



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

“ESTUDIO DE PLATA COLOIDAL COMO
DESINFECTANTE DE AGUA POR NORMAS
OFICIALES MEXICANAS Y POR MICROSCOPIA
ELECTRONICA EN *Escherichia coli* y
Streptococcus suis.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
SILVERIO MENDOZA DONIS

ASESORES: DRA. SUSANA MENDOZA ELVIRA
DR. ABEL CIPRIAN CARRASCO
DR. ELISEO HERNANDEZ BAUMGARTEN
MC NATHALIEL SOTO GUEVARA
MC SOFIA GONZALEZ GALLARDO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

2005

m. 344953



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Estudio de plata coloidal como desinfectante de agua por normas oficiales Mexicanas y por microscopia electronica en Escherichia coli y Streptococcus suis."

que presenta el pasante: Silverio Mendoza Donis
 con número de cuenta: 09853480-3 para obtener el título de:
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de Noviembre de 2004.

PRESIDENTE	<u>QFI. Andrea A. Becerril Osnaya</u>	<u>Andrea A. Becerril Osnaya</u>
VOCAL	<u>DRA. Sofia González Gallardo</u>	<u>Sofia González Gallardo</u>
SECRETARIO	<u>DRA. Susana E. Mendoza Elvira</u>	<u>Susana E. Mendoza Elvira</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>QFB. René Damian Santos</u>	<u>René Damian Santos</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MC. Amparo Londoño Orozco</u>	<u>Amparo Londoño Orozco</u>

**ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE
POSGRADO DE VIROLOGIA Y MICROSCOPIA
ELECTRONICA DE LA FES CUAUTITLAN UNAM.**

DEDICATORIAS

A mis padres Lidia y Delfina, hermanos: Roberto y Julio, y tía Lucina
Por todo su apoyo y cariño que me han dado.

A Lety y Sofía
Por su apoyo y cariño.

A los Dra. Susana, Eliseo y Abel
Por haberme brindado su confianza y apoyo en mi trabajo.

A M. En C Nataliel, M. En C Sofía, QFB Rosario, Prof. David Trujillo
Por su amistad y apoyo.

A la QFB Arcebia Grajales

A las profesoras Alma R., Lupita, Norma D., Idalia A., Benice, Amparo L., René D., Andrea B.

A mis amigos de infancia: Miguel, Jorge, Carlos, Juan, Salvador, Guillermo, Alejo, Paulino, Roberto, Edgar,
Nancy, Agustín y Liz.

A mis amigos de la FESC: Freddy, Violeta, Edgar, Víctor, Oswaldo, Félix, Marco, Blanca, Arturo, Concha,
Jorge, Alejandro.

La U de B: Cesáreo, Lenin, Luis H., Erick Luis M., Álvaro, Eric S Anaceli, Beta,
Yolanda, Santa, Nadia, Angel, Tania G, Abnín, Omar, Ivchel, Alma, Miriam, Raúl, Ricardo, Rogelio,
Rocio, Ma. Elena, Domingo.

A mis otros amigos: Estela y Orlando, Lilitana y Hnos., Benice, Esther, Isabel, Esperanza, José, Carmen,
Rigoberto, Eduardo, Joel, Edwin, Lupita

A todos mis primos y tíos.

INDICE

PAG.

RESUMEN.....	i
1. INTRODUCCION	
1.1 EL AGUA.....	1
1.2 PATOGENOS BACTERIANOS Y ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL AGUA.....	2
1.3 MODOS DE TRANSMISIÓN.....	5
1.4 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS.....	6
1.5 DETERMINACIÓN DEL NUMERO DE BACTERIAS.....	7
1.6 NORMAS OFICIALES MEXICANAS.....	9
1.7 ESTANDARES REVISADOS POR LAS ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS).....	11
1.8 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-181-SSA1-1008, SALUD AMBIENTAL. AGUA PARA CONSUMO HUMANO. REQUISITO SANITARIO QUE DEBEN DE CUMPLIR LAS SUSTANCIAS GERMICIDAS PARA EL TRATAMIENTO DEL AGUA, TIPO DOMESTICO.....	12
1.9 CARACTERISTICAS DEL AGUA POTABLE.....	13
1.10 DESINFECCIÓN.....	14
1.11 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DESINFECCIÓN.....	15
1.12 SALES METALICAS COMO BACTERICIDAS.....	15
1.13 DEFINICIÓN DE COLOIDE.....	15
1.14 PLATA COLOIDAL.....	16
1.15 EFECTOS DE LA PLATA COLOIDAL EN MICROORGANISMOS INDICADORES Y PATOGÉNICOS.....	16
1.16 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA PLATA COLOIDAL.....	16
1.17 IMPORTANCIA EN LA SALUD LOS PRODUCTOS DE PLATA COLOIDAL.....	17
1.18 EFECTOS TOXICO DE LA PLATA COLOIDAL.....	17
1.19 MICROSCOPIA ELECTRONICA.....	17
1.20 MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISIÓN(MET).....	19
1.21 TINCIÓN NEGATIVA.....	20
1.22 JUSTIFICACIÓN.....	22
1.23 HIPOTESIS.....	23
2. OBJETIVOS.....	24
3. METODOS	
3.1. METODOLOGIA	
3.11 IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS.....	25
3.12 PREPARACIÓN DEL CULTIVO DE REFERENCIA.....	25
3.13 PREPARACIÓN DEL SUBCULTIVO.....	25
3.14 PREPARACIÓN DE LAS SUSPENSIONES BACTERIANAS.....	25
3.15 PREPARACIÓN DEL AGUA DE PRUEBA.....	26
3.16 DESARROLLO DE LA PRUEBA.....	26
3.17 TOMA DE MUESTRA.....	26
3.18 PROCEDIMIENTO PARA EL RECuento EN PLACA.....	26
3.19 CÁLCULOS PARA DETERMINAR EL PORCENTAJE DE REDUCCIÓN BACTERIANA.....	27
3.20 TINCIÓN NEGATIVA.....	28
3.21 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	28
3.22 TÉCNICA DE TINCIÓN NEGATIVA.....	28
3.23 DIAGRAMA DE FLUJO.....	29
4. RESULTADOS.....	31-43
5. DISCUSIÓN.....	44-45
6. CONCLUSIONES Y COMENTARIOS.....	46-47
7. APÉNDICES.....	48-49
8. BIBLIOGRAFIA.....	50-52

RESUMEN

Se evaluó el efecto bactericida de la plata coloidal según normas oficiales Mexicanas. Los resultados de este trabajo mostraron que la plata coloidal no es un buen desinfectante de agua. En la prueba de conteo en placa, cuando se utilizaron un promedio de 5×10^3 a 10×10^3 UFC/ml de *Escherichia coli* ATCC11229, *Escherichia coli* caso clínico y *Streptococcus suis* caso clínico se comprobó la capacidad desinfectante de la plata coloidal con una reducción en promedio de los tres tipos (Colargol, Argylol y Protargol) de desinfectantes utilizados de un 50%, dejando agua de potabilidad no aceptable, y la normatividad nos dice que para ser aceptado por esta debe de matar al 95.0 % del las bacterias, de acuerdo con las especificaciones de la NOM-181-SSA1-1998.

Con la microscopia electrónica observamos un efecto deformante en todas las bacterias, pero esto no impide su crecimiento como en el caso de la *Escherichia coli* ATCC 11229.

1.INTRODUCCION

1.1. EL AGUA

El volumen total de agua en el mundo permanece constante, lo que cambia es la calidad y la disponibilidad. El agua está constantemente reciclándose, este es un sistema conocido como el ciclo del agua o ciclo hidrológico. Los hidrólogos estudian la naturaleza física y química del agua y sus movimientos tanto bajo la tierra como en la superficie. En términos de volumen total, el 97.5% del agua del mundo es salina con un 99.99% de ella se encuentra en los océanos, el resto forma los lagos salinos. Esto significa que solamente el 2.5% del volumen del agua en el mundo es actualmente agua no salina. Sin embargo, no toda esta agua dulce está disponible para el consumo humano. Alrededor del 75% de esta agua dulce está inmovilizada en los casquetes polares y en los glaciares, además un 24% está localizada en el subsuelo como agua subterráneas, lo que significa que menos de un 1% del total del agua dulce se encuentra en lagos, ríos y en el suelo. Por lo tanto, solamente se cuenta con el 0.01% del agua del mundo en lagos y ríos, con otro 0.01% presente como humedad en el suelo pero sin disponibilidad como abastecimiento para los humanos.

El agua se contamina rápidamente tanto con las sustancias naturales como con las producidas por el hombre, generalmente convirtiendo el agua en inadecuada para su consumo, sin algún tipo de tratamiento. Los grupos importantes de factores que pueden considerarse indeseables son: color, materia suspendida, turbidez, patógenos (pueden ser virus, bacterias, protozoos u otro tipo de organismos patógenos que pueden afectar negativamente a la salud del consumidor, pueden provenir de de las excretas tanto de humanos como de animales que eliminación directa o accidental), dureza, sabor y olor y además de productos químicos nocivos.^{1, 4}

El objetivo del tratamiento del agua es producir un adecuado y continuo suministro de agua que es química, bacteriológico y estéticamente agradable. Más específicamente, la potabilización del agua debe producir agua que sea: grata, (sin sabores desagradables), saludable (sin ningún organismo patógeno o producto químico nocivo para el consumidor), limpia (libre de materia suspendida y turbidez), sin color y sin olor, razonablemente blanda, no corrosiva y con bajo contenido de materia orgánica.^{1, 2}

En México se han publicado en el Diario Oficial de la Federación gran número de Normas Oficiales Mexicanas (NOM) en donde, algunas detallan que el agua debe cumplir con ciertos parámetros establecidos por medio de un sin número de pruebas de laboratorio. La normatividad también exige que las compañías de suministro de agua potable brinden agua apta a los consumidores y define claramente que significa este término.³

Los consumidores esperan tener en sus grifos agua limpia y saludable las 24 horas del día. Aunque el agua que es antiestética, por ejemplo debido al color o la turbidez, puede ser perfectamente sana para beber, los consumidores considerarán que no es apta para beber y probablemente peligrosa para la salud. Los problemas no se originan solamente en la distribución, sino también durante el tratamiento, almacenamiento y en el hogar de consumidores.

Las plantas de tratamiento de agua deben ser capaces de tener una producción final con una considerable alta calidad independientemente de cual sea la demanda. Con la excepción de aguas subterráneas puras, todas las aguas suministradas requieren una purificación. Aunque en teoría el agua más sucia se puede purificar hasta calidad de agua potable, en la práctica incluso el tratamiento de agua relativamente pura para producir un agua final de una calidad estable y en suficiente volumen, es técnicamente más difícil. El tratamiento del agua consiste en una serie de pasos los cuales operan generalmente en serie. Cuanto más limpia sea el agua bruta menores son los pasos o los procesos que se requieren, y por lo tanto el costo total del agua es menor.¹

1.2. PATOGENOS BACTERIANOS Y ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL AGUA.

Varios organismos infecciosos pueden causar enfermedad en humanos. Esos agentes incluyen bacterias, hongos, protozoarios, helmintos, rickettsias y virus.

La evaluación del agente infeccioso se basa en su virulencia o su potencial para causar enfermedad. La virulencia esta relacionada con la dosis del agente infeccioso necesaria para infectar al hospedero y causar la enfermedad. El potencial de causar la enfermedad también depende de la estabilidad del agente infeccioso en el medio ambiente. La dosis mínima infectiva (DMI) varía dependiendo del tipo de patógeno o parásito. Por ejemplo para *Salmonella typhi* o *Escherichia coli* enteropatogénica son necesarios de miles a millones de microorganismos para establecer la infección, mientras que la DMI de *Shigella* puede ser tan baja como 10 microorganismos. Unos pocos quistes de protozoarios o huevos de helmintos pueden ser suficientes para establecer la infección. Para algunos virus, solo uno o unas pocas partículas virales son suficientes para infectar al individuo (Tabla 1)³

Tabla 1. Dosis Mínima Infecciosa para algunos patógenos y parásitos³

Organismo	Dosis Mínima Infecciosa
<i>Salmonella spp.</i>	10 ⁴ a 10 ⁷
<i>Shigella spp.</i>	10 ¹ a 10 ²
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶ a 10 ⁸
<i>Vibrio cholerae</i>	10 ³
<i>Giardia lamblia</i>	10 ¹ a 10 ² quistes
<i>Cryptosporidium</i>	10 ¹ quistes
<i>Entamoeba coli</i>	10 ¹ quistes
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1-10 huevos
Hepatitis A	1-10 UFP

Las enfermedades transmitidas por el agua se propagan por la misma contaminada por material biológico entre los que se presentan: heces u orina humana o animal; la infección ocurre cuando el organismo patógeno llega al agua que consume una persona susceptible. La mayoría de las enfermedades en esta categoría, el cólera, la tifoidea, la disentería bacilar, etc., siguen una ruta clásica de transmisión fecal-oral y los brotes se caracterizan porque enferman simultáneamente varias personas que toman de la misma fuente de agua.

