para identificar coliformes en el agua que deben realizarse sucesivamente con la finalidad de generar datos confiables y que brinden un buen nivel de seguridad. El protocolo es el siguiente:

1. Determinar la presencia de coliformes con fluorocult:
  - Si no hay presencia (la mezcla fluorocult no cambia de color), se para el análisis.
  - Si hay presencia, se debe comprobar la presencia de E.Coli:
2. Determinar la presencia de E. Coli. Para ello se utilizan 2 métodos que se comprueban mutuamente:
  - Método UV (Ultravioleta)
  - Método químico con el líquido de Indol

El primer paso utiliza una preparación de nutrientes disueltos en el agua que se llama Fluorocult. La muestra recogida tiene que disolverse en la preparación, mantenerse en un lugar sin luz y guardarse a temperatura ambiente por 48 horas. Si la preparación adquiere un color azul o turquesa entonces se puede afirmar que existen coliformes totales. En la fotografía 1 se puede observar un frasco en donde no hay coliformes y un frasco en donde sí hay.



Fotografía 1

El segundo paso permite identificar la presencia de E-Coli (coliformes fecales) en la muestra de agua. Es importante hacer esta prueba también ya que puede ser que hayan coliformes totales en el agua pero no contaminación fecal, que es una de las causas principales de varios problemas de salud. Una vez que la mezcla de Fluorocult haya cambiado de color, el segundo paso consiste en crear un espacio sin luz y exponer el frasco a radiación o luz ultravioleta.

Se utilizó una lámpara ultravioleta Merck de 36 nm (ver link: [http://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/UV-lamp-366-nm,MDA\\_CHEM-113203?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com.ec%2F](http://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/UV-lamp-366-nm,MDA_CHEM-113203?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com.ec%2F)).

Cuando el frasco adquiere un tono celeste brillante entonces se puede concluir que existen coliformes fecales en la muestra analizada. En la fotografía 2, el frasco a la izquierda muestra presencia de E.Coli mientras que el de la derecha muestra ausencia.



Fotografía 2

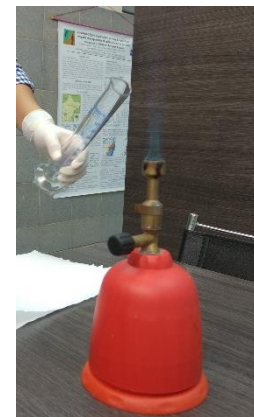
Con la finalidad de verificar la presencia o ausencia de E-Coli (double check), el tercer paso se basa en provocar una reacción química de las bacterias a un compuesto químico llamado líquido de Indol (ver link para proveedor en Ecuador: <http://www.labomersa.com/>).

Este químico es altamente corrosivo e inflamable y su manipulación tiene que hacerse en condiciones controladas y con mucho cuidado. En un tubo de ensayo esterilizado se tiene que trasvasar la mezcla Fluorocult hasta llenar un tercio del tubo. Se debe añadir dos gotas del líquido de Indol en el agua que se presume que hay contaminación. Si se forma un anillo fucsia en la superficie del agua entonces se tiene que confirmar la presencia de E.Coli. En la fotografía 3 se muestra una muestra con presencia confirmada de E.Coli.



Fotografía 3

Es importante considerar que cualquier prueba tiene que realizarse en un ambiente esterilizado y libre de cualquier forma de contaminación. Se recomienda usar un mechero portátil ya que al prender una llama se forma un área libre de bacterias y contaminantes de aproximadamente 20-30 cm alrededor del fuego, como se muestra en fotografía 4. Todos los frascos y tubos utilizados deben ser cuidadosamente esterilizados con etanol antes y después de su utilización. Los líquidos deben ser descargados en el servicio higiénico para no contaminar otras fuentes ni cuerpos biológicos.



Fotografía 4

#### Referencias:

UNICEF, 2013, "Children dying daily because of unsafe water supplies and poor sanitation and hygiene, UNICEF says", [http://www.unicef.org/media/media\\_68359.html](http://www.unicef.org/media/media_68359.html)

WHO, 2016, "E. coli", <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>