



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

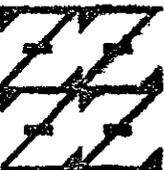
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

ANALISIS MICROBIOLOGICO DEL AGUA  
UTILIZADA EN EL BIOTERIO  
DE LA FES-ZARAGOZA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
EDGAR CASTELAN OLGUIN

U N A M  
FES  
ZARAGOZA



LO HUMANO ES  
EN NUESTRA REFLEXION

DIRECTOR: Q.B.P. DORA ALICIA PEREZ GONZALEZ  
ASESOR: Q.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA

AGOSTO DEL 2000

202344



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.

## *DEDICATORIAS*

A la memoria de mi padre José de Jesús Castelán Morales y a mi madre Rufina Olguín  
Mendoza, quienes con su dedicación y cariño me motivaron y ayudaron siempre  
para lograr esta meta.

## *AGRADECIMIENTOS*

A la Q.B.P. Dora Alicia Pérez González y a la Q.F.B. Yolanda Flores Cabrera por su apoyo y valiosa asesoría en la realización de este trabajo.

A los sinodales M. en C. Luis Mora Guevara, Q.F.B. Patricia Vidal Millán y M. C. Maurilio Flores Pimentel por sus sugerencias en la revisión de esta tesis.

Al Ingeniero Angel García Tello por todo el apoyo brindado durante la realización de este trabajo.

A mis compañeros de la Facultad, en especial a la Q.F.B. Yadira Dávila Martínez por su valiosa amistad.

A la Q.F.B. Renata Patricia Saucedo García por formar parte importante de mi vida.

## CONTENIDO.

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
III. FUNDAMENTACION	3
3.1. BIOTERIOS	3
3.1.1. CLASIFICACION DE LOS BIOTERIOS	3
3.1.2. IMPORTANCIA DE LOS BIOTERIOS	5
3.2.1. ANIMALES DE LABORATORIO	6
3.2.2. IMPORTANCIA DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO	7
3.3.1. CALIDAD BACTERIOLOGICA DEL AGUA	8
3.3.2. USO DE ORGANISMOS INDICADORES DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DEL AGUA	9
3.3.3. ORGANISMOS DEL GRUPO COLIFORME	11
3.3.4. MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS	12
3.4. ANALISIS MICROBIOLOGICO DEL AGUA	12
3.4.1. TOMA DE MUESTRA	13

3.4.2. METODOS DE RECUESTO DIRECTO	15
3.4.3. METODOS DE RECUESTO INDIRECTO	16
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
V. OBJETIVOS	18
VI. HIPÓTESIS	19
VII. MATERIAL Y METODOS	20
VIII. RESULTADOS	25
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	73
X. CONCLUSIONES	78
XI. SUGERENCIAS	79
XII. REFERENCIAS.	80

## I. RESUMEN

Se realizó un estudio microbiológico del agua utilizada en el bioterio de la FES-Zaragoza, con la finalidad de conocer el grado de contaminación bacteriana presente en esta, para ello se tomaron muestras de los bebederos de las salas donde se mantienen animales destinados a los trabajos de docencia, además del tanque de almacenamiento, los grifos y las cubetas utilizadas para el transporte del agua dentro del mismo bioterio. Se realizaron dos pruebas para determinar la calidad bacteriológica del agua, estas son: Número más probable de organismos coliformes y recuento de mesófilos aerobios, posteriormente se aislaron e identificaron algunas de las bacterias presentes en las diferentes muestras analizadas. Los resultados obtenidos indican que el grado de contaminación bacteriana en el agua del bioterio de la FES-Zaragoza es elevado, además se identificaron algunos microorganismos patógenos como son: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Proteus vulgaris*. Se concluyó que esta agua representa un riesgo importante para la salud no solo de los animales sino también del personal que labora en estas instalaciones, al no tener conocimiento del grado de contaminación del agua que utilizan.

## II. INTRODUCCION.

Un bioterio es una área especializada en el mantenimiento, control y producción de diversas especies animales destinadas a la realización de pruebas de laboratorio las<sup>1</sup> cuales deben contar con características especiales para que puedan cumplir adecuadamente los objetivos para los que son producidos. El bioterio de la FES-Zaragoza constituye una área de apoyo fundamental para las distintas labores que se realizan dentro de la institución, ya que se encarga de proveer animales que son utilizados en actividades de investigación y docencia.

El propósito fundamental de la producción de animales de laboratorio es lograr que estos muestren respuestas estándar a la manipulación experimental, con el fin de obtener resultados confiables y sobre todo reproducibles en los experimentos realizados con ellos, por lo anterior es de vital importancia que estos se encuentren completamente sanos y libres de microorganismos patógenos. Comúnmente el agua no es considerada de manera importante en la dieta de los animales a pesar de que esta cumple con diversas funciones, además de ser una fuente potencial de microorganismos patógenos. La mayoría de las bacterias patógenas que pueden ser transmitidas por el agua habitan en el intestino del hombre y de los animales de sangre caliente, por lo que la presencia de contaminación fecal en una muestra de agua la hace no apta para consumo humano o de animales. Existen dos pruebas muy utilizadas para determinar la calidad microbiológica en muestras de agua, estas son. Número más probable de organismos coliformes, esta prueba indica la presencia de microorganismos del grupo coliforme y por lo tanto es una medida del grado de contaminación fecal presente en la muestra; la segunda prueba es el recuento de organismos mesófilos aerobios, esta prueba es de gran importancia ya que puede dar una idea de el grado de contaminación por materia orgánica la cual favorece el desarrollo de toda clase de microorganismos los cuales no necesariamente son patógenos.

Este trabajo tiene por objeto estudiar microbiológicamente el agua que se utiliza en la dieta de los animales del bioterio de la FES-Zaragoza, con el fin de descartar que esta pueda constituir un peligro para la salud de los mismos, además se pretende identificar algunas de las posibles bacterias patógenas presentes en las diferentes muestras.

### **III. FUNDAMENTACION.**

#### **3.1. BIOTERIOS.**

Se le denomina bioterio al recinto destinado a la producción de animales de laboratorio para propósitos determinados <sup>1</sup>

Un bioterio constituye una área de apoyo básico, especializado en la producción y mantenimiento de diversas especies animales de laboratorio. Su misión institucional se establece en relación directa con los fines para el cual haya sido creado. En aquellas instancias en donde el énfasis del trabajo es la enseñanza e investigación biomédica, su esquema de trabajo será enfocado a la provisión de servicios muy generales, de la misma manera si la tarea fundamental es el control de calidad de productos químicos y biológicos se dará más interés a la compra y cuarentena de animales de laboratorio.<sup>2</sup>

El propósito de la producción de animales de laboratorio es el de tener animales que muestren respuestas estándar a la manipulación experimental, esto significa que la variabilidad puede ser mantenida en un mínimo y por consiguiente los experimentos pueden producir resultados significativos utilizando un número mínimo de animales, debido a lo anterior, estos animales deben ser criados bajo condiciones estándar, deben estar libres de enfermedades y en algunos casos deben contar con condiciones genéticas y microbiológicas definidas.<sup>3</sup>

##### **3.1.1. CLASIFICACION DE BIOTERIOS**

Para poder aprovechar al máximo las instalaciones de un bioterio y al mismo tiempo producir animales de buena calidad para la investigación, es necesario definir el tipo de bioterio con el que se cuenta y cuales son sus características y limitaciones. Existen varios criterios para clasificar bioterios, de entre los cuales se pueden mencionar los siguientes:

- A. Propósito para el que fue creado.
- B. Tipos de barreras, restricciones o controles físicos y microbiológicos del ambiente.
- C. Dependiendo del tiempo de experimentación

A. De acuerdo con el propósito con el que fueron creados, los bioterios pueden clasificarse en:

- Centros de producción.
- Centros de experimentación.
- Centros mixtos de producción y experimentación.

Centros de producción.- Los bioterios denominados centros de producción tienen como propósito fundamental producir animales en grandes cantidades para satisfacer la demanda de los laboratorios.

Centros de experimentación.- Son bioterios en los cuales se efectúan trabajos de experimentación exclusivamente, en estos bioterios no se producen animales, a menos que los experimentos así lo requieran.

Centros mixtos de producción y experimentación.- En este tipo de bioterios, los animales son producidos y utilizados dentro de la misma institución, este es el tipo de bioterio más común.

B. De acuerdo al tipo de barreras, restricción, control físico y microbiológico del ambiente:

El tipo de barrera utilizada depende del tipo de animal que se pretende producir, existen diversas categorías:

\* (Una estrella).- Animales criados sin barreras. Son animales libres de enfermedades transmisibles al hombre y son apropiados para labores de enseñanza

\*\* (Dos estrellas).- Animales comparables a los criados sin barreras pero mantenidos en condiciones excelentes de higiene. Estos animales están libres de enfermedades epidémicas serias, por lo que son recomendables para la mayor parte de los experimentos de corta duración.

\*\*\* (Tres estrellas).- Los animales de este tipo son obtenidos generalmente por cesárea y por lo tanto están libres solo de microorganismos que no son capaces de cruzar la barrera placentaria.

\*\*\*\*(Cuatro estrellas).- Estos animales son los llamados comúnmente animales libres de patógenos específicos. Están mantenidos bajo estrictas normas de manejo y seguridad utilizando barreras físicas y administrativas.

\*\*\*\*\* (Cinco estrellas).- Estos animales son mantenidos en un sistema estéril, completamente cerrado, por lo tanto están libres de cualquier microorganismo.

C. De acuerdo con el tiempo de experimentación.

Para experimentos de corta duración.

Para experimentos de larga duración.