La materia fecal contiene más de 10¹² bacterias/gramo. El contenido bacteriano de las heces representa aproximadamente 30% del peso húmedo. Las bacterias que se han caracterizado, y pertenecen a los siguientes grupos:

1. Bacterias Gram negativas anaerobias facultativas (p. Ej. *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Shigella*)
2. Bacterias Gram negativas aerobias (p. ej. *Pseudomona*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*)
3. Bacterias Gram positivas formadoras de esporas (p. ej. *Bacillus*)
4. Bacterias Gram positivas no formadoras de esporas (p. ej. *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*)⁵

Debido a la gran importancia que tiene el agua en la vida del hombre, si está contaminada, se convierte en un medio con gran potencial para transmitir una amplia variedad de enfermedades. En el mundo desarrollado las enfermedades hídricas son raras, a lo que se debe esencialmente a la presencia de sistemas eficientes de abastecimiento de agua y eliminación del agua residual. Sin embargo en el mundo en vías de desarrollo, tal vez cerca de 2000 millones de personas no cuentan con abastecimiento de agua seguro y saneamiento adecuado. Como resultado, las enfermedades hídricas en estas áreas alcanzan cifras escalofriantes.⁶

Hay enfermedades infecciosas, como se muestran en la Tabla 2, en cuya incidencia puede influir el agua. La causa de estas enfermedades puede tener su origen en bacterias, virus, protozoarios o gusanos. Su control y detención tiene como fundamento la naturaleza del agente causante, aunque es más útil tomar en consideración los aspectos relacionados con el agua en la diseminación de la infección.⁶

Tabla 2. Principales enfermedades relacionadas con el agua⁶

Enfermedad	Tipo de relación con el agua
Cólera Hepatitis infecciosa A Leptospirosis Paratifoidea Tularemia Tifoidea Rotavirus polio	Transmitida por el agua
Disentería amibiana Disentería bacilar Gastroenteritis	Por el agua o por el agua para el aseo personal
Ascariasis Conjuntivitis (acantamebas) Enfermedades diarreicas Lepra Sarna Sepsis y úlcera de la piel Tiña Tracoma	Por el agua para aseo
Gusano de Guinea Esquistosomiasis	Desarrolladas en el agua
Paludismo Oncocercosis Enfermedad del sueño Fiebre amarilla Deengue	Insectos vectores relacionados con el agua

La calidad del agua potable disponible para el uso público es lo más importante para cada uno de nosotros. Los sistemas de distribución del agua municipal y rural pueden transmitir enfermedades humanas tales como cólera (*Vibrio cholerae*), fiebre tifoidea (*Salmonella typhi*) shigellosis (*Shigella* spp), salmonelosis (*Salmonella* spp.), y

gastroenteritis (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*). La amenaza de la transmisión de tales enfermedades debido al crecimiento poblacional. ⁷

Las bacterias más importantes que pueden ser patógenas para el humano y que pueden ser transmitidas directa o indirectamente a través del agua contaminada es presentada en la Tabla 3. ^{5,9}

Tabla 3. Agentes patógenos causantes de las principales enfermedades bacterianas¹

Agente bacterial	Enfermedad principal	Reservorio principal	Sitio principalmente afectado
<i>Salmonella typhi</i>	Fiebre tifoidea	Heces humanas	Tracto gastrointestinal
<i>Salmonella paratyphi</i>	Fiebre paratifoidea	Heces humanas	Tracto gastrointestinal
<i>Shigella</i>	Disentería bacilar	Heces humanas	Intestino bajo
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Heces humanas	Tracto gastrointestinal
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	Gastroenteritis	Heces humanas	Tracto gastrointestinal
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastroenteritis	Heces humanas/animales	Tracto gastrointestinal
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis	Heces humanas/animales	Tracto gastrointestinal
<i>Legionella pneumophila</i>	Enfermedad aguda respiratoria (enfermedad de los Legionarios)	Aguas termales	Pulmones
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculosis	Exudados respiratorios humanos	Pulmones
<i>Leptospira</i>	Leptospirosis (enfermedad de Weil)	Heces y orina de animales	Generalizado
Bacterias oportunistas	Variable	Agua natural	Principalmente tracto gastrointestinal

1.3. MODO DE TRANSMISIÓN

La transmisión involucra el transporte de un agente infeccioso de un reservorio a un hospedero. Esta es el más importante eslabón en la cadena de la infección. Los patógenos pueden ser transmitidos de un reservorio a un hospedero susceptible por varias rutas, por ejemplo persona a persona, agua, alimentos, aire, vectores, parenteral, etc. ⁵

Las bacterias son el grupo más importante en cuanto a frecuencia de detección en el agua y de epidemias de enfermedades registradas. Las enfermedades por bacterias más importantes están comúnmente asociadas con la contaminación fecal del agua. Por ejemplo, en regiones templadas éstas incluyen *Salmonella* (tifoidea y paratifoidea), *Campylobacter*, *Shigella* (disentería bacteriana), *Vibrio cholerae* (cólera), *Escherichia coli* (gastroenteritis) y *Mycobacterium* (tuberculosis), como se vio en la Tabla 3. ¹

1.4. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE PATÓGENOS

El aislamiento y la identificación de organismos patógenos individuales son complejos, siendo diferente para cada especie, y extremadamente lento. Estos microorganismos patógenos pueden no estar presentes en el agua todo el tiempo, y pueden estar presentes solamente en un número muy pequeño. Por lo tanto, no se acostumbra, examinar todas las muestras de agua de modo rutinario para determinar la presencia o ausencia de todos los patógenos. También, la selección de un patógeno en concreto puede ser engañosa ya que cada especie puede tolerar diferentes condiciones ambientales. Para examinar rutinariamente los suministros de agua se requiere una prueba rápida y preferiblemente sencillo. Es mucho más importante examinar los suministros de agua frecuentemente por medio de un sencillo una prueba general ya que la mayoría de los casos de contaminación de los suministros de agua ocurre infrecuentemente. Idealmente, un organismo indicador debiera tener las siguientes características:

- ♣ Ser fácilmente detectado e identificado,
- ♣ Ser del mismo origen que los patógenos (p. ej. del intestino),
- ♣ Estar presente en mucho mayor número que los patógenos, y
- ♣ Ser no patógeno por sí mismo.¹

Los organismos no patógenos que están siempre presentes en el intestino de los humanos y animales se excretan junto con los patógenos, pero en mucho mayor número. Varios de estos son fácilmente cultivables y son ideales para utilizarlos como indicadores de contaminación fecal. Los más ampliamente utilizadas son las bacterias no patógenas, en particular los coliformes, estreptococos fecales y los clostridios sulfato reductores. Estos tres grupos son capaces de sobrevivir durante diferentes periodos de tiempo en el medio acuático. Los estreptococos fecales mueren rápidamente fuera del hospedero y su presencia es un indicador de una contaminación reciente. *Escherichia coli* (coliformes fecales) puede sobrevivir durante varias semanas bajo condiciones ideales y es fácilmente detectada que la otra bacteria indicadora.¹

Debido al tiempo y lo difícil de aislar directamente e identificar a los patógenos humanos relevantes que se mencionaron anteriormente. Entonces la bacteria que más satisface ese criterio es *Escherichia coli*. Este es un miembro del grupo de los coliformes. El grupo coliforme comprende todos los aerobios y anaerobios facultativos Gram. negativo, no esporulados, forma cocobacilar que fermenta la lactosa con formación de gas a las 48 hrs de incubación a 35°C. No todos los coliformes provienen siempre de las heces humanas, el conteo total de coliformes es usado como un índice de población. Los coliformes totales incluyen un amplio rango de microorganismos que pueden no tener su fuente primaria en el tracto intestinal. Esto es razonado si muchos coliformes están presentes en una muestra de agua dada, entonces esto puede enmascarar a los patógenos entéricos que también pueden estar presentes.⁹

La NORMA oficial Mexicana (PROY-NOM-201-SSA1-2000) tiene un grupo de estándares para el agua potable, donde las especificaciones sanitarias expresan que se considera de buena calidad cuando no se detectan coliformes totales ni fecales.^{4, 11, 12.}

1.5. DETERMINACION DEL NÚMERO DE BACTERIAS

Los coliformes se cuentan en el agua potable para determinar su calidad y se realiza por dos diferentes técnicas. La primera cualitativa en el que el Número Más Probable (NMP) de coliformes es determinado por el uso de caldo lactosado o caldo lauril triptosa en tubos de fermentación. La segunda técnica estándar para medir la densidad de coliformes en el agua es la técnica de filtración por membrana, la cual tiene un valor cuantitativo. Ambas técnicas siguen las recomendaciones de la American Public Health Association en su *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.^{5, 9}

La cuenta de coliformes totales es una medida de todos los coliformes presentes. La *Escherichia coli* es exclusivamente fecales en origen y están presentes en las heces frescas en un número superior a 10^{12} /gramo. Los otros coliformes son normalmente habitantes del suelo y aguas aunque pueden también aparecer en las heces. La presencia de coliformes en el agua potable no implica que haya contaminación fecal, aunque en la práctica se asume que los coliformes son de origen fecal a no ser que se pruebe de otra manera. Por lo tanto es importante confirmar si la *Escherichia coli* está presente. Esto se hace conjuntamente con la cuenta de coliformes. En la práctica se informa de dos cuentas de coliformes: la cuenta de coliformes totales y la cuenta de coliformes fecales (*Escherichia coli*).¹

Se ha resumido la interpretación de los resultados de coliformes como sigue: Donde está presente *Escherichia coli* en gran número, la conclusión es que ha ocurrido una fuerte y reciente contaminación por aguas residuales humanas o animales. Si el número de *Escherichia coli* es bajo, esto se interpreta como que la contaminación del mismo origen no es muy reciente o menos severa. Si se observan coliformes sin *Escherichia coli* la indicación es que la contaminación es tanto reciente y de origen no fecal o remota y de origen fecal tal que los coliformes fecales no ha sobrevivido. No obstante, si se encuentra cualquier coliforme en un suministro de agua potable tratada, seguida de cloración, se debe concluir que o se está aplicando un tratamiento inadecuado o que la contaminación se ha introducido durante la distribución del agua, o en la toma y/o manejo de la muestra. Cualquier indicación de contaminación, por ligera que sea, debe ser considerada como materia grave y las circunstancias investigadas inmediatamente.¹

En muchas situaciones es necesario calcular la cantidad de microorganismos presentes en una muestra de agua, así la estimación del número de bacterias vivas (recuento celular viable) en una muestra de agua se obtiene con un conteo de placa y

con el uso de un medio nutriente de agar. Una muestra de 1 mL del agua, diluida si es necesario, se mezcla con agar a 40°C en una caja Petri. El agar se solidifica como gelatina y fija así las células bacterianas en posición. Entonces la placa se incuba en condiciones apropiadas a 24 horas a 37°C para bacterias que provienen del hombre o de animales. Al final del periodo de incubación las bacterias habrán producido colonias visibles a simple vista y se supone que el número de colonias es una función de las células viables en la muestra original. En la práctica los recuentos en placa no dan la población total de una muestra, ya que ninguna combinación de medio y temperatura permitirá que todas las bacterias se reproduzcan.¹

Para determinar la presencia de un género particular o especie de bacteria es necesario observar como se comporta en un medio selectivos o en condiciones óptimas de incubación, y que sean adecuados únicamente para la bacteria que se investiga. Muchas enfermedades graves están relacionadas con la contaminación microbiológica del agua, contaminación que se debe en su mayoría a bacterias patógenas excretadas por gente que sufre o porta el microorganismo. Aún cuando es posible examinar el agua para detectar la presencia de un patógeno específico, una prueba más sensible emplea como organismo indicador la bacteria *Escherichia coli*, que es un habitante normal del intestino humano y que se excreta en grandes cantidades. Su presencia en el agua indica contaminación por excreta y la muestra se clasifica como potencialmente peligrosa pues también podrían estar presentes bacterias fecales patógenas. Las bacterias coliformes en general tienen la capacidad de fermentar la lactosa, fermentación que produce ácido y gas. La detección de coliformes se efectúa por medio de lactosa (caldo de MacConkey) con diluciones de diferente concentración que se inoculan con la muestra. La aparición de ácido y gas después de 24 horas de incubación a 37 °C, se toma como indicación positiva de la presencia de bacterias coliformes; con la ayuda de tablas estadísticas el resultado se expresa como el Número Más Probable/100 mL. Para comprobar positivamente la presencia de *Escherichia coli*, se subcultivan tubos positivos en un medio caldo Lauril por 24 horas a 44°C, en cuyas condiciones sólo crece la *Escherichia coli* para producir ácido y gas.^{5,9}

Otra alternativa es utilizar el medio de cultivo caldo lauril sulfato con 4-metilumbeliferil-B-D-glucuronido donde se inocula dicho medio, con muestra y se incuba por 24 hrs. a 35°C. La apariencia, bajo luz normal, de una muestra clara es indicadora de un resultado negativo para coliformes totales; la apariencia, bajo luz normal, de una muestra de color amarillo es indicadora de un resultado positivo para coliformes totales, y la fluorescencia, color azul fluorescente bajo luz ultravioleta, es indicadora de un resultado positivo para coliformes totales y coliformes fecales.⁹

El método de conteo en placa es usado en las plantas de tratamiento de agua de acuerdo a las siguientes indicaciones:

1. Medición de la eficacia de los diferentes procesos del tratamiento. Incluyendo la desinfección, en una planta de tratamiento de agua.

