



## Resumen de las actividades

1. Introducción
2. Métodos de análisis microbiológico
3. Evaluación de los métodos de análisis microbiológico
4. Repaso

## Objetivos de aprendizaje

Cuando finalice esta sesión, los participantes serán capaces de:

1. Identificar métodos de análisis microbiológico.
2. Evaluar distintos métodos de análisis microbiológico.
3. Determinar cuándo utilizar los análisis de presencia-ausencia (P-A), número más probable (NMP) y filtración por membrana (FPM).

### Preparación y materiales

- Actividad: Demostración de los métodos de análisis microbiológico.
- Preparación: Prepare un ejemplo del análisis de P-A (p. ej.: Pathoscreen, de la empresa Hach, o el dispositivo de ENPHO).
- Preparación: Prepare un ejemplo del análisis de NMP (p. ej.: kit Pathoscreen de pruebas de campo de NMP, de la empresa Hach, o la prueba de bolsa con compartimientos fabricada por Aquagenx).
- Preparación: Prepare un ejemplo del análisis de filtración por membrana (p. ej.: kit Palintest o Delagua).
- PowerPoint (opcional): Métodos de análisis microbiológico (use esta presentación si no se dispone de muestras de cada método de análisis)
- Actividad: Debate sobre la evaluación de los métodos de análisis microbiológico

### Lecturas recomendadas

- Resumen técnico: Aspectos microbiológicos del agua de consumo

## Introducción



1. Presente las siguientes situaciones hipotéticas:
  - Usted está a cargo de implementar proyectos y se está perforando un pozo nuevo en un pueblo remoto. Desea ver si el pozo se desinfectó correctamente después de ponerlo en servicio, pero no puede salir hacia lugar con facilidad y no dispone de personal de laboratorio calificado.
  - Necesita verificar la eficacia de una tecnología de tratamiento del agua (p. ej.: el filtro de bioarena). Tiene a su disposición un técnico de análisis de la calidad del agua y un laboratorio.
  - No dispone de equipos de laboratorio, pero necesita saber la cantidad aproximada de bacterias *E. coli* que contaminan una fuente de agua.
2. Pregunte si se podría usar el mismo tipo de análisis en cada situación hipotética. Pídales a los participantes que indiquen motivos por los cuales no podrían o querrían usar el mismo tipo de análisis.
  - Existen distintos niveles de investigación o estudio, en función de varios factores (entre ellos, los siguientes):
    - i. Objetivos
    - ii. Recursos
    - iii. Tiempo
    - iv. Grado de precisión, etc.
3. Explique que, en esta sesión, identificaremos y evaluaremos métodos específicos de análisis microbiológico y decidiremos cuándo usar cada uno.
4. Presente los objetivos de aprendizaje o haga un resumen de la lección.

## Métodos de análisis microbiológico



1. Recuérdeles a los participantes que hay distintas formas de analizar y que abordaremos los tres métodos principales de análisis microbiológico.
2. Presente los tres métodos principales de análisis microbiológico:
  - Presencia-ausencia (P-A): un análisis sencillo que indica contaminación en base a un cambio de color.
  - Número más probable (NMP): este método usa el mismo principio que el de presencia-ausencia, pero se realiza un cálculo aproximado de la cantidad de bacterias indicadoras que es más probable que haya en el agua.
  - Filtración por membrana (FPM): es el método más exacto para determinar la cantidad de bacterias en una muestra de agua y es el estándar reconocido internacionalmente.

3. Muestre ejemplos de cada método, haciendo circular entre los participantes distintos análisis o kits de muestra. Explique cómo se usa cada uno. *(Opcional) Use el archivo de PowerPoint "Métodos de análisis microbiológico" para esta presentación si no dispone de muestras de cada método de análisis.*

#### **Presencia-ausencia (P-A)**

- Es el método más simple.
- Consiste en agregar el agua de muestra a una botella que contiene el medio de cultivo y dejarlo reposar durante 24-48 horas.
- Si el organismo indicador está presente, cambiará el color.
- No indica la cantidad de bacterias.
- Si la muestra resulta positiva, se recomienda volver a analizarla usando el método de filtración por membrana para determinar la cantidad de bacterias.

#### **Método del número más probable (NMP)**

- Indica la cantidad de bacterias que es más probable que haya en la muestra de agua.
- Agregar la muestra de agua a 5-10 tubos de ensayo (o bandejas de 10-96 pocillos) que contienen el medio de cultivo.
- Incubar durante 24-48 horas.
- Es un método estadístico basado en la cantidad de tubos (o pocillos) positivos.
- Usando una tabla, se registra la cantidad de tubos positivos como la cantidad de colonias cada 100 mL de muestra (NMP/100 mL), donde NMP significa "número más probable".

#### **Filtración por membrana (FPM)**

- Es el método más preciso para contar bacterias (método reconocido a nivel internacional).
- Consiste en filtrar 100 mL de muestra de agua usando un equipo de filtración.
- Se agrega el medio de cultivo a una placa de Petri para que los organismos indicadores tengan nutrientes para proliferar.
- Se transfiere el papel filtro a la placa de Petri.
- Se incuba durante 24-48 horas, según el medio de cultivo utilizado.
- Si el organismo indicador está presente, las colonias aparecerán en el papel filtro y será posible contarlas.
- Los resultados se registran como la cantidad de colonias cada 100 ml de muestra de agua (UFC/100 ml), donde UFC significa "unidades formadoras de colonias".