Experimentos de corta duración.- Son aquellos en los que el periodo experimental es menor de tres meses y los animales son sacrificados en ese lapso. Este tipo de bioterio no requiere de instalaciones muy sofisticadas.

Experimentos de larga duración.- Son bioterios en los que es posible realizar estudios en animales por periodos mayores de tres meses e incluso años, sin que se afecten los resultados de los experimentos por causas ambientales.<sup>4</sup>

### 3.1.2. IMPORTANCIA DE LOS BIOTERIOS.

Los animales de laboratorio han desempeñado un papel importante en el entendimiento de los procesos biológicos. Sus contribuciones pasadas han sido la base de muchos de los actuales conocimientos dentro de una nueva y cada vez más sofisticada área de investigación.<sup>5</sup>

El bioterio de la FES-Zaragoza tiene como objetivos fundamentales:

- Proveer y producir animales de experimentación saludables, y en un número adecuado para las necesidades del plantel.
- Administrar las reservas para el cuidado y alojamiento de los animales de bioterio.
- Comprar y mantener el equipo, materiales etc. Necesarios para la operación funcional del mismo.
- Proporcionar cuidados veterinarios, así como postoperatorios a los animales utilizados en proyectos de enseñanza e investigación

- Asesorar a los investigadores en el uso de animales es decir, indicar que especies son las más aptas para determinados estudios etc.<sup>6</sup>

### 3.2.1. ANIMALES DE LABORATORIO.

Por muchos años aquellos que han trabajado con animales de laboratorio repetidamente han sido frustrados por la presencia de enfermedades que han ocasionado la muerte prematura de los mismos o interferido con los resultados experimentales<sup>5</sup>, es por ello que los animales de experimentación requieren de cuidados y condiciones de vida especiales. Los diferentes usuarios de los animales de laboratorio tienen requerimientos particulares con respecto a la flora microbiana de los mismos. Un microorganismo que puede no ser de gran importancia para un usuario puede ser de vital significancia para otro, por ejemplo *Pseudomonas sp* usualmente no es de importancia para el usuario común sin embargo si los animales van a ser sometidos a irradiación de cuerpo entero *Pseudomonas sp* puede resultar mortal para el animal<sup>3,7,8</sup>

En el bioterio de la FES-ZARAGOZA se mantienen tres especies animales, ratones, ratas y conejos, los cuales son utilizados en las diferentes actividades que se realizan en el plantel.

#### Usos del ratón en el laboratorio.

El ratón es un animal de laboratorio muy popular por su tamaño corporal relativamente pequeño, fácil manejo y bajo costo de mantenimiento. La facilidad con la que son mantenidos y el gran número de mutaciones que han sido encontradas en ellos hacen de este roedor el modelo animal favorito para los genetistas de mamíferos. La corta vida del ratón comparada con la de los conejos, perros y primates lo hacen útil en estudios toxicológicos y de envejecimiento. El ratón también es utilizado para investigar problemas del comportamiento, microbiología y teratología, se utilizan de manera frecuente para probar la seguridad y eficacia de productos farmacéuticos.<sup>3,9</sup>

#### Usos de la rata en el laboratorio.

La gran flexibilidad, adaptabilidad y resistencia de la rata la han hecho un modelo satisfactorio para gran variedad de diferentes experimentos, disciplinas completas como la endocrinología, han sido encontradas en estudios con ratas. Esta especie es utilizada en estudios de bioquímica, farmacología, toxicología, fisiología experimental, neurofisiología, y oncología. En un estado temprano la rata llega a ser el principal animal utilizado en estudios de nutrición<sup>10,11</sup>. Recientemente se ha encontrado que la rata es especialmente útil

en estudios de microcirugía y procedimientos de trasplantes, su gran parecido fisiológico al hombre es una ventaja más para su uso como animal de laboratorio.

A las ratas comúnmente se les da agua de grifo, sin embargo esta agua debe ser monitoreada para el conteo de bacterias y la ausencia de patógenos. Cuando no se puede confiar en la calidad del agua, esta debe ser acidificada con HCL a pH de 3 a 3.5 para eliminar a la mayoría de bacterias y virus. El agua de bebida acidificada es tolerada sin afectar el apetito pero las lesiones dentales no deben excluirse, la acidificación también reducirá el crecimiento bacteriano y fúngico en el agua dentro de los frascos y en tuberías que han sido contaminadas con alimentos.

#### Usos del conejo en el laboratorio.

Los usos en investigación del conejo incluyen cirugía cardíaca, estudios de hipertensión, enfermedades infecciosas, virología, embriología, toxicología, teratología, arterioesclerosis y genética serológica. El conejo es de especial importancia en estudios de reproducción ya que su ovulación no es espontánea, la gestación es corta y el semen puede ser recolectado fácilmente.

Los conejos son utilizados rutinariamente en trabajos serológicos y para la búsqueda de agentes embriotóxicos y teratógenos, otras aplicaciones incluyen el diseño de anticonceptivos. El agua de bebida para el conejo debe ser limpia y fresca, libre de patógenos y en cantidades suficientes.<sup>12-14</sup>

### **3.2.1. LA IMPORTANCIA DEL AGUA EN LOS ANIMALES DE LABORATORIO.**

El agua frecuentemente es excluida de las consideraciones nutricionales, sin embargo es un factor muy importante en la dieta, cumple con gran variedad de funciones dentro de las cuales una de las más importantes es la de ser un medio de transporte, tanto de nutrientes como de productos de desecho a través del cuerpo. El agua también está involucrada en las reacciones químicas que se llevan a cabo en el organismo juega un papel muy importante en el sentido del gusto y el olfato además ayuda en el control de la temperatura corporal entre otras funciones. El agua de bebida es quizá el vector más importante de infecciones, de ellos se pueden aislar gran cantidad de microorganismos<sup>15</sup>, esto se debe a que los animales cuando toman el agua la contaminan a través de su boca, saliva, manos pelos, orina y materia fecal, además de agregarle partículas de alimento. Con el paso del tiempo al contaminarse el agua y elevarse su temperatura llega a constituir prácticamente un medio de cultivo.<sup>16</sup>

En los animales terrestres el agua se pierde constantemente a través de la evaporación en la piel, membranas mucosas, pasajes respiratorios y orina, por consiguiente esta agua debe ser reemplazada regularmente; los animales pueden vivir sin alimento mucho más tiempo que

sin agua, especialmente los animales de laboratorio deben tener acceso libre para beber agua en todo momento.

Todos los animales de laboratorio requieren dietas libres de microorganismos patógenos, esta consideración debe ser tomada en cuenta al seleccionar su alimento, el agua de bebida es una fuente potencial de organismos patógenos, metales y productos químicos, el tipo y cantidad de contaminación de esta dependerá de su fuente de obtención.<sup>3,17</sup> El agua de los grifos no es estéril y se contamina rápidamente con bacterias, los frascos y tubos utilizados para dar de beber a los animales, generalmente no son lavados de manera adecuada, por lo tanto son una fuente de contaminación bacteriana muy importante además algunos animales impulsan la cama de aserrín y las heces hacia dentro del frasco lo cual ocasiona una contaminación mayor.<sup>18</sup> Los frascos de agua y tubos de bebida frecuentemente son contaminados por *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias coliformes, la primera mata a los ratones que han sido inmunosuprimidos y está asociada con encefalitis y otitis media.<sup>3,19</sup>

El autoclaveado de los frascos de agua llenos y de los tubos de bebida elimina la contaminación bacteriana que pudo haber surgido de la manipulación de estos objetos, pero no previene una contaminación posterior. Las cuentas bacterianas del agua en uso generalmente rebasan los estándares recomendados para el agua de consumo humano después de dos días de haber sido colocada en las jaulas.<sup>3,18</sup> La contaminación puede ser controlada por acidificación del agua a un pH de 2.5- 3 o desinfección con cloro 10-15 ppm de cloro residual.<sup>3</sup>

### 3.3.1. CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA.

Los criterios de calidad del agua pueden definirse como los niveles o concentraciones que deben respetarse para poder darle al agua un uso determinado. Por otro lado, las normas son los ordenamientos reglamentarios en cuanto a los niveles o concentraciones de contaminantes establecidos por la autoridad competente con el propósito de proteger o preparar el recurso para uno o más usos.<sup>20</sup> Los análisis bacteriológicos del agua tienen como objeto poner de manifiesto la presencia de bacterias que modifican la actitud del agua para una utilización dada, de manera que el análisis microbiológico debe ser interpretado de acuerdo con el uso que se le pretenda dar. Una de las características de la mayoría de las aguas naturales es que contienen una amplia variedad de microorganismos que forman un sistema ecológico balanceado. Los tipos y números de los diferentes grupos de microorganismos presentes están relacionados con la calidad del agua y factores ambientales.<sup>21</sup>

Debido a la importancia que tiene el agua en la vida del hombre, si está contaminada, se convierte en un medio de gran potencial para transmitir una amplia gama de padecimientos. En el mundo desarrollado las enfermedades transmitidas por el agua son raras, esto se debe

esencialmente a la presencia de sistemas eficientes de abastecimiento de agua y eliminación del agua residual. Sin embargo en los países en desarrollo muchas personas no cuentan con un abastecimiento de agua seguro y adecuado, esto da como resultado que las enfermedades hídricas en estas zonas alcancen cifras escalofriantes. En una encuesta hecha por la OMS destacan los siguientes hechos:

- Cada día mueren aproximadamente 30 000 personas por causa de enfermedades hídricas.
- En los países en vías de desarrollo , el 80% de las enfermedades son de origen hídrico
- Una cuarta parte de los niños que nacen en los países en vías de desarrollo mueren antes de cumplir cinco años, la gran mayoría por enfermedades de origen hídrico.<sup>22</sup>