2. Monitoreo de la calidad bacteriológica del agua final durante el almacenaje y distribución.
3. Determinar el crecimiento bacteriano en la superficie de materiales usados en el tratamiento y los sistemas de distribución.
4. Determinación del potencial de desarrollo o crecimiento posterior en el agua tratada en los sistemas de distribución.⁵

1.6. NORMAS OFICIALES MEXICANAS

En México se han publicado en el Diario Oficial de la Federación un gran número de Normas Oficiales Mexicanas (NOM) en donde, algunas detallan aspectos importantes que el agua debe cumplir con ciertos parámetros establecidos por medio de un sin número de pruebas de laboratorio. Dichas normas exigen que las compañías de suministro de agua potable brinden agua para uso y consumo humano libre de organismos patógenos a los consumidores.

Lo Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-201-SSA1-2000 tiene un grupo de estándares para el agua potable, las sustancias y equipos que se utilicen en la desinfección del agua deben lograr como mínimo un porcentaje de reducción de organismos coliformes totales de 99,99%. El equipo, tuberías, tanques de almacenamiento o cualquier otra superficie que entre en contacto directo con el producto o materia prima se deben limpiar y desinfectar con la frecuencia que determinen las condiciones del establecimiento, proceso y equipo de tal forma que se garantice la eliminación de riesgos asociados. Las cisternas o tanques de almacenamiento deben estar protegidos contra la contaminación, corrosión y permanecer tapados. En el caso de las cisternas, las tapas deben estar a una altura mínima de 10 centímetros del piso y su diseño debe evitar la entrada de agua, materia extraña o polvo al interior. Las paredes interiores de las cisternas o tanques deben ser o estar revestidas en su totalidad de material impermeable no tóxico, liso y fácil de lavar y desinfectar, las uniones deben ser fáciles de limpiar. En caso de que la cisterna o tanque de almacenamiento de producto terminado cuente con respiradero, éste debe contar como mínimo con un filtro que impida la contaminación del producto, Además de lo establecido en la NOM-026-STPS-1998 del Apartado de referencias, las tuberías que conduzcan agua en distintas etapas del proceso o fluidos diferentes de ésta, se deben identificar de acuerdo con el código propio de la empresa, que debe proporcionarse durante la verificación. Cualquier forma de identificación debe ser visible para el personal.

Deben existir procedimientos escritos para la realización de las operaciones de limpieza y desinfección que especifiquen como mínimo: productos usados, concentraciones, tiempos de contacto, enjuagues y medidas para evitar la contaminación de los equipos, utensilios o productos.

Especificaciones sanitarias según la norma:

Propiedades organolépticas y físicas.

Especificación	
Olor	Inodoro
Sabor	Insípido
	Límite Máximo
Color	15 unidades de color verdadero * en la escala de platino cobalto
Turbiedad	5 Unidades de UNT

*Únicamente el producido por sólidos disueltos en el agua.

Microbiológicas.

Especificación	Límite máximo
Coliformes totales	< 1,1NMP/100mL

Metales pesados o metaloides.

Elemento	Límite máximo (mg/L)
Arsénico	0,025
Boro	0,3
Cadmio	0,005
Fluoruros como F-	1,5
Níquel	0,02
Plata	0,1

Plomo	0,01
Selenio	0,01

Subproductos de desinfección del agua.

Desinfectante utilizado	Subproducto	Límite máximo (mg/L)
Cloro	Formaldehído	0,9
	Trihalometanos totales	0,10
Ozono	Formaldehído	0,9

1.7. ESTANDARES REVISADOS POR LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS)

Las normas de la OMS para el agua potable son quizá los estándares más importantes relacionados a la calidad del agua. Se usan universalmente. Las normas originales se publicaron en dos volúmenes en 1984. El Volumen 1 es el de las normas, mientras que el Volumen 2 contiene las evidencias científicas en las cuales se basan las recomendaciones del Volumen 1. Las normas existentes se basan en las evidencias toxicológicas disponibles hasta 1987, con nuevas normas añadidas en Ginebra en septiembre de 1992. Las nuevas normas incluyen parámetros microbiológicos, químicos y radiológicos. Los parámetros químicos incluyen 17 inorgánicos, 27 orgánicos, 33 pesticidas y 17 desinfectantes y subproductos asociados. Las normas revisadas se incluyen en la Tabla 3.

Las normas microbiológicas están todavía basadas en la *Escherichia coli* o en coliformes termorresistentes como indicadores de la contaminación fecal. Se recomienda coliformes totales solamente como indicadores de la eficiencia del tratamiento y la integridad del sistema de distribución, no como indicador de la presencia o ausencia de patógenos. No se han establecido valores guía para virus, protozoos o bacterias patógenas específicas debido a la ausencia de métodos analíticos adecuados para el trabajo rutinario.¹

Tabla 4. Valores guía revisados del agua potable de la OMS para la calidad bacteriológica del agua potable.¹⁵

Organismos	Norma
Todas las aguas destinadas para consumo <i>Escherichia coli</i> o bacterias coliformes termorresistentes	No deben ser detectables en ninguna muestra de 100 ml
Agua tratada entrando en el sistema de distribución <i>Escherichia coli</i> o bacterias coliformes termorresistentes	No deben ser detectables en ninguna muestra de 100 ml
Bacterias coliformes totales	No deben ser detectables en ninguna muestra de 100 ml
Agua tratada en el sistema de distribución <i>Escherichia coli</i> o bacterias coliformes termorresistentes	No deben ser detectables en ninguna muestra de 100 ml
Bacterias coliformes totales	No deben ser detectables en ninguna muestra de 100 ml. En el caso de grandes suministros donde se examinan suficientes muestras, no deben estar presentes en el 95% de la muestra tomadas durante cualquier periodo de 12 meses.

1.8. NORMA oficial Mexicana NOM-181-SSA1-1008, salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Requisitos sanitarios que deben cumplir las sustancias germicidas para el tratamiento de agua, tipo doméstico.

El objetivo de los programas de abastecimiento de agua para uso y consumo humano, es asegurar que toda la población alcance una dotación adecuada de agua de buena calidad. Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que se dediquen al proceso e importación de las sustancias germicidas tipo doméstico para el tratamiento de agua. En México, en la práctica no se han alcanzado estas metas, por lo que un elevado número de usuarios recurre a métodos intradomiciliarios para subsanar deficiencias de la calidad de agua suministrada a nivel municipal. Los métodos intradomiciliarios o domésticos para purificar el agua de consumo humano, consiste en la aplicación de equipos potabilizadores y sustancias germicidas, orientados fundamentalmente al aspecto bacteriológico, considerando como riesgo inmediato a la salud y en casos específicos a la depuración de características físicas y químicas.

Las personas físicas o morales que se dediquen al proceso e importación de sustancias germicidas para el tratamiento de agua, de tipo doméstico, deben tener a disposición de la autoridad sanitaria competente, un informe de resultados de laboratorio sobre prueba de potabilidad, de cada sustancia en particular, de conformidad con el método de prueba de eficiencia antimicrobiana de sustancias germicidas miscibles en agua, descrito en el apéndice de esta Norma. El laboratorio que efectúe la prueba debe ser acreditado o tercero autorizado.

La prueba de potabilidad es aceptable, cuando el porcentaje DE reducción bacteriana es igual o mayor a 95% para organismos mesófilos aerobios e igual o

mayor a 99.99% para organismos coliformes totales. La eficiencia de una sustancia germicida está dada por su capacidad para destruir o matar una carga microbiana presente en el agua. Esta eficiencia está basada en su poder germicida a través de sus componentes químicos y su efecto sobre las bacterias de acuerdo con su concentración y tiempo de contacto.

Se inocula una fuente de agua con un número conocido de colonias del microorganismo seleccionado, para probar la eficiencia de la sustancia germicida. Posteriormente el agua se somete a la acción de dicha sustancia germicida, bajo las condiciones indicadas en el instructivo proporcionado por el fabricante.

Se toman muestras del agua de prueba antes y después de haberse sometido al tratamiento, de acuerdo con la NOM-014-SSA1-1993, Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano distribuida por sistemas de abastecimiento públicos y privados. A continuación se determina en dichas muestras la concentración de organismos mesofílicos aerobios y coliformes totales.

1.9. CARACTERÍSTICAS DEL AGUA POTABLE

El análisis bacteriológico de los abastecimientos de agua es el parámetro de calidad más sensible. En el caso del agua potable, es práctica común evaluar su calidad en relación con lineamientos o normas específicas.¹⁰

Como la formulación de tales valores guía requiere la evaluación crítica de las propiedades de los diferentes constituyentes, es común que se les clasifique en cinco grupos de acuerdo con los siguientes parámetros:

1. Organolépticos: sus características son rápidamente aparentes para el consumidor pero normalmente tiene poco significado para la salud, por ejemplo, color, turbiedad, sabor y olor.
2. Físicoquímicos: son las características normales del agua, tal como pH, conductividad, sólidos totales, alcalinidad, dureza, oxígeno disuelto, etc. Algunos de estos parámetros tienen importancia para la salud, pero, en general, el objetivo de establecer lineamientos es evitar el abastecimiento de agua excesivamente desbalanceada.
3. Sustancias indeseables en cantidades excesivas: este grupo incluye una amplia variedad de sustancias; algunas son directamente dañinas en altas concentraciones, otras causan problemas de sabor y olor y otras pueden no ser problemáticas por ellas mismas, pero son indicadores de contaminación. En este grupo se incluyen las siguientes sustancias: nitrato, fluoruro, fenol, hierro, manganeso, cloruro, carbono orgánico total.
4. Sustancias tóxicas: una amplia variedad de sustancias inorgánicas y orgánicas pueden tener efectos tóxicos sobre el hombre; la severidad de los efectos de un material particular depende de la dosis recibida, el periodo de exposición y otros factores ambientales.

5. Microbiológicos: en la mayor parte del mundo estos parámetros son los más importantes para determinar la calidad del agua potable. Las normas de calidad microbiológica se basan esencialmente en asegurar la ausencia de bacterias indicadoras de contaminación por desechos humanos.⁴

1.10. DESINFECCIÓN

No es posible garantizar que la remoción sea completa con los tratamientos de desinfección. Por esta razón es necesario desinfectar el agua, ya que la desinfección es la destrucción de microorganismos capaces de causar enfermedades, la barrera contra la exposición humana ante microorganismos patogénicos que causan enfermedades, incluyendo virus, bacterias y parásitos. La cloración fue y ha sido usada por siglos para proveer una seguridad adicional contra microorganismos patogénicos. La destrucción de patógenos y parásitos por desinfección ayuda considerablemente en la reducción de enfermedades.

Algunos de los desinfectantes usados para la destrucción de patógenos y parásitos (p. ej. ozono, dióxido de cloro) son también empleados para la oxidación de materia orgánica, hierro y manganeso y para controlar los problemas de sabor, olor y crecimiento de algas.^{4,8}

Aunque los filtros lentos de arena son muy eficaces para eliminar bacterias, y el proceso de coagulación es bueno para eliminar virus, no es posible garantizar que su remoción sea completa por dichos tratamientos debido a lo pequeño de muchos microorganismos, así el agua final contiene patógenos y bacterias que necesitan ser eliminados o destruidos. En la práctica es imposible esterilizar el agua para matar todos los microorganismos presentes, y debido a la alta concentración de productos químicos requeridos para su esterilización, harían el agua muy desagradable y posiblemente peligrosa para beber. Por lo tanto el agua se desinfecta, en lugar de esterilizarla, utilizando uno de los métodos de desinfección como son la cloración, ozono o la radiación ultravioleta para asegurar que los patógenos potencialmente dañinos se mantengan en un nivel de seguridad en las aguas potables.⁴

La eficacia del tratamiento del agua en eliminar microorganismos patógenos varía de mes a mes, e incluso cuando la planta de tratamiento está logrando un 99.9% de eliminación habrá siempre algunos patógenos residuales en el agua. Esto significa que la desinfección es absolutamente vital para asegurar que todos los microorganismos provenientes de una contaminación fecal del agua bruta sean destruidos. El diseño de planta de tratamiento más efectivo para eliminar patógenos es la filtración rápida y lenta sobre arena, seguida de cloración o tratamientos de percloración seguido de coagulación, sedimentación, filtración rápida sobre arena post-cloración.¹

Es importante observar la diferencia entre la esterilización (la muerte de todos los organismos), que rara vez se practica o se necesita, y la desinfección (la muerte de organismos potencialmente dañinos), que es el requerimiento normal. ^{4, 12}

1.11. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DESINFECCIÓN

TIPO DE DESINFECTANTE: El proceso de desinfección no es instantáneo, si no que ocurre gradualmente; en él, el número de microorganismos muertos por unidad de tiempo es mayor al principio y va siendo cada vez más pequeño conforme aumenta el tiempo de exposición. La eficacia de la desinfección depende del tipo de químico utilizado. Algunos desinfectantes (p. ej. ozono, plata coloidal, dióxido de cloro) son fuertes oxidantes y se libera oxígeno, interfieren en la anaerobiosis, en comparación con otros (p. ej. cloro).

