

Uso de medios selectivos como prueba preliminar para la búsqueda de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* en el agua de grifo de la sede principal y la granja La Esperanza de la Universidad de Cundinamarca

Use of selective media as a preliminary test for the search for *Salmonella* spp. *Escherichia coli* in the water of the main headquarters and the farm La Esperanza of the University of Cundinamarca

Jenny Paola Moreno López^{1*}, Juan Sebastián García¹, Jhon Edison Beltrán¹, Jhony Alexander Pardo¹

Resumen

Se usaron medios selectivos (Agar *Salmonella* – *Shiguel*, Eosin azul de Metileno y Agar verde Brillante) para evaluar la presencia de bacterias patógenas en muestras de agua recolectadas previamente del grifo de un baño en la Sede Principal y de la Granja La Esperanza de la Universidad de Cundinamarca. Se tomaron muestras de agua en la mañana (9:00 am) y en la tarde (2:00 pm). Para la determinación del número de colonias bacterianas presente en las muestras utilizadas se utilizó la técnica de recuento en placa y se sembraron en los medios selectivos mencionados anteriormente. No se encontraron colonias bacterianas en las muestras de agua tomadas en la Sede Principal de la Universidad, pero sí hubo crecimiento presuntamente de bacterias del género *Salmonella* y de *Escherichia coli* en el agar verde brillante con las muestras tomadas del grifo de la Granja La Esperanza en horas de la tarde.

Palabras clave: *Salmonella*, recuento en placa, agar verde brillante.

Abstract

We used selective media (*Salmonella* – *Shiguel* agar, Eosin methylene blue agar and brilliant green agar) for to assess the presence of pathogenic bacteria in water samples collected previously from a Tap of a bathroom at the main headquarters and la Esperanza farm of Universidad de Cundinamarca. Samples were taken of water in the morning (9:00 am) and in the afternoon (2:00 pm). For the determination of the number of bacterial colonies present in the samples we used the technique of plate count and samples were placed in the selective media previously mentioned. No bacterial colonies were found in water samples taken at the main headquarters of the Universidad de Cundinamarca, but if there was growth of bacterial colonies in the brilliant green agar presumably of *Escherichia coli* and *Salmonella* genera, with samples taken from the tap of the farm La Esperanza in the afternoon.

Key words: *Salmonella*, plate count, brilliant green agar.

Introducción

El agua es un recurso esencial para mantener un adecuado suministro de alimentos y un ambiente productivo de los seres humanos, animales, plantas y microorganismos a nivel mundial (1). El consumo de agua per cápita aumenta debido al crecimiento poblacional, ya que es utilizada en diferentes actividades humanas: consumo, limpieza, industria, agricultura entre otras. La cantidad de agua existente para todos los usos está comenzando a escasear, lo cual puede llevar a una crisis (2).

La presencia de bacterias en el agua para consumo se ha reconocido desde hace tiempo, siendo las bacterias patógenas las más estudiadas (3). Las bacterias que se encuentran con mayor frecuencia en el agua son las bacterias entéricas que colonizan el tracto gastrointestinal

del hombre y son eliminadas a través de la materia fecal (4). Desde la fuente hasta el grifo, las diferentes fases de los sistemas del agua de consumo ofrecen hábitats únicos donde crecen diversas comunidades microbianas (3).

El objetivo de este trabajo fue realizar pruebas preliminares mediante el uso de medios selectivos para la búsqueda de *Salmonella* spp. en el agua de grifo de dos baños, uno en la sede principal y otro en la granja La Esperanza de la Universidad de Cundinamarca.

Materiales y métodos

Localización

La toma de muestras de agua se llevó a cabo en las instalaciones de la Sede Principal (Municipio de Fusagasugá) y La Granja La Esperanza de la Universidad

¹ Programa de Ingeniería Agronómica. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cundinamarca – Sede Fusagasugá. *Correo: jpmoreno@mail.unicundi.edu.co

de Cundinamarca (Localizada en la vereda Guavio Bajo del Municipio de Fusagasugá, a una distancia de 12 kilómetros de la sede Principal). El trabajo se realizó en mayo de 2014.

Toma de muestras

Se tomaron muestras de agua de un grifo de baño escogido al azar, tanto de la Sede principal como de la Granja, en envases de vidrio estériles, que fueron marcados y llevados al laboratorio de microbiología de la universidad de Cundinamarca. Se realizaron muestreos en horas de la mañana (9:00 am) y de la tarde (2:00 pm). Las muestras se tomaron por triplicado.