Las bacterias son el grupo de microorganismos más importante en cuanto a frecuencia de detección en agua potable y son las causantes de la mayoría de las enfermedades hídricas registradas, estas enfermedades comúnmente están relacionadas con bacterias de origen fecal.<sup>23</sup>

En México la norma oficial mexicana NOM- 127-SSA1-1994<sup>24</sup>, establece los límites de calidad bacteriológica permisibles estos son:

Característica	Límite permisible.
Organismos coliformes totales	2 NMP/100mL 2 UFC/100mL
Organismos coliformes fecales	No detectable, NMP/100mL Cero UFC/100mL

La cantidad de organismos mesófilos aerobios a 35 °C por 24 horas permisibles es de hasta 200 UFC/ mL.<sup>25</sup>

### **3.3.2. USO DE ORGANISMOS INDICADORES DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA.**

El reconocimiento de que las infecciones microbianas pueden ser transmitidas por el agua, ha dado lugar al desarrollo de métodos para efectuar exámenes de rutina que garanticen la calidad microbiológica de esta. Solo las bacterias patógenas para el hombre o los animales; son de importancia sin embargo cuando estas están presentes en una muestra agua, generalmente su número es muy limitado, debido a esto es muy difícil ponerlas en evidencia.<sup>21</sup>

Se sabe que la gran mayoría de los gérmenes patógenos transmitidos por el agua, habitan en los intestinos del hombre y de los animales de sangre caliente por lo tanto la manifestación de una contaminación fecal constituye una excelente señal de alarma.<sup>20</sup> La contaminación fecal del agua potable puede incorporar gran variedad de organismos patógenos intestinales bacterianos, virales y parasitarios cuya presencia está relacionada con enfermedades. Las bacterias patógenas intestinales se hallan diseminadas a lo largo y ancho del planeta un ejemplo de ellas son: *Salmonella*, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, y *Campylobacter fetus*. Estos organismos pueden ser causantes de enfermedades cuyo índice de gravedad va desde la ligera gastroenteritis hasta casos graves y a veces fatales de cólera o tifoidea.<sup>25</sup>

Aunque en la actualidad es posible detectar la presencia de múltiples organismos patógenos en el agua, los métodos de aislamiento y cuantificación suelen ser complejos y demandar demasiado tiempo, por lo tanto es poco práctico someter a vigilancia el agua potable para detectar a todo microorganismo patógeno, una opción más práctica es detectar a los organismos que normalmente se encuentran en las heces de los seres humanos y animales de sangre caliente como indicadores de contaminación por excrementos<sup>26</sup>. El empleo de estos organismos se fundamenta por que se presentan de manera constante en la materia fecal, por no reproducirse en aguas limpias, tienden a morir en el agua a un ritmo igual que las bacterias patógenas<sup>27,28</sup>. La presencia de organismos de origen fecal indica la posibilidad de que se encuentren presentes organismos patógenos intestinales y de la misma forma la ausencia de organismos de origen fecal sugieren que con toda seguridad en el agua no se encuentran organismos patógenos intestinales. El uso de organismos intestinales normales como indicadores de contaminación fecal, en lugar de los organismos patógenos mismos, es un principio de aceptación universal en la vigilancia y la evaluación de la seguridad microbiana en los sistemas de abastecimiento de agua.<sup>26</sup>

Los organismos indicadores de contaminación fecal deben cumplir con ciertas características importantes como son:

- Deben ser abundantes en las heces fecales, pero estar ausentes o en números reducidos en otras fuentes
- Fáciles de aislar, identificar y enumerar.
- Deberán ser incapaces de desarrollarse en el agua.
- Deberán sobrevivir más tiempo en el agua que los microorganismos patógenos.
- Deben ser más resistentes a los desinfectantes

En la práctica todos los criterios anteriores no pueden darse en un solo microorganismo, las bacterias coliformes sin embargo cumplen muchos de ellos, especialmente *E. coli* que es el principal indicador de contaminación por materia fecal de origen humano o animal.<sup>26</sup>

### 3.3.3. ORGANISMOS DEL GRUPO COLIFORME.

Las bacterias coliformes son un grupo heterogeneo compuesto por varios grupos. Existe poca evidencia que indique que estas bacterias coliformes pertenezcan a un solo género taxonómico<sup>29</sup>. Fueron descritos por Escherich en 1886 como *Bacterium coli commune*, estos organismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, ya que se encuentran universalmente en los intestinos del hombre y de los animales de sangre caliente. Algunas variedades parecen estar libres en la naturaleza, pero es probable que representen contaminaciones distantes.<sup>30</sup> Los bacilos coliformes muestran considerables variaciones en su morfología, varían de 2 a 4 micras de longitud por 0.4 a 0.7 micras de ancho. Frecuentemente se encuentran formas muy cortas, ovals parecidas a cocos. Eventualmente hay bacilos en pares y en cadenas cortas, algunas variedades son capsuladas.

Desde hace tiempo se reconoce que los organismos del grupo coliforme son un buen indicador microbiano de la calidad del agua debido a que son fáciles de detectar y enumerar, por eso es la determinación más popular que se realiza para conocer la calidad microbiológica del agua potable.<sup>31</sup> Las bacterias coliformes son bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, que a 35°C fermentan la lactosa con la producción de gas bajo las condiciones especificadas en la norma oficial mexicana NOM-112-SSA1-1994.<sup>29</sup>

La colimetría designa los métodos bacteriológicos que permiten investigar y contar los coliformes en una muestra de agua. Este examen es el más frecuente y el más importante que se practica referente a las preocupaciones sanitarias.<sup>32</sup> Existen gran variedad de técnicas y medios de cultivo para determinar coliformes basados en la capacidad que tienen estos organismos para fermentar la lactosa en 24 a 48 horas<sup>33</sup>, el recuento puede efectuarse en medios líquidos o sólidos.<sup>34</sup>

Como se mencionó anteriormente, el recuento de coliformes agrupa un cierto número de especies bacterianas pertenecientes a la familia de las *Enterobacteriaceae* cuya característica principal es la fermentación de la lactosa con producción de gas. El número de estas bacterias que se encuentre en un volumen de agua definido es una medida de la cantidad de aguas negras o desperdicios que se hayan descargado en el agua, y puede interpretarse como una medida de la seguridad del agua para el consumo humano.<sup>26</sup> Si en una muestra de agua se encuentra un gran número de bacterias coliformes será intensa la contaminación y el agua no será de calidad satisfactoria y sí potencialmente insegura.

### 3.3.4. MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS.

Este es uno de los exámenes más utilizados en el análisis microbiológico del agua de consumo, la presencia de un número elevado de microorganismos mesófilos aerobios,

indica la presencia de materia orgánica o condiciones favorables para la multiplicación de microorganismos, esto da información sobre el grado de exposición al medio ambiente de la fuente de agua.<sup>22</sup> Un elevado número de microorganismos mesófilos aerobios no necesariamente indica una mala calidad del agua. Los resultados de esta prueba se deben de interpretar en relación con estudios previamente realizados, por ejemplo es frecuente que una muestra de agua recién salida de una planta de tratamiento tenga un número pequeño de estos microorganismos, una vez que el agua es distribuida por la red y presenta un número elevado de organismos mesófilos aerobios, se debe sospechar que hay un problema en la red de abastecimiento y que el agua esta siendo contaminada.

En realidad esta técnica no pretende poner en evidencia todos los microorganismos presentes. La variedad de especies y tipos diferenciables por sus necesidades nutricionales, temperaturas requeridas para su crecimiento, oxígeno disponible etc. , hacen que el número de colonias contadas solo represente una estimación del número real de microorganismos presentes en una muestra<sup>35</sup>

El método más empleado en el recuento de microorganismos mesófilos aerobios, es el de vaciado en placa , sin embargo tiene la desventaja de no poder analizar volúmenes elevados de muestra. Por otra parte este método implica el contacto de la muestra con el medio de cultivo a una temperatura de 45 °C lo cual puede traer como consecuencia la muerte de los microorganismos debido al choque térmico. Cuando se desean resultados más confiables generalmente se recurre al método de la membrana filtrante.

### **3.4. ANALISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA.**

No es posible hacer un juicio sobre la calidad bacteriológica del agua de utilización sanitaria después de la realización de un análisis inicial, por el contrario este debe ser replanteado y vigilado constantemente<sup>21</sup>, normalmente esto no se hace por cuestiones económicas y técnicas. El análisis bacteriológico puede ser cualitativo o cuantitativo siendo este último el más frecuente y en el cual los resultados se obtienen siguiendo dos procedimientos principalmente:

- Un recuento directo de las colonias resultantes de los gérmenes contenidos en la muestra después de la siembra sobre o en un soporte nutritivo sólido.
- Una estimación de naturaleza estadística, después del reparto del inóculo en un cierto número de tubos con medio de cultivo líquido, teniendo en cuenta el número de resultados positivos y negativos

Un examen bacteriológico no puede ser válido si no se efectúa una toma de muestra adecuada siguiendo un procedimiento preciso, evitando toda contaminación accidental, la muestra debe ser correctamente transportada al laboratorio y analizada sin demora.<sup>17</sup>

### 3.4.1 TOMA DE MUESTRA.

Recipientes.- Las muestras para estudios microbiológicos, deben ser tomadas en botellas cuidadosamente lavadas y aclaradas, se deben enjuagar con agua destilada y esterilizar, en algunos casos se pueden utilizar bolsas de plástico estériles.<sup>17</sup> El recipiente utilizado debe asegurar una vez tapado una protección total contra toda contaminación. No debe tener sustancias tóxicas para las bacterias. Es aconsejable utilizar frascos de vidrio, de 500 mL de preferencia que sean de borosilicato y con tapón esmerilado, se recomienda poner una etiqueta que permite escribir los datos de la muestra. Es preciso poner los frascos en un estuche metálico adaptado a su medida para asegurar su protección durante los transportes y evitar desgarros en la envoltura. Actualmente existen en el mercado frascos de plástico especiales para toma de muestra de agua, estos se esterilizan con óxido de etileno, es importante tomar en cuenta en estos frascos que puedan cerrarse herméticamente y que no contengan óxido de etileno residual.<sup>21</sup>

Descloración.- Es importante eliminar el cloro en las muestras que se van a analizar, debido a que este puede interferir en los resultados, esto se logra añadiendo un agente reductor en los recipientes en los que se recoge la muestra, el agente puede ser tiosulfato de sodio, este agente neutraliza todos los residuos de halógenos e impide el mantenimiento de la acción bactericida de estos. Para recoger muestras de agua clorada, se debe añadir tiosulfato de sodio en suficiente cantidad, para alcanzar una concentración de 100 mg/L en la muestra. En una botella de 120 mL, 0.1 mL de una solución de tiosulfato de sodio al 10% neutraliza una muestra que contenga alrededor de 15 mg/L de cloro residual.