TIPO DE MICROORGANISMO: Existe una exagerada variación en la resistencia de varios microorganismos patógenos a la desinfección. Las bacterias formadoras de esporas son generalmente más resistentes a los desinfectantes que las bacterias no esporuladas. La resistencia a los desinfectantes varía de acuerdo a la cantidad de bacterias y a la cepa perteneciente. En general, la resistencia a la desinfección lleva el siguiente orden: bacteria vegetativa < virus entéricos < bacterias formadoras de esporas < quistes de protozoarios. ⁸

1.12. SALES METÁLICAS COMO BACTERICIDAS

Las sales de varios metales pesados son tan tóxicas que se utiliza el término de efecto oligodinámico para designar si su potencia en concentraciones pequeñas, es responsable del efecto autoesterilizador de monedas de plata y los calices de comunión. Los iones metálicos actúan por combinación con las proteínas u otros compuestos que contengan radicales R-SH que son capaces de actuar a baja concentración porque destruyen la actividad enzimática esencial. De la misma manera, hay que expresar que no penetran bien en las esporas o en los tejidos y son útiles principalmente sobre superficies externas. El cloruro mercurico ha sido muy utilizado como un desinfectante general a pesar del hecho de ser caro y además letal si se llega a ingerir. Los componentes organomercuriales han tenido mayor efecto se aplican ampliamente para heridas leves en la piel y abrasiones. ^{16, 17}

1.13. COLOIDE

El término "coloide" se refiere a una sustancia que contiene partículas ultra-finas que no se disuelven permanecen suspendidas. Estas partículas ultra-finas son más grandes de la mayoría de las moléculas, pero tan pequeñas que no pueden ser vistas a simple vista. Estas partículas son cargadas eléctricamente para activar la actividad germicida de la plata y permitir que las partículas de plata estén suspendidas en agua desionizada. Algunos autores sugieren un estabilizador, típicamente el estabilizador

es una proteína. El uso de estabilizadores tiende a interrumpir la carga de las partículas de plata, obstruyendo su acción y reduciendo su actividad. Los coloides de plata que se producen usando método electrocoloidal apropiado tiene un color distinto a los demás. El color ideal es un amarillo dorado.¹⁶

1.14. PLATA COLOIDAL

Plata coloidal es un coloide definido como una partícula muy pequeña de 0.01 a 0.001 micras suspendida en un (segmento) medio diferente, ya que es un sólido dentro de un líquido. Cada partícula contiene aproximadamente 15 átomos de plata. Las partículas son tan pequeñas que un millón pueden caber en un cubo 400 veces menor de una pulgada. Plata coloidal también es un coloide eléctrico, significa que la partícula de plata tiene carga eléctrica negativa. Por su pequeño tamaño de las partículas y las cargas, las partículas se repelen entre sí y también se mantienen suspendidas en el agua indefinidamente y no se precipitan.^{16, 17}

1.15. EFECTOS EN LA PLATA COLOIDAL EN MICROORGANISMOS INDICADORES Y PATOGENICOS

Un fenómeno bacteriológico interesante en el agua del bactericida después del contacto con plata metálica. A pesar de que la concentración de los iones de plata alcanza sólo una parte en 20 millones, incluso suspensiones concentradas de bacterias mueren al termino de unas cuantas horas. Esta acción de la plata es compartida por muchos metales pesados y se llama acción oligodinámica. Aunque se han propuesto varias teorías, no se ha dilucidado el mecanismo de esta acción. En la medida que los componentes tisulares reducen los iones de plata en plata metálica, la acción oligodinámica contribuirá al efecto antibacteriano.

En dilución, las sales argénticas inorgánicas son altamente germicidas. El nitrato de plata al 1:1000 destruye la mayoría de los microorganismos. Diluciones mucho mas elevadas son bacteriostáticas. El nitrato de plata es tóxico para las células en concentraciones bactericidas.^{16, 17}

1.16. MECANISMO DE ACCION DE LA PLATA COLOIDAL

El Ion argéntico se combina con grupos químicos sulfhídrico, carboxilo, fosfato, amino y otros biológicamente importantes. Estas interacciones, que están en las proteínas, modifican sus propiedades físicas, y a menudo hacen que precipiten; esta es la base de las acciones astringente y cáustica de los iones de plata. Ello pudiera explicar, en parte, las acciones antibacterianas. Sin embargo, varios compuestos ionizables o poco solubles en plata, que no brindan iones suficientes para la precipitación de proteínas, siguen siendo buenos antisépticos. Se puede suponer que la plata, como el mercurio, tiene la facultad de alterar los procesos metabólicos esenciales para células bacterianas. Al aplicar a un tejido la solución de sal inorgánica de plata, se observa un

efecto germicida inmediato; después, el proteinato de plata formando desprende lentamente plata ionizada, contribuyendo así a una acción bacteriostática sostenida.¹⁶

1.17. IMPORTANCIA DE LA SALUD PUBLICA DE LOS PRODUCTOS DE LA PLATA COLOIDAL

Este estudio es importante debido que en la actualidad la plata coloidal se usa como un desinfectante en agua y es comercializado en grandes centros comerciales y llega fácilmente a hogares mexicanos. Además hay una gran distribución de la plata coloidal de parte del sector salud en diversos lugares de la republica.¹⁸

1.18. EFECTOS TOXICOS DE PLATA COLOIDAL

La plata produce coloración de piel y membrana de mucosas (Argyria).¹³

1.19. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

En cuanto a la construcción, el microscopio electrónico y el microscopio óptico presentan en diseño casi idéntico; sirven para aumentar la imagen de los objetos pequeños no visibles a simple vista; las diferencias básicas entre ambos son que el microscopio electrónico usa un haz de electrones como fuente de iluminación, en tanto que el óptico usa un haz de luz (incluyendo rayos ultravioleta) para ese propósito (figura 1).

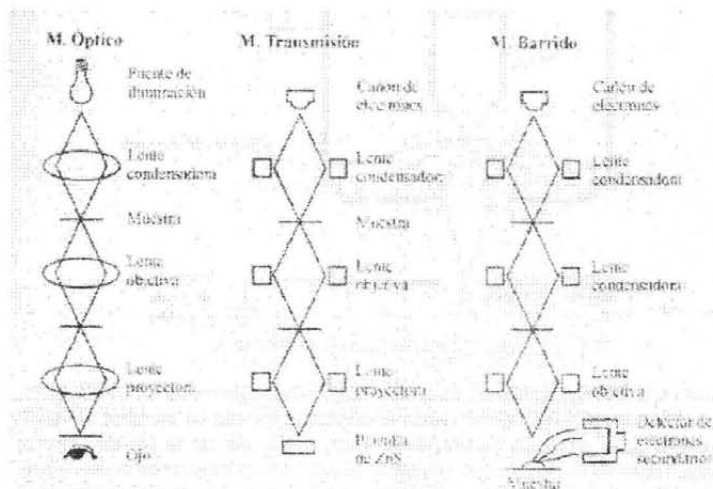


Figura 1. Esquema de los microscopios óptico, electrónico de transmisión y electrónico de barrido.

La fuente de iluminación del microscopio electrónico es un haz de electrones de alta energía obtenido por la aceleración de electrones de una fuente (un filamento de tungsteno) con un campo eléctrico al aplicar alto voltaje a este (ver figura 2).

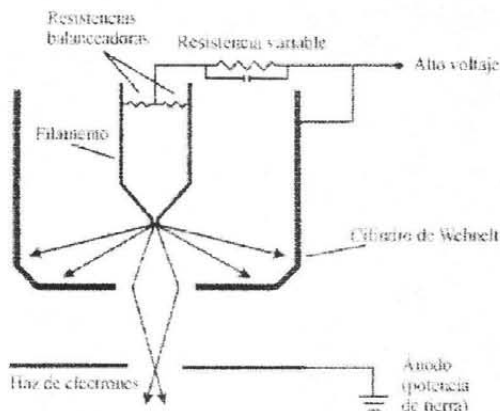


Figura 2. Cañón del Microscopio Electrónico

El haz de electrones generado sale por el del cilindro de Wehnelt y por diferencia de potencial del ánodo que tiene carga, contraria al haz de electrones emitira este hacia la luz de las partes electromagnéticas.

El voltaje de aceleración y el número de electrones que escapan del cañón electrónico (corriente de emisión de electrones) están directamente relacionados, de manera que cuanto menor sea el voltaje menor será la emisión de electrones.

Los electrones son partículas cargadas eléctricamente; su trayectoria puede modificarse por un campo magnético, por lo que las lentes magnéticas del microscopio electrónico están diseñadas para este propósito (más adelante ver lente magnética). La intensidad del campo magnético depende de la intensidad de la corriente eléctrica que pasa por el hilo metálico de la pieza polar de la lente magnética.

Como la fuente de iluminación en el microscopio electrónico es un haz de electrones en un sistema al vacío, existen ciertas limitaciones: por ello las muestras no deben contener agua, sino estar perfectamente secas, por lo que no es posible observar ningún material biológico vivo, además la muestra debe protegerse de la alta energía generada por el haz de electrones. Sin embargo, debido a la gran cantidad de accesorios con los que cuenta el microscopio, su uso presenta diversas ventajas. sobre todo cuando combina pantallas de imágenes obtenidas por barrido, análisis de difracción de electrones y rayos X. La terminología de los componentes del microscopio electrónico básicamente es similar a la del óptico.

Los microscopios electrónicos de transmisión y de barrido son muy útiles para el estudio de las diferentes muestras tanto biológicas como no biológicas. El de transmisión proporciona información referente a la ultraestructura celular o, en su caso, de partículas muy pequeñas (de menos de 150 nm de grosor), mientras que el electrónico de barrido informa sobre la ultraestructura de superficie de la muestra. Ambos presentan el mismo principio en su diseño: la diferencia básica es que el electrónico de transmisión da una imagen proporcionada por electrones primarios o transmitidos en una pantalla fluorescente de sulfuro de zinc, en donde la imagen está en un solo plano, mientras que el electrónico de barrido cuenta con un sistema detector de electrones secundarios que son pasados al fotomultiplicador, y posteriormente presenta una imagen tridimensional de la superficie de la muestra en una pantalla tipo televisión. Dicha imagen está dada por la formación de electrones secundarios que se producen en la interacción del haz de electrones y la muestra. Todo el sistema de la columna del microscopio de barrido es igual al de transmisión.

1.20. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET)

El microscopio electrónico de transmisión es un equipo complejo que funciona al alto vacío, en donde la imagen está dada por los electrones transmitidos a través de la muestra, por ello se requiere que sea de un grosor menor a 100 nm para obtener una buena resolución (figura 3). Sin embargo, debido a la interacción de los electrones de alta energía, la muestra requiere estar protegida con metales pesados para que soporten dicha interacción; las muestras que requieran ser observadas deben cumplir las siguientes características: no puede ser observado al microscopio ningún material vivo o que contenga agua, porque el sistema funciona al alto vacío; además, se debe proteger contra el haz de electrones. Las muestras deben tener un grosor adecuado para permitir que los electrones son transmitidos y así poder tener una imagen con buena resolución.

Para la preparación de las muestras para MET es necesario tener una serie de cuidados ya que ésta requiere de gran precisión para que los resultados sean correctos, empezando con el tipo de fijador, el amortiguador, el posfijador y los solventes para la deshidratación; el tipo de membranas, de resinas para la inclusión, dependiendo de las características propias de cada muestra, se ajustará lo pertinente para estudiar la muestra en MET.