Procesamiento de las muestras

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología y fitopatología de la Universidad de Cundinamarca, sede Fusagasugá. Con cada muestra debidamente rotulada se utilizó la técnica de recuento en placa estándar (5) y se realizó la siembra en medios selectivos para bacterias del género Salmonella (Agar Salmonella – Shiguella, Eosin azul de Metileno y Agar verde Brillante) Una vez sembradas las muestras de agua, se llevan a la incubadora por 24 horas a 36°C. Adicionalmente se hicieron tinciones de Gram a las colonias bacterianas encontradas.

Diseño estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones. Las variables evaluadas fueron la cantidad de colonias y de unidades formadoras de colonia por mililitro de agua (ufc.ml-1 de agua) presentes en cada medio de cultivo y en los diferentes horarios de la toma de la muestra. Los resultados fueron analizados usando el programa estadístico Info Stat/L® 2016 versión libre.

Resultados

Aislamiento de colonias bacterianas

Solo hubo presencia de colonias bacterianas en el agar verde brillante con muestras tomadas en la tarde (Tabla 1), Todas las colonias bacterianas encontradas eran de tamaño mediano, forma irregular, borde rizado, superficie lisa, de consistencia blanda, aspecto húmedo, color blanco. La tinción de Gram mostró que eran bacilos Gram negativos. El análisis de varianza de medidas no paramétricas (Kruskal wallis) mostró diferencias significativas (P-valor <0,0003) y la prueba comparaciones múltiples de Conover mostró que el único tratamiento diferente fue la siembra en Agar verde brillante, con las muestras recolectadas en la Granja La Esperanza, en horas de la tarde (Tabla 1) (fotografía 1 A y B).

Discusión

De acuerdo a los resultados se podría inferir que las bacterias encontradas posiblemente pertenezcan a la familia entorobacteriaceae. De acuerdo al fundamento del medio agar verde brillante las colonias de Salmonella (con excepción de Salmonella typhi) se ven de color rosado a

rojo, rodeadas por una zona roja en el agar, indicando fermentación de sacarosa y lactosa. Las colonias de Escherichia coli se ven de color amarillo a verde (6)(7), al igual que las colonias aisladas en este trabajo (Fotografía 1 A y B), pero esta no es una prueba contundente que permita la identificación de los microorganismos encontrados. Aunque en los agares Salmonella – Shiguella y Eosina azul de metileno también se puede observar el crecimiento de algunas especies de Salmonella y E. coli (8), no es claro por qué no se presentó crecimiento, por lo tanto, sería recomendable realizar la caracterización bioquímica y molecular de las bacterias encontradas y utilizar otras metodologías de aislamiento primario.

Procedencia de la muestra	Hora de la toma de la muestra	Medio selectivo	Colonias encontradas	ufc.ml-1
Baño campus Fusagasugá	8:00	Agar Salmonella - Shiguella	0	0
Baño campus Fusagasugá	8:00	Agar Eosin azul de metileno	0	0
Baño campus Fusagasugá	8:00	Agar verde brillante	0	0
Baño campus Fusagasugá	8:00	Agar verde brillante	0	0
Baño campus Fusagasugá	14:00	Agar Salmonella - Shiguella	0	0
Baño campus Fusagasugá	14:00	Agar Eosin azul de metileno	0	0
Baño campus Fusagasugá	14:00	Agar verde brillante	0	0
Baño Granja La Esperanza	8:00	Agar Salmonella - Shiguella	0	0
Baño Granja La Esperanza	8:00	Agar Eosin azul de metileno	0	0
Baño Granja La Esperanza	8:00	Agar verde brillante	0	0
Baño Granja La Esperanza	14:00	Agar Salmonella - Shiguella	0	0
Baño Granja La Esperanza	14:00	Agar Eosin azul de metileno	0	0
Baño Granja La Esperanza	14:00	Agar verde brillante	5	5 x 10 ⁵

Tabla 1. Número de colonias y unidades formadoras de colonia por mililitro de agua encontradas en las muestras tomadas



Figura 1a y 1b. Crecimiento de colonias bacterianas en el medio Agar verde brillante

Hay varias enfermedades que pueden ser diseminadas a través del agua y que son causadas por la presencia de bacterias patógenas y otros microorganismos presentes en los suministros de este líquido (9). Las bacterias patógenas son difíciles de detectar en muestras de agua que han sido tratadas adecuadamente, si se llegaran a presentar su número sería muy bajo (9). En el presente trabajo se encontraron 5 colonias (5×10^5 UFC), pertenecientes posiblemente a dos géneros bacterianos y solo en un momento del día. Aunque este número es bajo, según los parámetros de la organización mundial de la salud (10) el agua para consumo no debe contener ninguna unidad formadora de colonia de *E. coli* en 100 mL de muestra y según el IDEAM (11) no debe haber presencia de coliformes totales ni de *E. coli* en 100 mL de muestra, utilizando la técnica de filtración por membrana.