- Procedimiento de toma de muestra.<sup>36</sup>
- La muestra destinada al análisis se toma de modo que represente lo más exactamente posible al medio del que proviene. Siempre que sea posible se debe llenar el frasco a 2/3 partes de su capacidad para que la muestra se pueda homogeneizar posteriormente.
- El frasco donde se colecta la muestra no debe destaparse sino hasta el momento de realizar el muestreo. Al muestrear se debe evitar que el cuello del frasco se ponga en contacto con los dedos o cualquier otro material contaminante.
- El examen de la muestra colectada debe realizarse lo más pronto posible, para evitar la proliferación o muerte de las bacterias. Cuando el examen se practica dos horas después de la toma de muestra los resultados empiezan a ser inciertos.

- El volumen de muestra suficiente para realizar el análisis bacteriológico , de preferencia debe ser de aproximadamente 100 mL. Es importante que todas las muestras estén acompañadas de datos completos y exactos de identificación y descripción.
- Muestreo de pozos y grifos.
  - Si el pozo está provisto de una bomba mecánica, bombear durante 5 minutos para que el agua fluya libremente antes de tomar la muestra.
  - Al efectuar este muestreo se debe evitar que el agua escurra fuera del frasco; además se deben flamear los bordes del frasco y tapón durante el tiempo que dura el muestreo. Esto se hace con objeto de mantener al máximo las condiciones de asepsia.
  - Si no se cuenta con equipo de bombeo, tomar la muestra directamente del pozo por medio de un frasco estéril con lastre. En este caso se debe evitar la contaminación de la muestra con las natas superficiales.
  - Si se trata de tomar una muestra de un grifo, flamear el grifo y abrirlo completamente, dejando que fluya el agua por 2 o 3 minutos o el tiempo necesario para permitir la purga de la línea.
  - En el momento del muestreo restringir el flujo de la llave para que se pueda llenar el frasco sin salpicaduras.
  - Se debe evitar que el agua escurra fuera del frasco y se deben flamear los bordes del frasco y tapón durante el muestreo
- Preservación y almacenamiento
  - El análisis bacteriológico de la muestra debe practicarse inmediatamente después de su recolección .
  - Se recomienda que de no efectuarse así el análisis se inicie dentro de las dos horas posteriores a la recolección de la muestra y en ningún caso este lapso debe exceder de 24 horas para agua potable y de 6 horas para otros tipos de agua para que sea válido el resultado del análisis.
  - Durante el periodo que transcurre del muestreo al análisis, se debe de conservar la muestra a 4 °C, con objeto de inhibir la actividad bacteriana para no obtener resultados falsos o dudosos.

Cuando se realizan tomas directas de ríos, lagos, y fuentes, se toman muestras representativas del agua que llega a los consumidores, no es conveniente tomar muestras muy cerca de la orilla ni a demasiada profundidad ya que en estas zonas el agua se encuentra estancada y no representa adecuadamente al agua que llega a los consumidores.

### 3.4.2 METODOS DE RECuento DIRECTO.

En este tipo de métodos las bacterias son dispersadas en un medio sólido dando origen en condiciones favorables al crecimiento de colonias aisladas las cuales pueden ser contadas directamente. Conociendo el volumen de muestra sembrado es posible dar un resultado cuantitativo por unidad de volumen.

El objeto de este tipo de estudio es el recuento de un cierto grupo de microorganismos unidos entre si por una característica en particular, por lo tanto es necesario definir la formulación del medio de cultivo a utilizar así como las condiciones de incubación. En algunos casos es necesario un tratamiento previo de la muestra de manera que se favorezca el crecimiento de algún microorganismo de interés, el uso de medios de cultivo selectivos también es útil para este propósito.

Existen dos métodos de recuento en medio sólido.<sup>21</sup>

- El método por incorporación de la muestra en el medio sólido.
- El método por extensión en superficie.

En el recuento por incorporación, el inóculo se mezcla perfectamente con el medio fundido en una caja de Petri. Después de la solidificación e incubación se realiza el recuento de las colonias desarrolladas. En este método es importante tener en cuenta algunas consideraciones importantes como son:

- La dificultad relativa para el recuento de las colonias en los casos en los que el medio de cultivo es turbio o la muestra contiene un elevado número de partículas en suspensión.
- La necesidad de una relación correcta entre el volumen del medio de cultivo y la muestra, además de la concentración de bacterias.

En el recuento por extensión en superficie, una porción de la muestra se extiende sobre la superficie de un medio de cultivo sólido, el volumen varía de 0.1 a 0.2 mL, dependiendo del diámetro de la caja de Petri, este método no es útil en casos donde la muestra tiene una alta concentración de bacterias, su principal utilidad es la de permitir observar la diferente morfología colonial y en algunos casos diferenciar bacterias.

Existe también el método de cultivo sobre membrana filtrante, el cual consiste de manera general en filtrar la muestra a través de una membrana, la cual posteriormente se coloca sobre un medio de cultivo adecuado, después de la incubación se pueden leer directamente el número de colonias desarrolladas sobre la superficie del medio, para poder obtener

buenos resultados con éste método es necesario tener en cuenta algunas consideraciones importantes:

- No se deben filtrar muestras ricas en partículas suspendidas ya que esto ocasiona la saturación de la membrana.
- El número de colonias que se desarrollan en la membrana no debe ser muy grande, se recomienda que no excedan de 100, ya que puede haber confluencia de colonias, lo cual puede alterar los resultados

### **3.4.3. METODO DE RECUENTO INDIRECTO POR CALCULO ESTADISTICO.**

Los métodos indirectos son mucho menos precisos que los métodos directos, sin embargo es posible dar un juicio cuantitativo jugando con los volúmenes de la muestra, por ejemplo si la siembra se hace con 10, 1 y 0.1 mL de la muestra en tres tubos de medio líquido y la presencia del microorganismo se demuestra en el tubo con 10 mL se puede suponer que al menos existe un microorganismo por cada 10 mL de muestra.<sup>21</sup>

En el caso de la técnica de fermentación en tubos múltiples los resultados del estudio de los tubos y diluciones se expresan en términos de número más probable de microorganismos existentes. Este número basado en determinadas fórmulas de probabilidad, es un cálculo de densidad media de coliformes en la muestra. La precisión de cada prueba depende del número de tubos utilizados. La carga bacteriana puede calcularse utilizando tablas para NMP (número más probable), las cuales se basan en la hipótesis de una distribución de Poisson, si la muestra no se agita adecuadamente antes de ser inoculada en los tubos el valor de NMP puede resultar menor que el número real de densidad bacteriana.<sup>28</sup>

#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

El bioterio de la FES-Zaragoza, cumple la importante función de proveer de animales de experimentación a dicho plantel, estos son indispensables en las diferentes actividades de docencia e investigación que ahí se realizan, de acuerdo a estos usos es necesario que dichos animales tengan características especiales, una de las más importantes es que se encuentren completamente sanos ya que de lo contrario esto puede influir de manera importante con los resultados de los experimentos realizados con ellos. El agua es el principal vehículo de transporte para diferentes microorganismos, sobre todo de tipo entérico, estos pueden ocasionar enfermedades en los animales desde leves hasta letales, por lo tanto es importante que el agua utilizada en el bioterio cumpla con los criterios de potabilidad, de esta manera se descarta la posibilidad de que pueda influir en la salud de los animales. Actualmente no se realizan estudios microbiológicos al agua que se utiliza para dar de beber a los animales. Con esta tesis se pretende analizar desde el punto de vista microbiológico el agua utilizada en el bioterio de la FES-Zaragoza, determinando si cumple con los criterios de potabilidad, así como establecer el tipo de flora bacteriana predominante. Es importante señalar que este estudio se realizó únicamente en las áreas donde se mantienen animales para uso docente, ya que el bioterio de la FES-Zaragoza también cuenta con una zona estéril donde se mantienen animales utilizados para desarrollar trabajos de investigación.

## **V. OBJETIVOS:**

- 1.- Determinar si el agua que beben los animales del bioterio de la FES-Zaragoza cumple con los criterios de potabilidad.
- 2.- Determinar el tipo de flora bacteriana presente en el agua utilizada en el bioterio.

## **VI. HIPOTESIS:**

Si el agua que se utiliza en el bioterio cumple con los criterios de potabilidad y además hay ausencia de microorganismos patógenos, se podrá decir que esta no representa ningún riesgo para la salud de los animales.