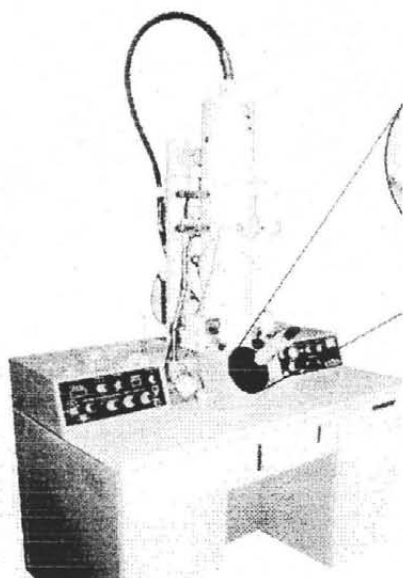


Figura 3. Microscopio Electrónico de Transmisión (MET)

1.21. TINCIÓN NEGATIVA

Como realmente se trata de una imagen de los tejidos se observa en el microscopio electrónico con un buen contraste, esto se puede conseguir, tratando los tejidos con los colorantes electrónicos, el ácido fosfotúngstico es un buen colorante electrónico de tipo general que resalta las estructuras proteicas.

El elemento activo del ácido es el tungsteno (P.M. 183.92) con la especial característica de este compuesto en cada molécula con 24 átomos de carbono del mismo. Por el gran peso molecular de este ácido las tinciones electrónicas denotan una gran resistencia al bombardeo del haz de electrones en el microscopio electrónico.

La técnica de tinción negativa constituye la principal metodología para un rápido diagnóstico de virus, debido a que los virus son identificados principalmente por su morfología. Entre las muestras clínicas recibidas para la identificación se encuentran en exudados, secreciones o excreciones en los cuales los virus están suspendidos. Aunque la tinción negativa es rápida y simple para detectar los virus en muestras clínicas, únicamente una pequeña porción de la muestra es examinada sobre la rejilla y aproximadamente 10^4 a 10^7 partículas virales por mL puede estar en una muestra original en orden para ser detectados por microscopía electrónica.

Las rejillas de 300 mesh cubiertas por membrana de formvar o parlodión, ofrecen un soporte estable para las muestras observadas por MET. La máxima estabilidad de los soportes plásticos es aumentada por una capa de carbón evaporado. Lo cual provee un sustrato fino para obtener una alta resolución.

La tinción negativa no está limitada a muestras biológicas, también puede ser aplicada en el examen de materiales industriales, algunos como papeles y plásticos, los materiales que se emplean para las tinciones negativas tienen que tener una densidad electrónica alta, no deben tener estructura fina y deben ser estables al haz de electrones.¹⁹

1.22 JUSTIFICACIÓN

En los programas de abastecimiento de agua para uso y consumo humano sus objetivos son asegurar que todo aquel que utilice esta agua tenga una dotación adecuada de agua de buena calidad.

Los métodos para purificar el agua de consumo, consisten en la utilización de equipos de tratamiento o la adición de sustancias germicidas, orientados fundamentalmente al aspecto bacteriológico, considerando que provocan numerosas enfermedades gastrointestinales. Por esto, la Secretaria de salud presenta las Normas Oficiales Mexicanas, en donde se detallan pruebas y disposiciones sanitarias y características que deben de cumplir las sustancias y los equipos para poder salir al mercado.

Los productos a base de plata coloidal quieren ser introducidos como desinfectantes de agua en granjas porcinas, y debido a esto se quieren tener estudios en bacterias que provoquen problemas en los cerdos, como bacterias Gram positivos (*Streptococcus suis*) y Gram negativos (*Escherichia coli*).

1.21 HIPÓTESIS

- Si se utiliza como desinfectante de agua la plata coloidal bajo condiciones de laboratorio con base en las Normas Oficiales Mexicanas entonces se podrá aplicar como un método efectivo de desinfección de agua utilizada en granjas porcinas y por medio de la microscopia electrónica observar el efecto sobre las bacterias *Escherichia coli* y *Streptococcus suis*.

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto bactericida de la plata coloidal usando como base la Norma oficial Mexicana NOM-181-SSA1-1998, Salud ambiental. "Agua para uso y consumo humano. Requisitos sanitarios que deben de cumplir las sustancias germicidas para el tratamiento de aguas de tipo doméstico" utilizando esta norma en las bacterias *Escherichia coli* y *Streptococcus suis* y que además pueda ser demostrado el efecto bactericida de la plata por microscopia electrónica de transmisión.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- 1 Evaluar la plata coloidal como desinfectante de agua según la Norma oficial Mexicana NOM-181-SSA1-1998, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Requisitos sanitarios que deben de cumplir las sustancias germicidas para el tratamiento de aguas, de tipo doméstico.
- 2 Determinar el efecto bactericida de tres productos de plata coloidal (argyrol, protargol y colargol).
- 3 Determinar la concentración microbiana y evaluar la capacidad bactericida de la plata coloidal sobre *Escherichia coli* y *Streptococcus suis*.
- 4 Evaluar por microscopio electrónico de transmisión el efecto de la plata coloidal sobre las bacterias *Escherichia coli* y *Streptococcus suis*.

3.0 MATERIAL Y METODOS

3.1 Material biológico.

Para esta investigación se utilizaron las bacterias, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Escherichia coli* de un caso clínico en cerdos y *Streptococcus suis* de un caso clínico.

3.2 Preparación del cultivo de referencia.

Después de la caracterización se procedió a preparar el cultivo de referencia que consistió de tomar una asada de la cepa de cada una de las bacterias que se ocuparan y sembrar en una caja Petri con agar nutritivo B (Apéndice B) e incubar de 20 a 24 horas a una temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.3 Preparación del subcultivo:

Tomar una asada de cada cultivo de referencia y resembrar en cajas independientes con agar nutritivo A (Apéndice B); incubar de 20 a 24 horas a una temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.4 Preparación de las suspensiones bacterianas.

Del agar B se toman las colonias para igualar la suspensión bacteriana al 1 de MacFarland, de esta suspensión se hacen diluciones 10^{-1} y 10^{-2} ; de la dilución 10^{-2} , se toma 1 mL de la suspensión y se coloca en 1 L de agua destilada.²⁶

3.5 Preparación del agua de prueba.

Esta prueba se realizó con agua de sistema de abastecimiento público, debiendo cumplir con los límites permisibles de la NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua de potabilización.

3.6 Desarrollo de la prueba.

Se adicionó la sustancia germicida al agua de prueba, de acuerdo con las instrucciones del fabricante o distribuidor, especificaciones en la etiqueta o instructivo del producto.

Después de transcurrido el tiempo de contacto especificado en la etiqueta o instructivo del producto, tomar 3 muestras de agua de prueba sin tratar y a continuación, tres muestras del agua tratada.

3.7 Toma de muestra.

Se tomó muestra del agua antes de colocar el bactericida para determinar las UFC/mL por el método de vaciado en placa. Posteriormente se volvió a tomar muestra del agua para determinar la concentración de microorganismos por el método en tubos múltiples (NMP/100 ml) y el conteo en placa para determinar las UFC/100 mL de la muestra después del proceso de desinfección con el desinfectante plata coloidal.

3.8 Procedimiento para el recuento en placa

- Se marcaron 2 cajas de Petri estériles y sin agar para cada una de las siguientes diluciones: 0, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . También se marcaron botellas con 90 ml de buffer de fosfatos de pH= 7.0 estériles.
- En una área estéril se realizó la dilución inicial transfiriendo 10 mL de la muestra inicial del agua de prueba con una pipeta estéril en la primera botella marcada con la dilución 10^{-1} .
- La botella con la dilución 10^{-1} se agito para la distribución uniforme de las bacterias.
- Inmediatamente de esta primera botella se transfirieron nuevamente 10 ml con una pipeta estéril a la segunda botella marcada con una dilución 10^{-2} , y se tapo la botella.
- Se agito esta segunda botella y se transfirió nuevamente con otra pipeta estéril de esta segunda botella a la tercera botella. Esta representa la dilución 10^{-3} de la muestra original. Se tapo y homogenizo la muestra.
- Una vez preparadas las diluciones de la muestra original se procedió a realizar la prueba de vaciado en placa para determinar la cantidad de bacterias viables presentes en la muestra. Para esto se tomo 1 ml de la muestra original y se colocaron en una caja de Petri marcada como 0 (muestra sin dilución). Para las diluciones de la muestra original, se realizo el mismo procedimiento colocando 1 ml de cada una de las diluciones en su correspondiente caja marcada. Todo esto se realizo por duplicado, teniendo así, 2 cajas de cada dilución.
- Se prepara el agar para métodos estándar correspondiente para las cajas utilizadas, previamente esterilizado de acuerdo a las indicaciones del marbete del frasco y se vierten 15 mL aproximadamente para cada caja. El agar y la muestra son inmediatamente mezclados por movimiento suaves haciendo la figura de 8 para homogenizar muestra y el agar en la caja. Se repitió este proceso para todas las cajas restantes.

- Una vez gelificado el agar, se invirtieron las placas y se incubaron a 37°C por 24 horas.
- Al final del periodo de incubación, se seleccionaron las cajas que contenían entre 25 y 250 colonias. Las placas con más de 250 colonias no pueden ser contadas y son designadas como incontables.
- El conteo de las UFC/ml que se encontraban sin la plata coloidal se comparó con el número de UFC/ml contadas después del tratamiento de con la plata coloidal, con estos valores se calculó el porcentaje de reducción bacteriana que es capaz de realizar la plata coloidal.

3.9 Cálculos para determinar el porcentaje de reducción bacteriana

Después de realizar el conteo de las UFC en todas las cajas, se determinó la cantidad de bacterias en el agua de prueba con y sin el tratamiento, obteniendo la media aritmética, para calcular el porcentaje de la reducción bacteriana, y así reportar si la potabilidad es aceptable de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%RB = \frac{(CT)_{APST} - (CT)_{APT}}{(CT)_{APST}} \times 100$$

En donde:

%RB= Porcentaje en reducción bacteriana de microorganismos coliformes totales.

(CT)_{APST}= Cuenta de microorganismos coliformes totales en UFC/mL de agua de prueba sin tratar.

(CT)_{APT}= Cuenta de microorganismos coliformes totales en UFC/mL de agua de prueba tratada.

3.10 Tinción negativa.

Como realmente se trata de que la imagen de las bacterias se observe en el microscopio electrónico con un buen contraste, esto se puede conseguir, tratando los tejidos con colorantes electrónicos. El ácido fosfotúngstico es un buen colorante de MET electrónico de tipo general que resalta mucho más las estructuras proteicas.

El elemento activo del ácido es el tungsteno (P.M. 183.92) con una especial característica de que este compuesto se asocia en cada molécula de 24 átomos de carbono del mismo. Por el gran peso molecular de que este ácido las tinciones electrónicas denotan una gran resistencia al bombardeo del haz de electrones en el microscopio electrónico.

Las rejillas de 300 mesh cubiertas con membranas de Fomvar o Paradión, ofrecen un soporte estable para las muestras teñidas negativamente con ácido fosfotungstico. La máxima estabilidad de los soportes plásticos es aumentada por una capa de carbón evaporado. Lo cual proporciona un plástico como sustrato fino para obtener una alta resolución y al mismo tiempo la hace hidrofílica la superficie y resistencia que incrementa el contraste de la imagen.

3.11 Preparación de las muestras para microscopia electrónica de transmisión.

Las muestras son lavadas con buffer o solución salina fisiológica para eliminar cualquier residuo proteico y posteriormente fijadas con glutaraldehído al 1%.

Preparación de las rejillas con membrana fomvar.

1. Las rejillas se lavan con acetona y seca previamente.
2. Se prepara una solución de fomvar al 0.1% en cloroformo, si se hacen con paradión se prepara una solución 0.1% de paradión en acetato de amilo.
3. En un vaso de precipitados limpio se pone un litro de agua destilada.
4. En un porta objetos se impregna el fomvar al 0.1% y se deja en reposo hasta que seque la película, después se corta de los lados con las uñas y sobre el baño de agua destilada se sumerge poco a poco el porta objetos hasta separar la película plástica.
5. Las rejillas son colocadas sobre la membrana con la cara brillante hacia abajo y posteriormente recogidas con papel filtro. Las rejillas se secan en la estufa a 42°C por dos horas antes de usarse.

3.12 Técnica de tinción negativa.

Una gota de la suspensión bacteriana se deposita en sobre papel parafilm, y se colocan 2 rejillas previamente preparadas con membrana fomvar para que se adsorbe la muestra durante un tiempo que varia de 5 hasta 30 minutos, posteriormente se toman las rejillas y el exceso se adsorbe con papel filtro y enseguida son teñidos con una gota de ácido fosfotungstico AFT(solución al 1% con pH= 7.2) durante un periodo que varia de 30 seg. a 3 min. , son recogidas las rejillas y se absorbe el exceso y secadas a temperatura ambiente.

Diagrama de flujo (parte 1).

