Resumen de las actividades

40 minutos en total

Plan de lección 07

Métodos de análisis microbiológico

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

Rotafolio

Lecturas recomendadas

Resumen técnico: Aspectos microbiológicos del agua de consumo

5 minutos

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):
     1. Objetivos
     2. Recursos
     3. Tiempo
     4. 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.

15 minutos

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".

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

15 minutos

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).

5 minutos

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?".
     1. 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?".
     1. 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?".
     1. 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)). |  |