## VII. MATERIAL Y METODOS.

Diseño experimental:

- Tipo de estudio: Transversal y experimental.
  
- Variables:
  - Dependientes: Potabilidad del agua analizada.
  - Independientes: Cuenta de microorganismos mesófilos aerobios.  
Número más probable de microorganismos coliformes.
  
- Muestra: Se tomaron muestras de 100 mL del tanque de almacenamiento de agua, de los diferentes grifos y de cada una de las salas, de estas últimas se escogieron al azar cuatro jaulas para realizar el análisis
  
- Criterios de inclusión y exclusión:
  - Inclusión.- Se tomaron en cuenta las muestras de los bebederos que contenían la suficiente cantidad de agua como para tomar 100 mL de muestra y dejar cierta cantidad para los animales.
  - Exclusión.- Se descartaron las muestras de los bebederos que no contenían una cantidad suficiente de muestra o si se encontraban muy turbias.

### MATERIAL Y EQUIPO.

- |   |                                |
|---|--------------------------------|
| - Olla de presión con manómetro.        | Marca Presto Modelo 20 litros. |
| - Incubadora a 35 °C.                   | RIOSSA                         |
| - Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL.    | PYREX                          |
| - Tubos con tapa de baquelita de 18×150 | PYREX                          |
| - Campana de Durham.                    |                                |
| - Asas bacteriológicas.                 |                                |
| - Cajas de Petri                        | PYREX                          |
| - Portaobjetos.                         |                                |

- Cubreobjetos.
  - Gradilla.
  - Matraces Erlenmeyer de 250 mL
  - Microscopio
  - Balanza granataria
  - Espátula.
  - Algodón.
  - Gasa.
- PYREX  
 CARL ZEISS  
 OHAUS modelo 750SW

#### MEDIOS DE CULTIVO.

- Agar soya tripticasa
  - Agar MacConkey
  - Agar base sangre
  - Agar EMB
  - Caldo lactosado
  - Caldo bilis verde brillante al 2%
  - Caldo nutritivo
  - Caldo RM-VP
  - Caldo rojo de fenol glucosa
  - Caldo rojo de fenol sacarosa
  - Caldo rojo de fenol lactosa
  - Caldo rojo de fenol manitol
  - Caldo rojo de fenol maltosa
  - Caldo rojo de fenol xilosa
  - Medio MIO
  - Medio TSI
  - Medio Urea de Christensen
  - Medio Citrato de Simmons
  - Medio base OF
- BIOXON  
 BIOXON  
 BIOXON  
 MERK  
 BIOXON  
 MERCK  
 MERCK  
 MERCK

## METODOS.

### NUMERO MAS PROBABLE DE MICROORGANISMOS COLIFORMES.<sup>25</sup>

Este estudio consta de dos pruebas, la presuntiva y la confirmatoria.

#### Prueba presuntiva:

- Agitar la muestra y transferir volúmenes de 5 mL a cada uno de 5 tubos con 10 mL de caldo lactosado de doble concentración y 1.0 mL y 0.1 mL respectivamente a dos tubos con 10 mL de caldo lactosado a concentración sencilla.
- Incubar los tubos a 35 °C Examinar los tubos a las  $24 \pm 2$  horas y observar si hay formación de gas. Se sabe que hay una mayor positividad en la prueba confirmatoria cuando la inoculación se hace de los tubos positivos a las 24 horas.<sup>37</sup>
- Si no hay formación de gas en 24 horas, proseguir la incubación 24 horas más. Separar los tubos que presenten gas en cualquier cantidad para someterlos a la prueba confirmatoria.

#### Prueba confirmatoria:

- Agitar suavemente los tubos que presentaron gas en la prueba presuntiva y transferir una asada de cada uno de estos tubos a un tubo con caldo lactosa bilis verde brillante al 2%.
- Incubar a 35 °C durante 48 horas. La formación de gas en cualquier cantidad se considera una prueba confirmatoria positiva.
- Conociendo el número de tubos positivos y negativos de cada dilución, determinar el número más probable de organismos coliformes de acuerdo con la siguiente tabla de probabilidad:

NUMERO MAS PROBABLE DE ORGANISMOS COLIFORMES.<sup>28</sup>

TUBOS INOCULADOS: 5 CON 10 mL, 1 CON 1.0 mL, 1 CON 0.1 mL.

No. De tubos positivos			NMP/100 mL	Límites de confianza	
5-10 mL	1-1 mL	1-0.1 mL		Mínimo	Máximo
0	0	0	< 2	0	5.9
0	1	0	2	0.05	13.0
1	0	0	2.2	0.05	13.0
1	1	0	4.4	0.52	14.0
2	0	0	5.0	0.54	19.0
2	1	0	7.6	1.5	19.0
3	0	0	8.8	1.6	29.0
3	1	0	12.0	3.1	30.0
4	0	1	15.0	3.3	46.0
4	0	0	20.0	5.9	48.0
4	1	0	21.0	6.0	53.0
5	0	0	38.0	6.4	330.0
5	0	1	96.0	12.0	370.0
5	1	0	240.0	12.0	3700.0

## **RECuento de microorganismos mesófilos aerobios.**

- Agitar el frasco que contiene la muestra de agua, de manera que quede homogénea.
- Evitando todo tipo de contaminación, transferir 1 mL de la muestra a una caja Petri, aplicando la punta de la pipeta en el fondo de la caja, hacerlo por duplicado.
- Agregar de 12-15 mL del medio de cultivo fundido y conservado en baño María a 45°C, mezclarlo con la muestra mediante movimientos rotatorios sobre una superficie horizontal y dejar solidificar.
- No deben transcurrir más de 20 minutos desde el depósito de la muestra en la caja y la adición del medio de cultivo.
- Incubar las cajas en posición invertida durante 24 horas a 35 °C.
- Contar todas las colonias desarrolladas en las placas, no importa las características que presenten

## **Aislamiento e identificación de la flora bacteriana.**

- Trasladar 5 mL de la muestra a un tubo con 5 mL de caldo nutritivo a doble concentración.
- Incubar a 35 °C por 24 horas.
- Del cultivo anterior, tomar una asada y transferirla a una caja de Petri con agar sangre, sembrar por estría cruzada.
- Incubar a 35 °C por 24 horas.
- Seleccionar las diferentes colonias y realizar un frotis a cada una de ellas con tinción de Gram.
- Mantener las cepas en tubo inclinado con agar soya tripticaseína.
- Realizar pruebas bioquímicas a las diferentes cepas aisladas y resembrar en medios selectivos de ser necesario.

## VIII. RESULTADOS.

El bioterio de la FES-Zaragoza en el área donde se mantienen animales para uso docente cuenta con 13 salas en las cuales existe un número variado de jaulas así como de especies animales.

El agua llega al bioterio primeramente a los diferentes grifos instalados en el, posteriormente pasa por un filtro para después llegar a un tanque de almacenamiento, de este tanque se toma el agua de bebida para los animales, la cual es transportada en cubetas a las distintas salas, en donde los técnicos encargados de estas realizan el llenado de las botellas que funcionan como bebederos, es importante señalar que estas botellas se lavan periódicamente y la forma de hacerlo depende del personal encargado de ello.

El análisis microbiológico del agua utilizada en el bioterio de la FES-Zaragoza se inició el 6 de Octubre de 1998, analizando cuatro muestras por semana. Las primeras muestras se tomaron de dos de los grifos encontrados en el bioterio, del tanque de almacenamiento y de una de las cubetas donde se transporta al agua. Posteriormente se fueron tomando cuatro muestras por sala de forma aleatoria, hasta completar las 13 salas, en este tiempo se realizaron dos pruebas: NMP de organismos coliformes y cuenta de mesófilos aerobios, posteriormente se fueron aislando y purificando diferentes microorganismos encontrados en las muestras analizadas, los cuales se mantuvieron en agar soya tripticaseína en tubo inclinado.

Finalmente se realizó la identificación de las diferentes cepas aisladas, realizando para ello diferentes actividades como aislamiento y purificación de cepas, resiembras en medios de cultivo selectivos y/o diferenciales, así como diferentes pruebas bioquímicas.

## Símbolos utilizados en los resultados:

A	ácido
K	alcalino
+	prueba positiva
-	prueba negativa

## MUESTRAS.

### Grifo1:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

- a) Colonias incontables.
- b) Colonias incontables.

NMP de organismos coliforme a 35°C.

20 por cada 100 mL

Flora bacteriana identificada:

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial:

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa:		+		
Oxidasa:		+		
Movilidad		+		
Crecimiento en agar SS		+		
Crecimiento en agar McConkey		+		
Producción de piocianina en agar Tech		+		
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	-	-

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada.

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	-

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

▪ *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

### Grifo 2:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

- Colonias incontables.
- Colonias incontables.

NMP de organismos coliformes a 35°C:

20 por cada 100 mL

Flora bacteriana identificada:

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial:

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa:		+		
Oxidasa:		+		
Movilidad		+		
Crecimiento en agar SS				+
Crecimiento en agar McConkey				+
Producción de pirocianina en agar Tech		+		
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulhídrico
	A	A	-	+

- *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM		-

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	--

Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

- *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

## TANQUE DE ALMACENAMIENTO DE AGUA.

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

- Incontables.
- Incontables.

NMP de organismos coliformes a 35°C:

20 organismos coliformes por cada 100 mL.

Flora bacteriana identificada:

- *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	—	—
Movilidad en medio SIM	--	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	—
Lactosa	—
Xilosa	—
Arabinosa	—
Maltosa	—
Manitol	—

Se descarta la presencia de especies patógenas.