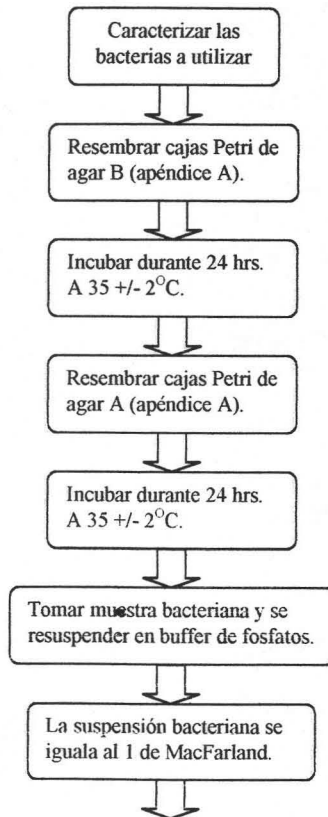
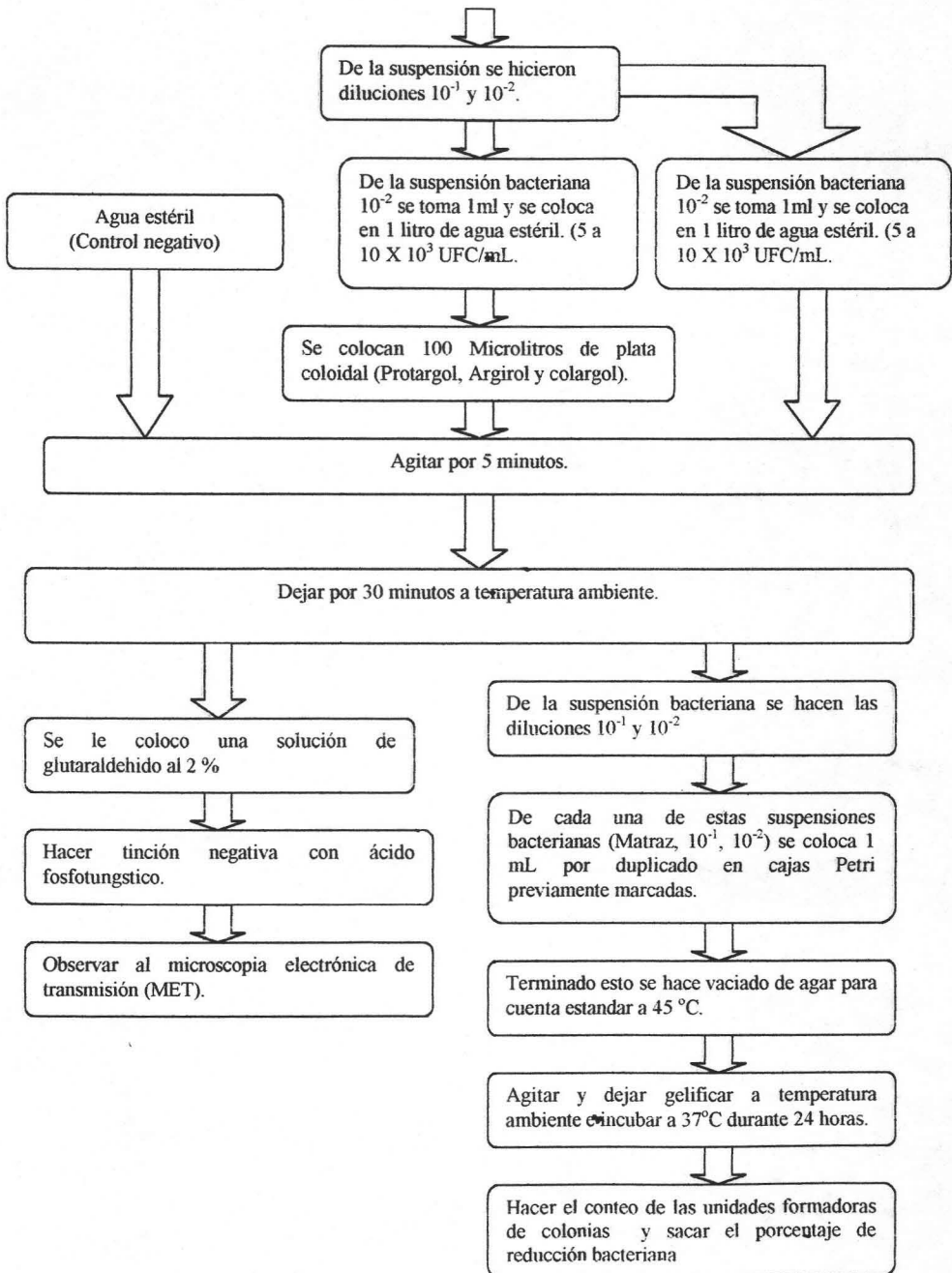


Diagrama de flujo (parte 2)



4.0 RESULTADOS

Identificación de las bacterias utilizadas en experimento

Caracterización de *Escherichia coli*

La tinción de Gram. demostró que se trataba de un bacilo Gram. negativo no esporulado, y los resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación de las bacterias se presentan en la tabla numero 6:

Tabla 1 de resultados. Resultados de la identificación de las diferentes bacterias de *Escherichia coli* utilizadas en el experimento (Apéndice A y B)

PRUEBA BIOQUIMICA	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	<i>Escherichia coli</i> caso clínico	Resultado esperado
Catalasa	+	+	+
Indol	+	+	+
Citrato de Simmons	-	-	-
Agar Hierro Kigler	Acido/Acido	Acido/Acido	Acido/Acido
Producción de H ₂ S	-	-	-
Motilidad	+	+	Variable
Ureasa	-	-	-
Glucosa	+*	+*	+
Lactosa	+*	+*	+*
Sacarosa	+	+	Variable
Manitol	+	+	+
Ornitina	+	+	+
ONPG	+	+	+
OF	Fermentadora	Fermentadora	Fermentadora

+* Acidifica y produce de gas

Identificación de *Streptococcus suis*

La otra bacteria que se utilizó en el experimento fue el *Streptococcus suis* el cual se identificó como un coco Gram positivo de que y los resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación de las bacterias se presentaban en la tabla número 2.

Tabla 2. Resultados de la identificación de el *Streptococcus suis* caso clínico (Apéndice A y B).

PRUEBA BIOQUIMICA	<i>Streptococcus suis</i> caso clínico	Resultado esperado según bibliografía ²²
β - Hemolisis	+	+
Crecimiento a 10°C.	-	-
Crecimiento a 45°C.	-	-
Crecimiento en NaCl al 6.5 %	-	-
Hidrólisis del hipurato de sodio	-	-

Resultados del conteo en placa

Las UFC/ml del agua de prueba fueron contadas, con y sin contacto con la plata coloidal, se calculo el porcentaje de reducción bacteriana para determinar la potabilidad del agua y así comprobar la efectividad de la plata coloidal en sus diferentes presentaciones (Protargol, Argyrol y Colargol). La prueba se realizo ajustando el agua de prueba a una concentración de entre 5×10^3 a 10×10^3 UFC/ml, y una vez que se realizo el conteo se obtuvieron estos con y sin el tratamiento con los tres tipos de desinfectantes de agua a base de plata coloidal (Protargol, Argyrol y Colargol).

COMPUESTO DE PLATA COLOIDAL (COLARGOL).

Escherichia coli ATCC 11229

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	82	101

Con el compuesto (Colargol)

Dilución	UFC/caja I	UFC/caja I
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	45	42

Escherichia coli caso clínico

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	81	90

Con el compuesto (Colargol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	51	63
Dilución 10^{-2}	0	6

Sreptococcus suis caso clínico

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	57	60

Con el compuesto (Colargol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	50	52

COMPUESTO DE PLATA COLOIDAL (ARGYROL)

Escherichia coli ATCC 11229

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	82	98

Con el compuesto (Argyrol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	81	86

Escherichia coli caso clínico

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	106	82

Con el compuesto (Argyrol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	4	7
Dilución 10^{-1}	26	26
Dilución 10^{-2}	4	8

Sreptococcus suis caso clínico

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	94	86

Con el compuesto (Argyrol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	88
Dilución 10^{-1}	120	132
Dilución 10^{-2}	60	76

COMPUESTO DE PLATA COLOIDAL (PROTARGOL)

Escherichia coli ATCC 11229

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	132	119

Con el compuesto (Protargol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	95	121

Escherichia coli caso clínico

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	54	54

Con el compuesto (Protargol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	176	149
Dilución 10^{-2}	21	17

Sreptococcus suis caso clínico

Sin el compuesto

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-1}	Incontables	Incontables
Dilución 10^{-2}	110	100

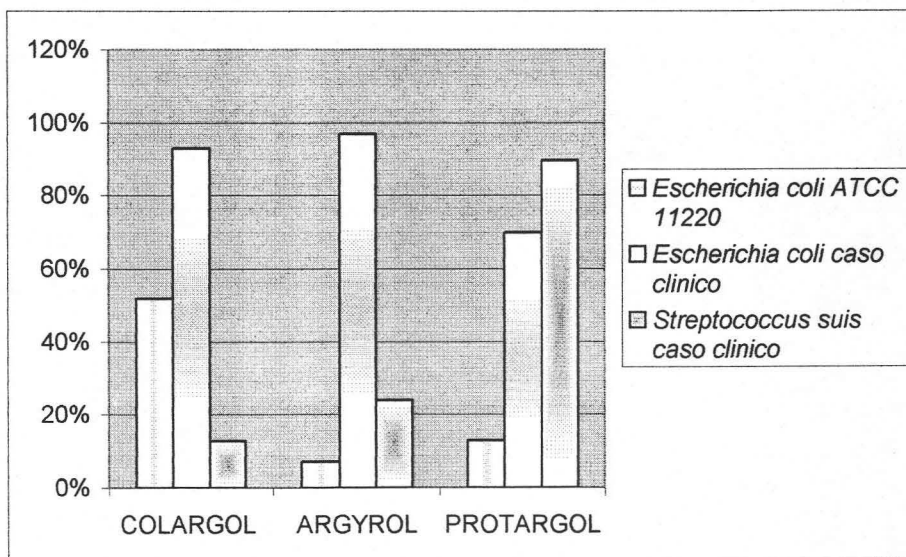
Con el compuesto (Protargol)

Dilución	UFC/caja	UFC/caja
Sin dilución	228	Incontables
Dilución 10^{-1}	116	101
Dilución 10^{-2}	18	16

TABLA 1 DE RESULTADOS . Resultado obtenido del porcentaje de la reducción bacteriana.

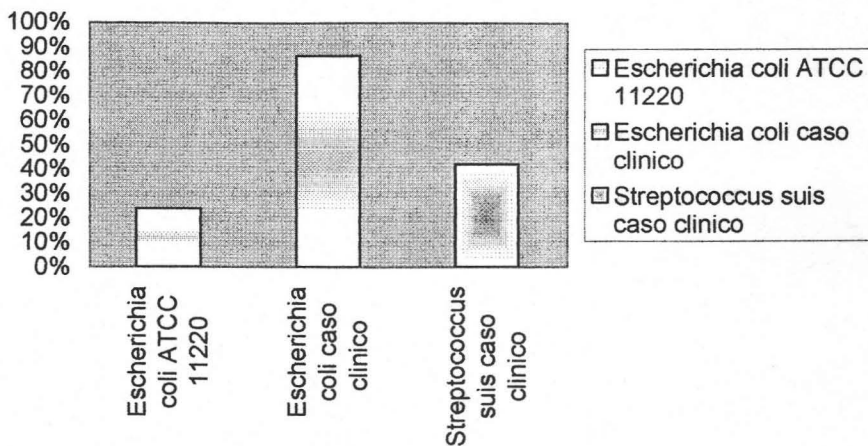
PRODUCTO	COLARGOL	ARGYROL	PROTARGOL	PROMEDIO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11220	52%	7,20%	13%	24%
<i>Escherichia coli</i> caso clínico	93%	97%	69,90%	86,60%
<i>Streptococcus suis</i> caso clínico	12,80%	24%	89,60%	42,10%
PROMEDIO	52,60%	42,70%	50,80%	

GRAFICA 1 DE LA TABLA 1 DE RESULTADOS. En este grafico se observan los resultados de la tabla numero 8 de los porcentajes de la reducción bacteriana utilizadas en el estudio, donde se exponen los resultados del conteo placa de las UFC/ml en las cajas petri. En esta tabla se presentan los tres tipos de bactericidas de plata coloidal utilizados (Protargol, Argyrol y Colargol)



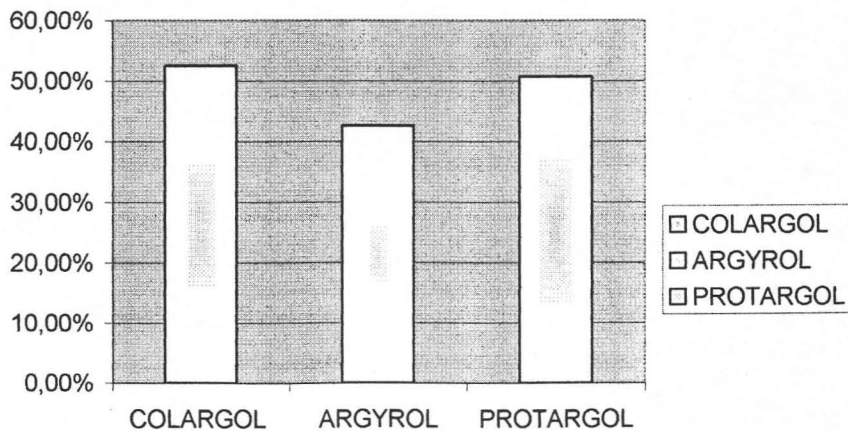
GRAFICA 2 DE LA TABLA 1 DE RESULTADOS. En esta grafica se observa el promedio del porcentaje de reducción de la bacteria, promediando los resultados de los tres bactericidas utilizados en el experimento.