4. Explíqueles a los participantes que, más adelante durante el taller, pondrán en práctica la técnica de filtración por membrana con sus muestras de agua.

## Evaluación de los métodos de análisis microbiológico



1. Explique que se dividirá a los participantes en grupos y debatirán sobre las ventajas y desventajas de los tres métodos de análisis.
2. Explique que cada grupo debería abordar el tema y prepararlo para presentar sus conclusiones antes de votar cuál es el método que creen que es más adecuado.
3. Divida a los participantes en seis grupos, luego de pedirles cuenten del 1 al 6, y júntelos en grupos por número (todos los 1 juntos, todos los 2 juntos, etcétera).
4. Asígnele un tema para debatir a cada grupo.
  - El grupo 1 debate sobre las ventajas del método de P-A.
  - El grupo 2 debate sobre las limitaciones del método de P-A.
  - El grupo 3 debate sobre las ventajas del método del NMP.
  - El grupo 4 debate sobre las limitaciones del método del NMP.
  - El grupo 5 debate sobre las ventajas del método de FPM.
  - El grupo 6 debate sobre las limitaciones del método de FPM.
5. Deles a los grupos 5 minutos para que deliberen y registren sus ideas.
6. Invite a los grupos correspondientes a que presenten sus ideas, comparando las ventajas y limitaciones de cada método de análisis.
7. Escriba las ideas en el rotafolio.
8. Agregue los puntos que no hayan mencionado (a modo de referencia, consulte la sección "Puntos clave" a continuación).
9. Invite a los participantes a que escriban los puntos importantes en su cuaderno de actividades.

### Puntos clave

- Ventajas del método de presencia-ausencia: 1) simple de comprender y usar; 2) resultados rápidos (dentro de 24 horas); 3) no requiere mucho equipamiento; 4) portátil y duradero en el terreno; 5) relativamente económico.
- Desventajas del método de presencia-ausencia: 1. No muestra la cantidad de bacterias que hay en la muestra; 2. No recomendado por la OMS para analizar aguas superficiales y fuentes comunitarias de agua sin tratamiento; 3. No recomendado para analizar la eficacia de las tecnologías de tratamiento del agua a nivel domiciliario (p. ej., el filtro de bioarena).
- Ventajas del método del número más probable: 1) resultados semicuantitativos; 2) simple de comprender y de usar; 3) relativamente económico; 4) puede utilizarse con agua turbia.
- Desventajas del método del número más probable: 1) es más trabajoso que el método de P-A; 2) requiere algo de capacitación; 3) se precisa contar con una incubadora y otros equipos; 4) las bandejas descartables generan muchos residuos.
- Ventajas de la filtración por membrana: 1) es posible contar la cantidad de bacterias; 2) es el método de análisis más preciso; 3) es el método reconocido a nivel internacional; 4) se pueden para analizar varias muestras al mismo tiempo.
- Desventajas de la filtración por membrana: 1. Es más trabajoso que el método del NMP y de P-A; 2. Requiere más capacitación; 3. Se necesitan más equipos; 4. Es posible que en muchos países el costo de los insumos sea elevado; 5. Más difícil de usar con agua turbia (se requiere dilución).

## Cuestionario de repaso



1. Explique que regresaremos a las situaciones hipotéticas de la actividad introductoria e identificaremos cuál es el análisis más adecuado para cada una.
2. Pregunte: "¿Qué método de análisis usarían en estas situaciones hipotéticas?".
3. Lea cada una de las situaciones hipotéticas y deles a los participantes unos minutos para que decidan y compartan su decisión.
  - Situación hipotética 1: "Usted está a cargo de implementar proyectos y se está perforando un pozo nuevo en un pueblo remoto. Desea ver si el pozo se desinfectó correctamente después de ponerlo en servicio, pero no puede salir hacia lugar con facilidad y no dispone de personal de laboratorio calificado. ¿Qué método de análisis microbiológico podría hacer que realice el perforador en el terreno?".
    - i. Presencia-ausencia
  - Situación hipotética 2: "Necesita verificar la eficacia de una tecnología de tratamiento del agua (p. ej.: el filtro de bioarena). Tiene a su disposición un técnico de análisis de la calidad del agua y un laboratorio. ¿Qué método de análisis microbiológico usaría?".
    - i. Filtración por membrana
  - Situación hipotética 3: "No dispone de equipos de laboratorio, pero necesita saber la cantidad aproximada de bacterias *E. coli* que contaminan una fuente de agua. ¿Qué método de análisis microbiológico usaría?".
    - i. Número más probable

Este documento es de contenido abierto y está elaborado bajo la licencia [Creative Commons Atribución-Compartir Igual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/). Consulte las guías de CAWST para distribuir, traducir, adaptar o citar los recursos de CAWST ([resources.cawst.org/cc](https://resources.cawst.org/cc)).