- *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	—

LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato de Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

▪ *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial:

Agar sangre Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS. Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas

Catalasa:		+		
Oxidasa.		+		
Movilidad		+		
Crecimiento en agar SS			+	
Crecimiento en agar McConkey			+	
Producción de pirocianina en agar Tech		+		
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	-	+

▪ *Proteus vulgaris*.<sup>38-40,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos cortos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre Colonias 1-2 mm, redondas, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias 1-2 mm, redondas, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie A	Fondo A	Gas +	Ac. Sulfhídrico +
LIA	Superficie K	Picadura A	Gas +	Ac. Sulfhídrico +
MIO	Movilidad +	Indol +	Ornitina -	
SIM	Sulfhídrico +	Indol +	Movilidad +	
RM-VP	RM +	VP -		

Citrato se Simmons	-
Fenilalanina	+
Catalasa	+
Oxidasa	-

Fermentación de carbohidratos:

Sacarosa	+
Maltosa	+

**CUBETA DE TRANSPORTE DE AGUA:**

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

- a) Colonias incontables.
- b) Colonias incontables.

NMP de organismos coliformes a 35°C:

>240 por cada 100mL

Flora bacteriana identificada:

- *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

- *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos

Morfología colonial encontrada.

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		

Fenilalanina	-
Catalasa	+
Oxidasa	-

▪ *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial:

Agar sangre. Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas

Catalasa:		+			
Oxidasa:		+			
Movilidad		+			
Crecimiento en agar SS				+	
Crecimiento en agar McConkey				+	
Producción de piocianina en agar Tech		+			
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico	
	A	A	-	+	

▪ *Micrococcus sp.*<sup>30,45-46</sup>

Morfología microscópica encontrada: Cocos Gram positivos, agrupados en tétradas y racimos pequeños.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias 1-2 mm, redondas, convexas, ligeramente rosadas, cremosas, no hemolíticas.

Agar S-110: Colonias 1-2 mm, redondas convexas, ligeramente amarillas, cremosas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa:	+
Oxidasa	-
Voges-Proskauer	-
O-F Glucosa	Oxidativo

▪ *Klebsiella pneumoniae*.<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada. Bacilos cortos, Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias 2-3 mm, redondas, convexas, blancas, mucoides, no hemolíticas

Agar McConkey: Colonias 3-4 mm, redondas, convexas, rosas, mucoides.

Pruebas bioquímicas realizadas.

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	-	-	-	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	-	-	+	
RM-VP	RM	VP		
	-	+		
Citrato se Simmons		+		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		
Gas de lactosa a 45°C		+		

▪ *Proteus vulgaris*.<sup>38-40,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos cortos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre Colonias 1-2 mm, redondas, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias 1-2 mm, redondas, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	+
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	A	+	+
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	-	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	

RM-VP	RM	VP
	+	-
Citrato se Simmons		-
Fenilalanina		+
Catalasa		+
Oxidasa		-

Fermentación de carbohidratos

Sacarosa	+
Maltosa	+

**SALA 1:**

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24hs

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

2.2	21	38	20
-----	----	----	----

Flora bacteriana identificada:

- *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
	Citrato se Simmons	-		
	Fenilalanina	-		
	Catalasa	+		
	Oxidasa	-		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

▪ *Pseudomonas aeruginosa*<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram positivos.

Morfología colonial.

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa

Agar SS: Igual que en McConkey

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa		+			
Oxidasa		+			
Movilidad		+			
Crecimiento en agar SS				+	
Crecimiento en agar McConkey				+	
Producción de ptocianina en agar Tech		+			
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico	
	A	A	-	+	

▪ *Proteus vulgaris*.<sup>38-40,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos cortos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre Colonias 1-2 mm, redondas, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas

Agar McConkey: Colonias 1-2 mm, redondas, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	+
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	A	+	+
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	-	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		+		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

Fermentación de carbohidratos:	
Sacarosa	+
Maltosa	+

### SALA 2.:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C

240	240	240	21
-----	-----	-----	----

Flora bacteriana identificada

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada Bacilos delgados Gram negativos

Morfología colonial:

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas

Catalasa:	+
Oxidasa:	+
Movilidad	+
C. en agar SS	+
C. en agar McConkey	+

Producción de pirocianina en agar Tech		+		
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	-	+

▪ *Escherichia coli*.<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos.

Glucosa	—
Lactosa	—
Xilosa	—
Arabinosa	—
Maltosa	—
Manitol	—

Se descarta la presencia de especies patógenas.

SALA 3:

Mesófilos aerobios 35°C / 24 hs

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

240	240	21	21.
-----	-----	----	-----

Flora bacteriana identificada:

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial.

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa:		+		
Oxidasa:		+		
Movilidad		+		
Crecimiento en agar SS		+		
Crecimiento en agar McConkey		+		
Producción de piocianina en agar Tech		+		
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	-	+

▪ *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas.

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada.

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	-

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

#### SALA 4:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

>240	240	240	240.
------	-----	-----	------

Flora bacteriana identificada.

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos:

Morfología colonial:

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa:		+		
Oxidasa:		+		
Movilidad		+		
Crecimiento en agar SS		+		
Crecimiento en agar McConkey		+		
Producción de piocianina en agar Tech		+		
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	-	+

- *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		

Catalasa	+
Oxidasa	-

▪ *Klebsiella pneumoniae*.<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos cortos, Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias 2-3 mm, redondas, convexas, blancas, mucoides, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias 3-4 mm, redondas, convexas, rosas, mucoides.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	-	-	-	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	-	-	+	
RM-VP	RM	VP		
	-	+		
Citrato se Simmons		+		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		
Gas de lactosa a 45°C		+		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas

**SALA 5:**

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

2	<2	8.8	<2
---	----	-----	----

Flora bacteriana identificada.

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial:

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa: +  
 Oxidasa: +  
 Movilidad: +

Crecimiento en agar SS: +  
 Crecimiento en agar McConkey: +  
 Producción de piocianina en agar Tech: +

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	-	+

▪ *Escherichia coli.* <sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas

Agar McConkey. Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		--		
Fenilalanina		--		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

## SALA 6:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs.

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

	A	B	C	D
	5	8.8	8 8	15.

Flora bacteriana identificada:

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial:

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a masa de tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa:					
Oxidasa:					
Movilidad					
Crecimiento en agar SS					
Crecimiento en agar McConkey					
Producción de piocianina en agar Tech					
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico	
	A	A	-	+	

▪ *Klebsiella pneumoniae*.<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos cortos, Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias 2-3 mm, redondas, convexas, blancas, mucoides, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias 3-4 mm, redondas, convexas, rosas, mucoides.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	-	-	-	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	-	-	+	
RM-VP	RM	VP		
	-	+		
Citrato se Simmons		+		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		
Gas de lactosa a 45°C		+		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-

Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

### SALA 7:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

15	15	15	2.
----	----	----	----

Flora bacteriana identificada:

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial:

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a masa de tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa.	+
Oxidasa:	+

Movilidad	+
Crecimiento en agar SS	+
Crecimiento en agar McConkey	+
Producción de piocianina en agar Tech	+

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	-	+

▪ *Klebsiella pneumoniae*.<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos cortos, Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias 2-3 mm, redondas, convexas, blancas, mucoides, no hemolíticas.

Agar McConkey Colonias 3-4 mm, redondas, convexas, rosas, mucoides.

Pruebas bioquímicas realizadas.

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	-	-	-	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	-	-	+	
RM-VP	RM	VP		
	-	+		
Citrato se Simmons		+		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		
Gas de lactosa a 45°C		+		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

### SALA 8:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

5	5	8.8	2.2.
---	---	-----	------

Flora bacteriana identificada:

- *Escherichia coli*..<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas.

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulphídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulphídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulphídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas.

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-

Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas

### SALA 9:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

12	12	2	<2.
----	----	---	-----

Flora bacteriana identificada:

- *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>38-43</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos delgados Gram negativos.

Morfología colonial.

Agar sangre: Colonias de 3 a 4 mm, planas, amarillentas, borde irregular, no hemolíticas, cremosas, intenso olor a tortilla.

Agar McConkey: Colonias redondas, 1-2 mm, translúcidas, cremosas, no fermentadoras de lactosa.

Agar SS: Igual que en McConkey.

Pruebas bioquímicas realizadas:

Catalasa	+
Oxidasa	+
Movilidad	+

Crecimiento en agar SS		+		
Crecimiento en agar McConkey		+		
Producción de pirocianina en agar Tech		+		
TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfídrico
	A	A	-	+

▪ *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

▪ *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-

Movilidad en medio SIM -

Fermentación de carbohidratos.

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

**SALA 10:**

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

<2	<2	<2	<2.
----	----	----	-----

Flora bacteriana identificada.

- *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre. Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	-
Fermentación de carbohidratos		
Glucosa		-
Lactosa		-
Xilosa		-
Arabinosa		-
Maltosa		-
Manitol		-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

#### SALA 11:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C

<2	<2	<2	<2
----	----	----	----

Flora bacteriana identificada:

- *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	-

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

#### SALA 12:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

<2	<2	<2	<2.
----	----	----	-----

Flora bacteriana identificada

- *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada

Agar sangre. Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	--	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas

### SALA 13:

Mesófilos aerobios por duplicado a 35°C / 24 hs:

	A	B	C	D
a)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.
b)	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables.

NMP de organismos coliformes por cada 100 mL a 35°C:

>240	240	240	240
------	-----	-----	-----

Flora bacteriana identificada:

- *Escherichia coli.*<sup>38-42,45</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos Gram negativos.

Morfología colonial encontrada

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, consistencia cremosa, no hemolíticas.

Agar McConkey: Colonias redondas, 2-3 mm, convexas, rosas, consistencia cremosa.