PROMEDIO POR BACTERIA



GRAFICA 3 DEL LA TABLA 1 DE RESULTADOS. En esta grafica hacemos la comparación de la disminución de las bacterias promediando el porcentaje de reducción bacteriana de las diferentes bacterias utilizadas en el experimento.

PROMEDIO POR PRODUCTO

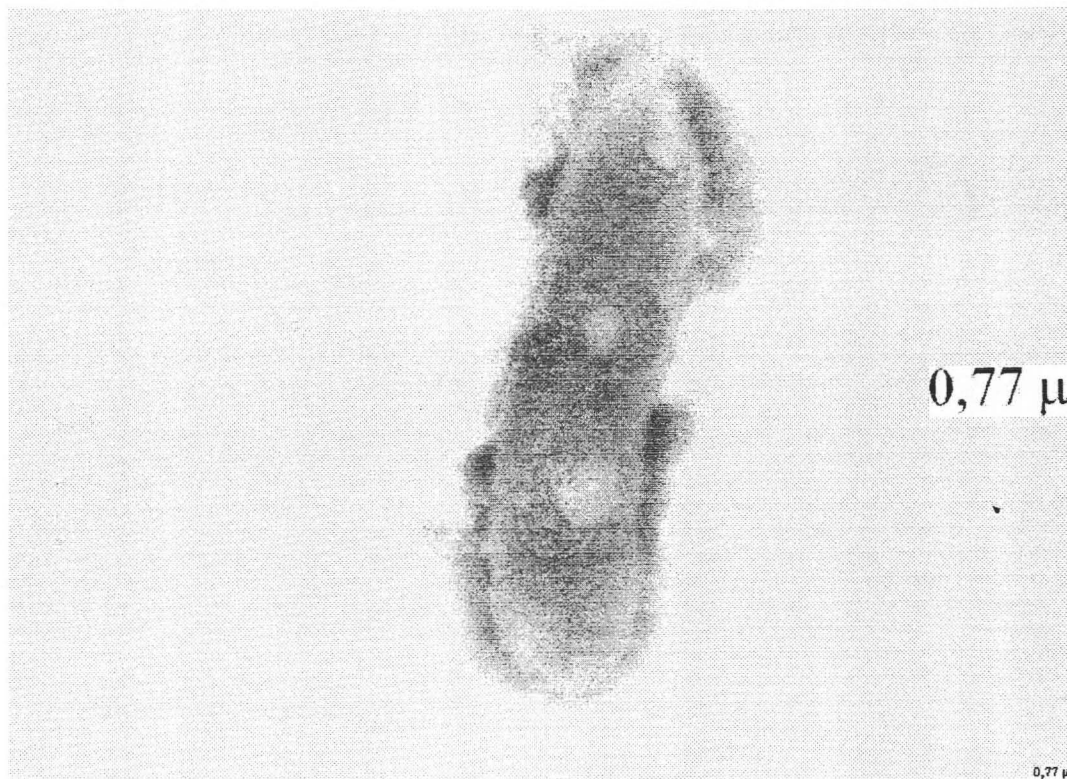


MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISIÓN

Fotografía 1. *Escherichia coli* ATCC 11229 sin tratamiento a 20,000 aumentos. Se observa una bacteria con forma y aspecto normal pero no se observan flagelos.



Fotografía 2 *Escherichia coli* ATCC 11229 tratada con argyrol a 20,000 aumentos. El contorno de la bacteria se encuentra deformada por algunas vesículas que son alteraciones de las proteínas de la pared de la bacteria.

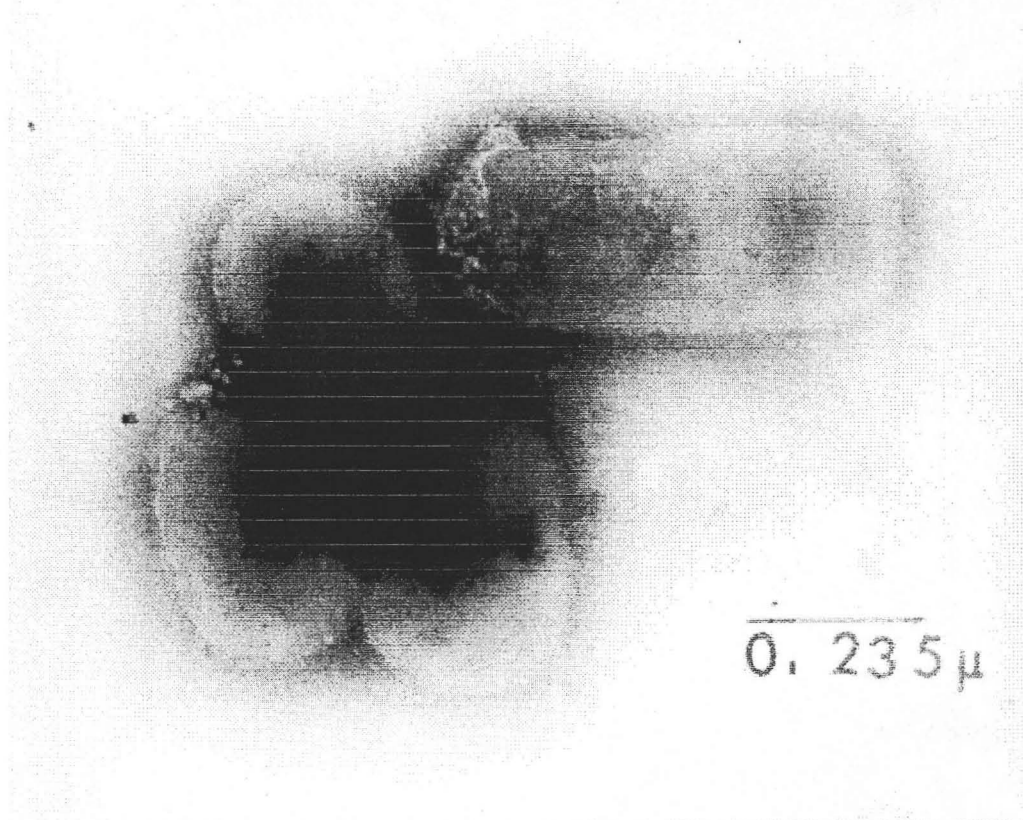


**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

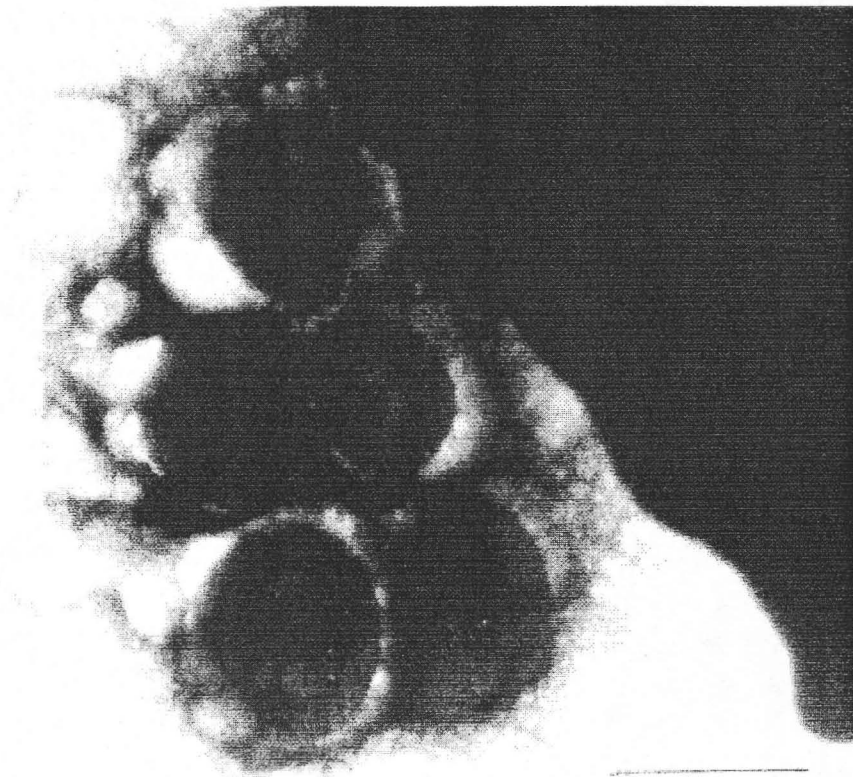
Fotografía 3. *Escherichia coli* caso clínico sin tratamiento a 20,000 aumentos y se observa la bacteria de forma bacilar. Se observa la pared celular de color oscuro claramente delineada, la membrana de la bacteria se encuentra contraída en forma irregular.



Fotografía 4. *Escherichia coli* tratada con argyrol a 10,000 aumentos y se observa que las bacterias han sido acortadas y redondeadas haciéndolas casi cocobacilos, todas están rodeadas de material electrotransparente que podría ser material proteínico adherido (adosado) a la bacteria y que en el caso de la más bacilar de las cuatro adquiere una forma de cofia en uno de los polos.

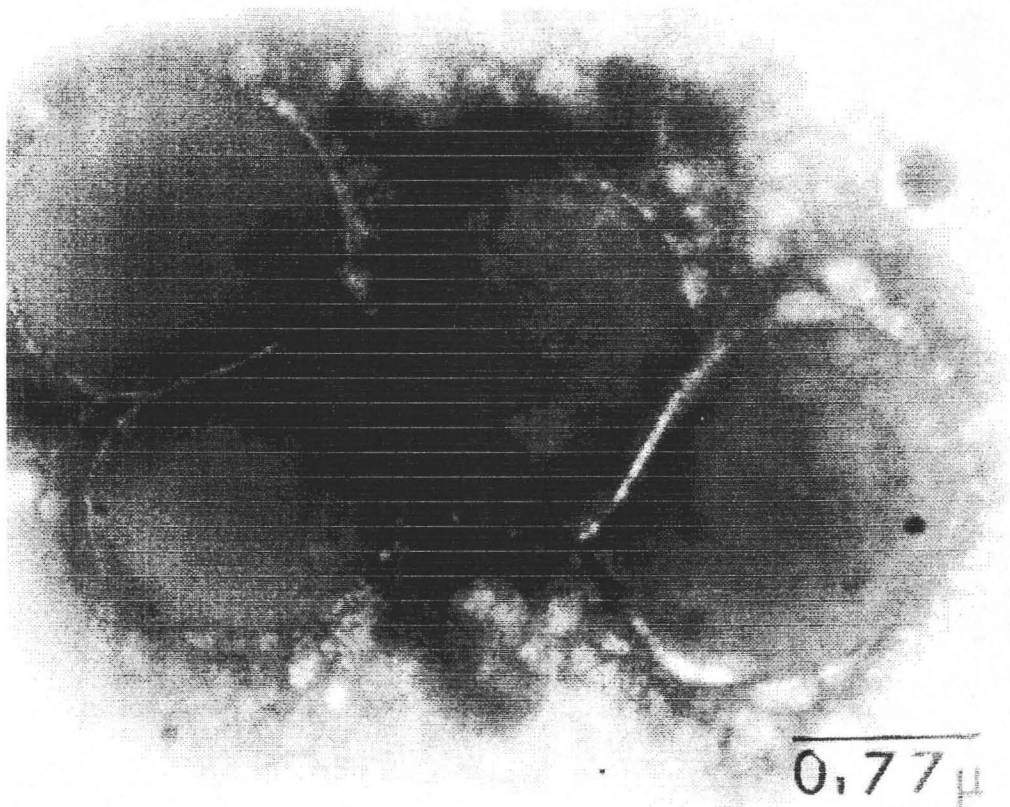


Fotografía 5. *Streptococcus suis* caso clínico sin tratamiento a 10,000 aumentos. Se observan son cocos normales rodeados con burbujas y en la bacteria se nota zona nuclear mas clara.



0,235

Fotografía 6. *Streptococcus suis* caso clínico tratadas con argyrol a 20,000 aumentos. Se observan cuatro bacterias en forma de cocos donde 2 de ellas lisas y aparentemente normales las dos muestran una superficie irregular al depositarse el ácido fosfotugstico, las cuatro están rodeadas de burbujas, que no necesariamente representan proteínas, un grano de plata se encuentra sobre la superficie de una bacteria.