El agua apta para consumo humano y doméstico puede contaminarse cuando entra al sistema de distribución, a través de conexiones cruzadas, tuberías dañadas, conexiones domiciliarias, cisternas y reservorios defectuosos, grifos dañados y durante el tendido de nuevas tuberías o reparaciones realizadas sin las mínimas medidas de seguridad, entre otros factores; de igual manera la ausencia de tratamiento y mantenimiento predisponen a este fenómeno (12)(13). El agua para consumo de la granja La Esperanza proviene de un acueducto veredal, que a su vez es captada de un nacedero. Una vez entra al predio ingresa a un tanque de reserva. Como la muestra fue tomada del grifo de un baño pudo haber contaminación en este punto en el momento de la toma de la muestra. Debido a que hubo presencia de bacterias se sugiere realizar otras evaluaciones para descartar contaminación en otros puntos del sistema de distribución ya que la temperatura del agua, el tiempo de residencia, el material de las tuberías, entre otros (14).

Conclusiones

En el agua muestreada en el baño de la Sede principal de la Universidad de Cundinamarca no se encontró ningún tipo de bacterias patógenas como coliformes y *E. coli*. Por otro lado, en las aguas suministradas al baño de hombres de la Granja La Esperanza de la Universidad Cundinamarca se encontró presencia de bacterias, posiblemente *E. coli* y *Salmonella* spp., en la toma de muestras en la tarde lo que indica que puede que esta agua no sea bien tratada o que se contaminó en algún punto del sistema de distribución. Se recomienda repetir este estudio, ampliando el número de muestras y de horarios de toma de muestras, en un

periodo mayor de tiempo y con otras metodologías de procesamiento de las muestras.

Agradecimientos

Alberto Suárez, encargado del laboratorio de Microbiología, Universidad de Cundinamarca.

Bibliografía

1. Pimentel D, Berger B, Filiberto D, Newton M, Wolfe B, Karabinakis E, et al. *Water Resources : Agricultural and Environmental Issues*. 2013;54(10):909–18.
2. ONU. La situación La crisis mundial del agua [Internet]. UNESCO/Mundi-Prensa Libros, editor. Agua para todos, agua para la vida. Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo. 2003. Available from: <http://www.un.org/esa/sustdev/sdissues/water/WWDR-spanish-129556s.pdf>
3. Proctor CR, Hammes F. Drinking water microbiology — from measurement to management. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2015;33(Figure 1):87–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2014.12.014>
4. Campos-Pinilla C, Cárdenas-Guzmán M, Guerrero-Cañizares A. Performance of Faecal Contamination Indicators in Different Type of Waters From the Sabana of Bogotá (Colombia). *Univ Sci*. 2008;13:103–8.
5. Rojas-triviño A. Conceptos y práctica de microbiología general. Universidad Nacional de Colombia. 2011. 1-161 p.
6. Atlas R. Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition [Internet]. 2010. 978-1-4398-0408-7 (Ebook-PDF) p. Available from: <http://www.crcnetbase.com/doi/book/10.1201/EBK1439804063>
7. Beckton Dickinson. BBLTM Brilliant Green Agar [Internet]. 2012. Available from: [https://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8806221\(02\)\(201202\).pdf](https://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8806221(02)(201202).pdf)
8. Koneman E (et al). *Koneman Diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color*. 6th ed.
9. Ratnayaka DD, Brandt MJ, Johnson KM. {CHAPTER} 6 - Chemistry, Microbiology and Biology of Water. In: *Water Supply (Sixth Edition)* [Internet]. 2009. p. 195–266. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780750668439000147>.
10. Gordon B, Callan P, Vickers C. WHO guidelines for drinking-water quality. [Internet]. Vol. 38, WHO chronicle. 2008. 564 p. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4053895&tool=pmcentrez&rendertype=abstract%5Cnhttp://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf%5Cnhttp://whqlibdoc.who

int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf?ua=1

11. Navarro MO, Gaitan S, Duque ME. Determinación de Escherichia coli Y coliformes totales en agua por el metodo de filtración por membrana en Agar Chromocult. Vol. 3, Ideam. 2007.
12. OMS. Guidelines for Drinking-water Quality [Internet]. Vol. 23, Atención Primaria. 2006. Available from: http://201.147.150.252:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1262/Investigao_e_evolutio.pdf?sequence=1
13. Hernández García J. Potabilidad del agua en Acueductos de San Juan y Martínez Provincia Pinar del Río. 2009- 2010. Rev Ciencias Médicas Pinar del Río [Internet]. 2012;16(3):39-50. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000300006&lang=pt
14. Prest EI, Hammes F, van Loosdrecht MCM, Vrouwenvelder JS. Biological stability of drinking water: Controlling factors, methods, and challenges. Front Microbiol. 2016;7(FEB):1-24.