Pruebas bioquímicas realizadas:

TSI	Superficie	Fondo	Gas	Ac. Sulfhídrico
	A	A	+	-
LIA	Superficie	Picadura	Gas	Ac. Sulfhídrico
	K	K	+	-
MIO	Movilidad	Indol	Ornitina	
	+	+	+	
SIM	Sulfhídrico	Indol	Movilidad	
	+	+	+	
RM-VP	RM	VP		
	+	-		
Citrato se Simmons		-		
Fenilalanina		-		
Catalasa		+		
Oxidasa		-		

- *Bacillus sp.*<sup>38-42</sup>

Morfología microscópica encontrada: Bacilos en cadenas Gram positivos.

Morfología colonial encontrada:

Agar sangre: Colonias redondas, 1-2 mm, convexas, blancas, cremosas, no hemolíticas.

Pruebas bioquímicas realizadas:

RM-VP	RM	VP
	-	-
Movilidad en medio SIM	-	

Fermentación de carbohidratos:

Glucosa	-
Lactosa	-
Xilosa	-
Arabinosa	-
Maltosa	-
Manitol	-

Se descarta la presencia de especies patógenas.

TABLA I.

MESOFILOS AEROBIOS 35°C / 24hs

MUESTRA	PROMEDIO DE UFC/mL
Grifo 1	Incontables
Grifo 2	Incontables
Tanque	Incontables
Cubeta	Incontables
Sala 1	Incontables
Sala 2	Incontables
Sala 4	Incontables
Sala 5	Incontables
Sala 6	Incontables
Sala 7	Incontables
Sala 8	Incontables
Sala 9	Incontables
Sala 10	Incontable
Sala 11	Incontables
Sala 12	Incontables
Sala 13	Incontables

TABLA 2.

NMP DE ORGANISMOS COLIFORMES/ 100 mL, A 35°C

Grifo 1	20
Grifo 2	20
Tanque	20
Cubeta	>240

MUESTRAS

	A	B	C	D
Sala 1	2 2	21	38	20
Sala 2	240	240	240	21
Sala 3	240	240	21	21
Sala 4	>240	>240	>240	> 240
Sala 5	2	<2	8.8	<2
Sala 6	5	8 8	8.8	15
Sala 7	15	15	15	2
Sala 8	5	5	8.8	2 2
Sala 9	12	12	2	<2
Sala 10	<2	<2	<2	<2
Sala 11	<2	<2	<2	<2
Sala 12	<2	<2	<2	<2
Sala 13	>240	>240	>240	>240

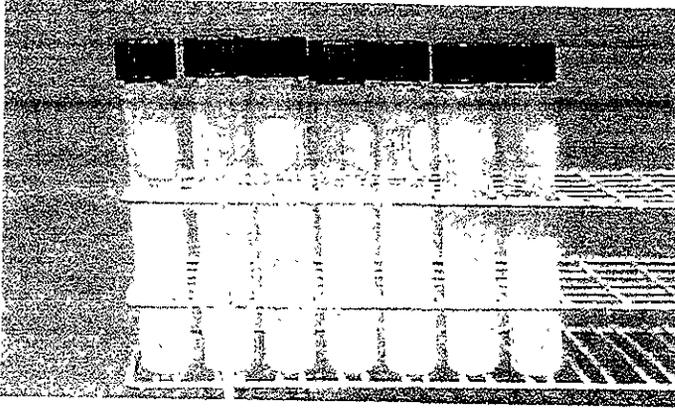
TABLA 3

FLORA BACTERIANA.

Microorganismo	Zona donde se encontró
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grifo, tanque, cubeta, salas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.
<i>Escherichia coli</i>	Grifo, tanque, cubeta, salas 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9.
<i>Bacillus sp</i>	Grifo, tanque, cubeta, salas 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,
<i>Proteus vulgaris</i>	Tanque, cubeta, sala 1,
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cubeta, salas 4, 6, 7,
<i>Micrococcus sp</i>	Cubeta.

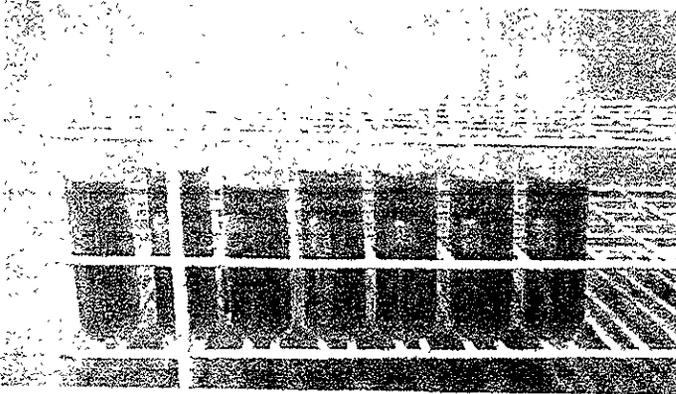
**FIGURAS A COLOR.**

Figura 1



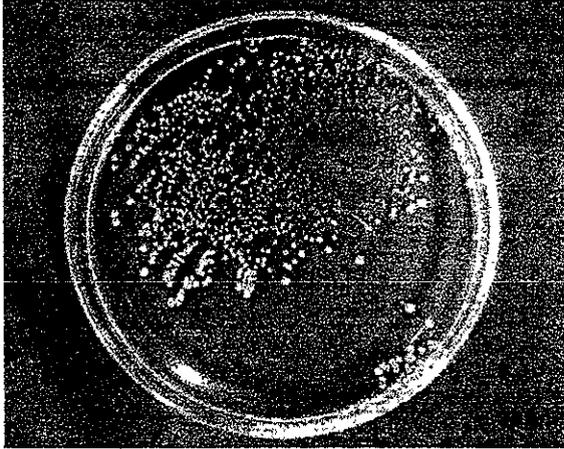
Prueba presuntiva de NMP de organismos coliformes

Figura 2



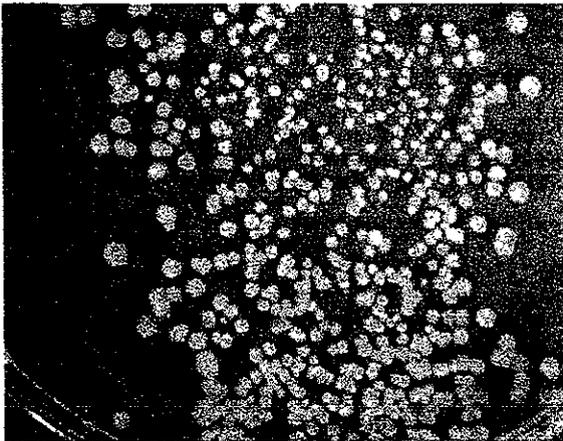
Prueba confirmatoria de NMP de organismos coliformes.

Figura 3



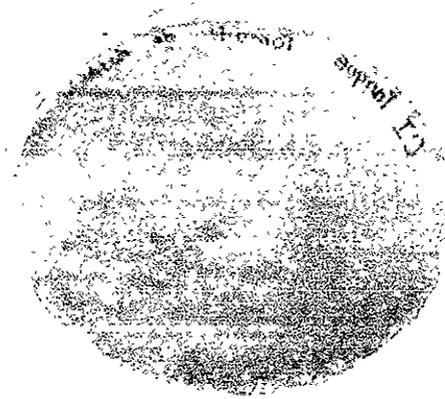
Colonias incontables de organismos mesófilos aerobios.

Figura 4



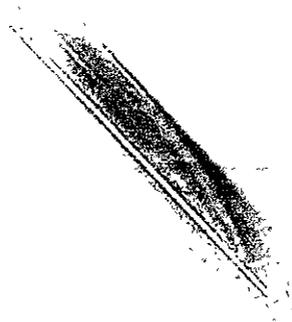
Colonias incontables de organismos mesófilos aerobios.

Figura 5



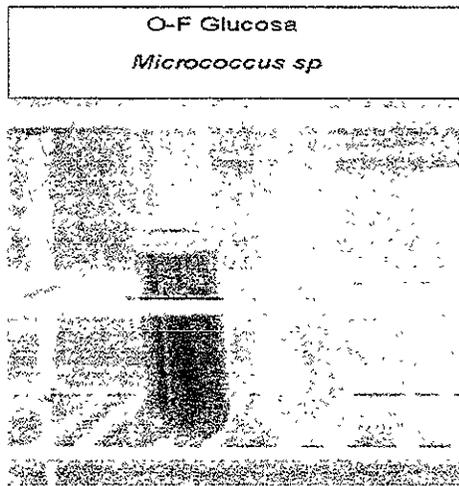
Cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* en agar soya tripticaseína.

Figura 6.



Cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* en agar soya tripticaseína en tubo inclinado.

Figura 7



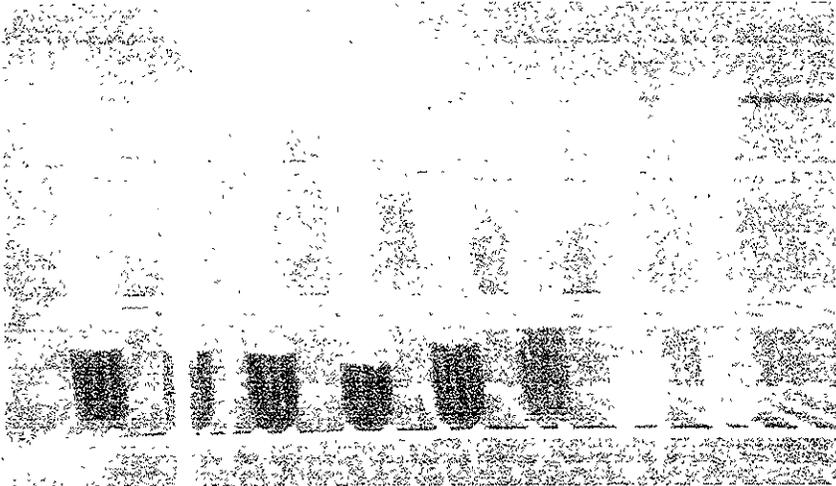
Prueba oxidativa de O-F glucosa para *Micrococcus sp*.