5. DISCUSIÓN

Encontramos en los resultados de la Tabla 1 de resultados de los porcentajes de la reducción de la viabilidad bacteriana que para los tres productos de plata coloidal (Colargol, Argyrol y Protargol) obtuvimos que ninguno de los desinfectantes de plata coloidal que se utilizó en las bacterias no cumple la **NORMA oficial Mexicana NOM-181-SSA1-1008, salud ambiental**. debido a que la Norma nos indica que el desinfectante utilizado en el hogar en agua debe de matar el 95% de mesofilos aerobios y un 99.9 % de coniformes totales en el agua según las especificaciones del producto. Con esto podemos decir que el producto no es aceptable según la norma.

Según los resultados podemos decir que los desinfectantes utilizados en el experimento no matan las bacterias debido a varios factores, uno de ellos es que puede ser que a la concentración dada por las especificaciones del producto a la que trabajamos no fue la optima (Carl A. Laurence, 1971). Encontramos que fueron probados varios compuestos de plata en un tiempo de 10 minutos de exposición y los resultados arrojan que para el nitrato de plata, citrato de plata y nitrato de plata se utilizan concentraciones para matar a *Salmonella typhosa* y *Staphylococcus aureus* que van de 12.5 mg/ml hasta 0.22 mg/ml de dilución para tener el efecto bactericida, mientras que para las presentaciones de plata coloidal encontramos que van de concentraciones de 83.33 mg/mL hasta 5.71 mg/mL para matar a las bacterias, esto nos arroja que para los compuestos tiene que tener una mayor concentración para tener el efecto bactericida y se ha reportado para Colargol la bacteria *M. pyogenes* var. *aureus* y para *S. typhosa* tiene que tener una concentración de este producto de plata de 66.6 mg/ml y 5.71 mg/ml respectivamente y que también para estas mismas bacterias pero con el producto Protargol tenemos que tener una concentración de 83.33 mg/ml y 14.3 mg/ml respectivamente, y este pudo ser uno de los factores por los cuales el bactericida no tuvo el efecto bactericida esperado. También se ha reportado (Carl A. Laurence, 1971). En un experimento con *Escherichia coli* con plata este experimento a varios tiempos y a varias concentraciones de plata que a las 6 horas mata a todas las bacterias, pero a la hora de la inoculación se encontró que no mataba por completo a la *Escherichia coli* , ni a la concentración más elevada, con esto queremos decir que dado que nosotros ocupamos la plata coloidal según las especificaciones del productor se debía inocular y dejar actuar por media hora, con esto podemos decir que otro factor que pudo afectar a que no cumpliera la norma los productos de plata coloidal.

También otro factor que pudo haber inferido en nuestro resultados pudo ser la cantidad de porinas de las bacterias (Xian-Shi Li, 1997). En la membrana de las bacterias se encuentran porinas cuya función es el transporte de elementos de peso molecular bajo y esto afecta directamente a la entrada de iones de plata al interior de la bacteria y esto quiere decir que entre menos porinas se encuentren en la membrana menos afectará la plata a las bacterias debido a que el mecanismo de acción de la plata es el de precipitar las proteínas que se encuentren a su alcance, y

si no hay muchas proteínas o sino están a su alcance no puede ejercer su acción la plata.

Encontramos también que existen plásmidos que le confieren a las bacterias resistencia a la plata (Xian-Shi Li, 1997, Amit Gupta 1998, Silver Simon 1996, Gupta, A, 2001) que es por un mecanismo bacterial que hace la entrada de plata sea muy poca y no muera la bacteria y por el cual las bacterias siguen viables. También se habla que existe un mecanismo de reflujo activo de plata por el cual las bacterias sacan la plata que entra a la bacteria para impedir la muerte de ésta y por el cual afecten los resultados en nuestro experimento

Con respecto a los resultados de microscopia electrónica observamos que en todos los casos de las bacterias utilizadas se observan cambios morfológicos directos, sin embargo según los resultados obtenidos de el unidades formadores de colonias por mililitro para las bacterias utilizadas en experimento nos indican que las que sufren un mayor daño son las bacterias *Escherichia coli* caso clínico y *Streptococcus suis* caso clínico y que la que sufre menos daño es la *Escherichia coli* ATCC 11229, pero al observar las fotografías se nota que el daño lo sufren los 3 tipos de bacterias utilizadas en el experimento. Sin embargo hay que considerar que estas son las bacterias sobrevivientes o que se observaron una morfología reconocible.

Lo que se observa en todas las bacterias utilizadas en el experimento es que hay una deformación de las bacterias (L. Zeiri 2002R:T: Belly, 1981), pero esta deformación no quiere decir que las bacterias no sean viables para el crecimiento como la *Escherichia coli* ATCC 11229 que tiene un deformación clara al momento de hacer las observaciones de microscopia electrónica de transmisión, pero en los resultados de unidades formadores de colonias por mililitro se observó que tiene poca disminución de las UFC/ml con los diferentes compuestos de plata coloidal utilizados en el experimento.

Por otro lado el mecanismo de acción bactericida de la plata coloidal es precipitar las proteínas de las bacterias, pero no solo afecta la plata a proteínas externas de las bacterias, si no que también las plata entra a las bacterias y también afecta a proteínas internas de las bacterias para poder tener el efecto bactericida, solo se observa por microscopia electrónica de transmisión solo observamos a las bacterias sobrevivientes desde el puno de vista morfológico y no el efecto que tiene en las proteínas internas (Xian-Shi Li, 1997, Amit Gupta 1998, Silver Simon 1996)

6. CONCLUSIONES

1. Evaluamos la plata coloidal (Colargol, Argylol y Protargol) y obtuvimos que no puede ser usado como desinfectante de agua debido a que solo reduce en promedio un 50 % de las Bacteria.
2. Encontramos que de los 3 productos a base de plata coloidal (Colargol, Argylol y Protargol) ninguno cumple con lo que requieren las Normas Oficiales Mexicanas.
3. Se encontró experimentalmente que se obtuvo una suspensión bacteriana de 5×10^3 y 10×10^3 y en promedio una reducción bacteriana fue de solo un 50 %.
4. Encontramos por microscopio electrónico que se obtiene una deformación de las bacterias pero no una muerte de estas.

6. COMENTARIOS

1. Hacer un estudio acerca de los tiempos que tienen especificados en el producto, debido a que si aumentamos el tiempo de exposición de la plata con la bacteria esperamos que afecte en mas a las bacterias.
2. La concentración a la cual se utilizaron los compuestos de plata coloidal a la cual se utilizo no es la adecuada.
3. Hacer una cuantificación de las porinas.
4. Las bacterias que se ocuparon en el experimento pueden tener el gen que les da la resistencia a la plata.²⁰
5. Se recomienda al proveedor estudios con respecto al tiempo de exposición con el desinfectante.¹⁶

7. APENDICES

APENDICE A

MATERIAL Y EQUIPO

- Autoclave.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg.
- Nefelómetro de MacFarland.
- Horno para esterilizar a 160 – 180 °C.
- Incubadora que opere a 35 ± 2 °C.
- Pipetas estériles de 1, 2, 5 y 10 ml de capacidad.
- Tubos de cultivo con tapa de rosca.
- Asa de platino.
- Cajas de Petri estériles de 100 x 15 mm.
- Mecheros.
- Matraces de 1000 mL.
- Garrafón de vidrio con una capacidad de 19 litros.
- Botellas de vidrio con capacidad de 100 mL.
- Campana de flujo laminar.
- Microscopio electrónico de transmisión Leal Tx 100X.

APENDICE B

REACTIVOS Y SOLUCIONES

- Solución buffer PBS pH = 7.2.
- Fosfato de potasio bibásico (K_2HPO_4).
- Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4).
- Ácido clorhídrico (HCl).
- Hidróxido de sodio (NaOH).
- Alcohol etílico (CH_3CH_2OH).
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4)
- Alcohol-acetona.
- Lugol.
- Safranina.
- Cristal violeta.
- Plata coloidal (Colargol, Argyrol y Protargol).
- Ácido fosfotungstico..
- Glutaraldehído.

MEDIOS DE CULTIVO Y PRUEBAS BIOQUIMICAS

- Agar nutritivo A.
- Agar nutritivo B.
- Agar Mac Conkey.
- Agar BHI.
- Caldo lauril sulfato con 4-metilumbeliferil-B-D-glucuronido.
- SIM
- Citrato de Simmons
- Agar Hierro Kigler
- Ureasa de Chistensen
- Caldo lactosado
- Sacarosa
- Manitol
- Ornitina
- ONPG
- OF
- Indol
- Esculina
- Suero descomplementado
- Catalasa
- Oxidasa

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Gray, N. F., Calidad del agua potable. Problemas y soluciones., ED. Acribia, España, 1994
2. Diario Oficial de la Federación. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 "Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Limites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua para su potabilización". México, DF.
3. Diario oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA1-1993. "Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias". México, DF.
4. Diario Oficial de la Federación. Secretaria de Salud. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-201-SSA1-2000. "Bienes y servicios. Agua y hielo para consumo humano, preenvasados y a granel. Especificaciones sanitarias". México, DF.
5. Gabriel, Wastewater microbiology. Bitton, Ed. Wiley-Liss, USA, 1994
6. Tebbutt, T. H. Y., Fundamentos de control de la calidad del agua. ED. Limusa, 3ª edición, México, 1999
7. John P. Harley & Lausing M. Prescott, Laboratory exercises in microbiology. WM. C. Brown Publishers, USA, 1990
8. Van der Leeden, Frits and Fred L. Troise, The water encyclopedia. 2ª ed., Ed. Lewis Publishers, USA, 1991
9. Rojas, Romero, J. Alberto "Calidad del Agua" 2ª Edición ED. AlfaOmega, México, 1999. pp. 217.
10. Diario Oficial de la Federación. México, Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-180-SSA1-1998. "Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Equipos de tratamiento de tipo domestico. Requisitos sanitarios". DF.

11. Jorge A. Pérez Martínez, Bacteriología General Ed. UNAM, Primera edición 1990, México, DF , pp. 399.
12. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1*1994. "Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua para la potabilización. México, DF.
13. Charles N. Haas. Benefits of using a disinfectant residual. Journal awwa January 1999 Vol. 91, No.1 pp. 65 – 69
14. NOM's role in bromine and bromate formation during ozonation. Paul Westerhoff et al. Journal awwa February 1998 Vol. 90, No. 2 pp. 82 – 94
15. Helmer, R., I. Hespanhol and L. J. Saliba, water science and technology; Vol. 24, No. 2, 1991; pp. 34-42. " Public health criteria for the aquatic environment: recent WHO guidelines and their application ".
16. Lawrence, Carl, Desinfection, esterization and preservation, Ed. Philadelphia, pp. 469-475.
17. Goodman L. And Gilman A., Bases farmacológicas de la terapeutica, ED. Interamericano, pp. 826-838.
18. www.Absolutevitamins.com/colloidal.hmt
19. González G., Sofía, Ruiz V., Ma. Rosario, Hernández B., Eliseo M.; Guía de microscopia electrónica, ED. FES- Cuautitlán UNAM 2003, pp. 53.
20. Xian-Shi Li, Silver-resistant mutants of *Escherichia coli* display active efflux of ag1 and are deficient in porins, Journal of bacteriology, Oct. 1997, p. 6127–6132.
21. Carl A. Laurence, Desinfection, sterilization and preservation, Ed. Philadelphia, U:S:A 1971, pp 372-399.
22. George E. Cottral, Manual of standardizad methods for veterinary microbiology, Comstock Publishing Associates, pp 189 – 194.
23. Gupta, Amit, Maynes, Maria and Silver, Simon, Effects of Halides on Plasmid-Mediated Silver Resístanse in *Escherichia coli*, Applied and Environmetal Microbiology, 1998, p 5042 – 5045.

24. Silver Simon, Bacterial heavy metal resistance: new surprises, *Annual Reviews Microbiology*, 1996, 753 – 789.
25. L. Zeiri , B.V. Bronk , Y. Shabtai, J. Czeg., S. Efrima, Silver metal induced surface enhanced raman of bacteria, *Colloids and Surfaces Physicochemical and Engineering Aspects* 208 (2002) 357–362.
26. Balows Albert, Hausler, William J., Herremann, KennethL., Isenberg, Henry D, Shadomy, H. Jean, *Manual of clinical microbiology*, American society for Microbiology, Washington D. C., 1991, PP 1296.
27. Bruce, Alberts , *Biología molecular de la célula* , Ed Garland science, USA, 2002.
28. Gupta, A., Silver, S., Diversity of silver resistance genes in INCH istocompatibility grup plasmids, *Microbiology* 147 (2002), 3393-3402.
29. Silver, S., Bacterial healvy metal resistance: new surprises, *Microbiology* 50 (1996), 753-789.
30. R.T. Belly, G.C. Kydd, Developments in industrial microbiology, in: *Proceedings of the 38th Meeting of the Society of industrial Microbiology*, August 9-14, 1981, vol. 23.