Figura 8.



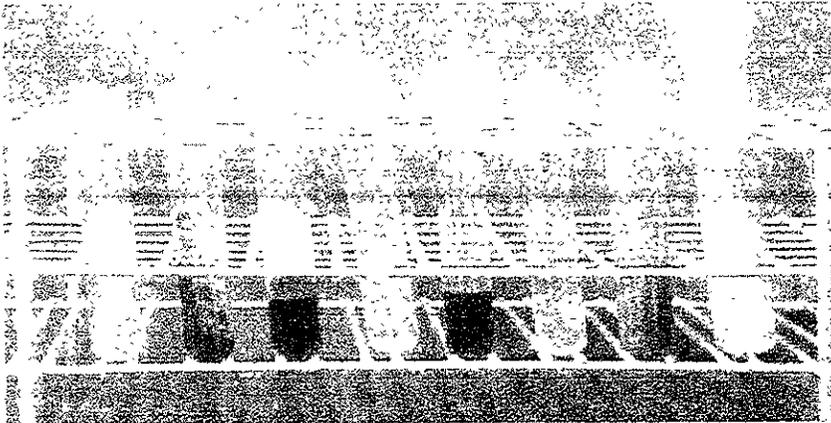
Producción de ácido sulfúrico por *Proteus vulgaris* en medio TSI

Figura 9



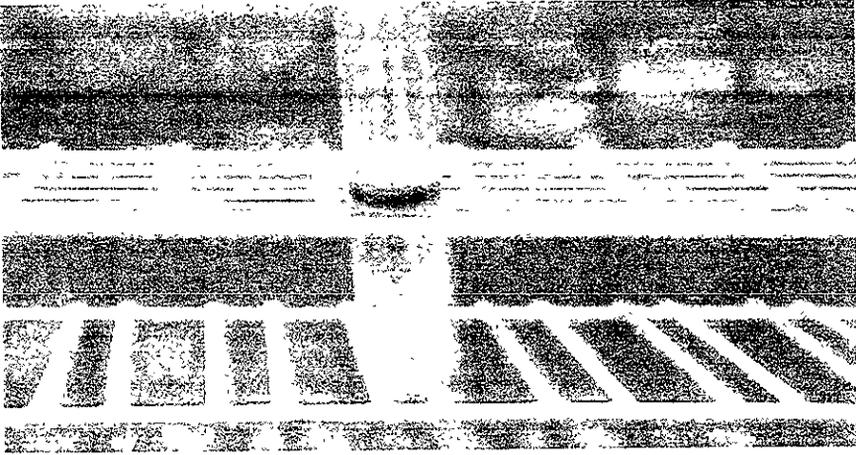
Batería de pruebas bioquímicas para *Bacillus*.  
Caldos RF (glucosa, lactosa, xitosa, arabinosa, maltosa, manitol), VP, SIM

Figura 10



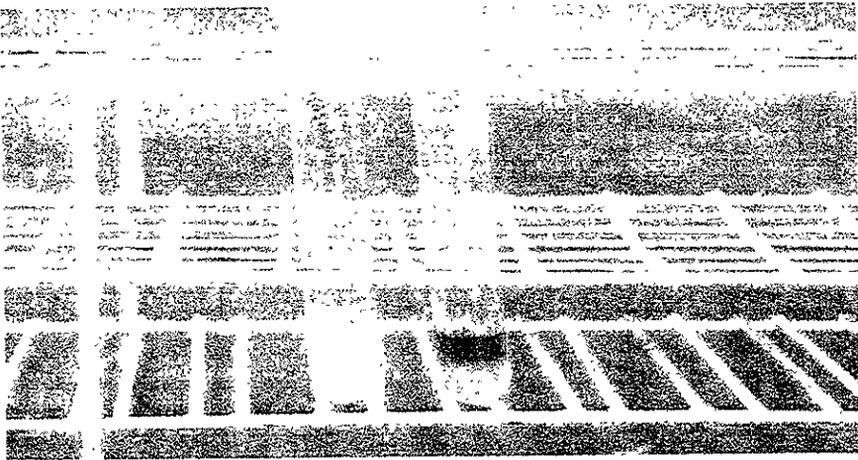
Pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*.  
TSI, LIA, MIO, SIM, RM, VP, citrato, fenilalanina.

Figura 11



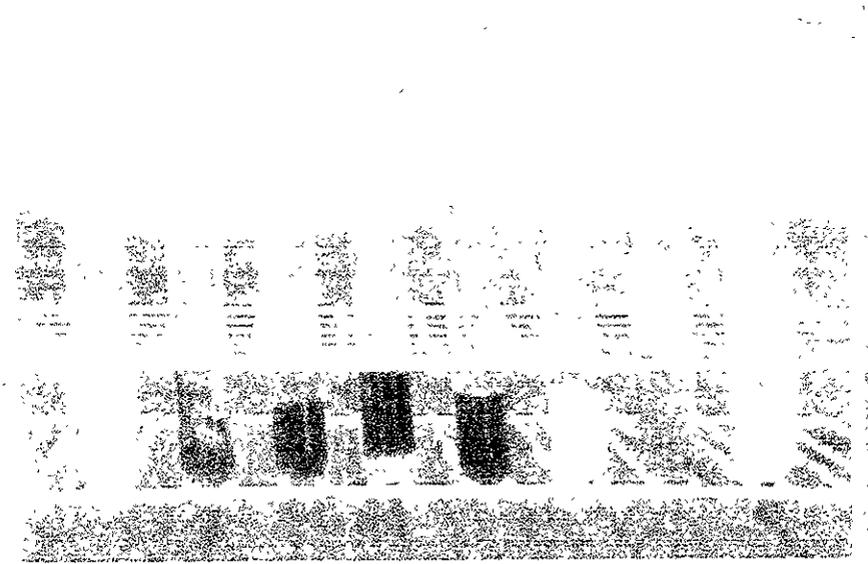
Producción de indol en medio SIM por *Escherichia coli*.

Figura 12



Prueba RM-VP de *Klebsiella pneumoniae*.

Figura 13



Pruebas bioquímicas para *Proteus vulgaris*.  
TSI, LIA, MIO, SIM, RM, VP, citrato, fenilalanina respectivamente

## IX. DISCUSION DE RESULTADOS.

Se observa en los resultados obtenidos que la calidad microbiológica del agua de los grifos es deficiente ya que se encontraron colonias incontables de microorganismos mesófilos aerobios (figuras 3 y 4) y un NMP de organismos coliformes de 20 por cada 100 mL en los dos grifos muestreados, esto indica que el agua que llega al bioterio proveniente del exterior sobrepasa los límites establecidos para agua potable según las normas oficiales NOM-112-SSA1- 1994 y NOM-092-SSA1-1994, se observa también que los dos grifos muestran los mismos resultados, lo cual era de esperarse ya que el agua que llega a ellos proviene de la misma fuente. De la, muestras anteriores se logró el aislamiento e identificación de diferentes bacterias como son: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus sp* la primera de ellas explica los niveles elevados de organismos coliformes debido a que este microorganismo es el más abundante en la materia fecal de los animales de sangre caliente, incluyendo al hombre, esta bacteria comúnmente no es patógena aunque existen algunas cepas que sí lo son, la segunda bacteria mencionada es un organismo de vida libre muy común el cual puede ser muy peligroso en individuos inmunodeprimidos, y en animales de laboratorio sometidos a radiación u otras terapias depresoras del sistema inmune, representa un gran problema para los investigadores, ya que puede incluso ocasionar la muerte repentina de los animales<sup>47</sup>, la tercera bacteria mencionada se trata del género *Bacillus*, estas bacterias son de vida libre se les encuentra de manera común en el suelo y solo algunas especies son capaces de ocasionar enfermedades en animales y el hombre, aquí cabe mencionar que el zona donde se encuentra ubicada la FES-Zaragoza, sufre de frecuentes fracturas, esto puede ocasionar la ruptura de tuberías de agua potable y por lo tanto su contaminación con residuos del suelo, lo cual puede explicar la presencia de bacterias del género *Bacillus* en el agua que llega a dicha institución. *Bacillus anthracis* es la especie patógena más importante de este género, de acuerdo con los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas se descartó la presencia de esta bacteria en las muestras obtenidas de los grifos.

Una vez que el agua llega a los grifos pasa a través de un filtro para después llegar a un tanque de almacenamiento, del análisis microbiológico realizado a este se observan resultados muy similares a los encontrados en las muestras provenientes de los grifos, este dato es muy importante ya que pone en evidencia que el filtro instalado antes del tanque de almacenamiento, no cumple con su objetivo el cual es disminuir la carga bacteriana en dicho tanque, se sabe que si no se le da un mantenimiento adecuado a los filtros de agua, estos incluso pueden llegar a funcionar como medios de cultivo e incluso aumentar la carga

bacteriana en vez de disminuirla, es recomendable revisar el filtro y en caso de ser necesario reemplazarlo.

Los trabajadores encargados de la limpieza y cuidado de los animales toman el agua de bebida de estos del tanque de almacenamiento, utilizando cubetas, en las cuales se transporta a las diferentes salas esta agua como se mencionó anteriormente ya lleva una carga bacteriana importante, sin embargo observando los resultados del análisis realizado al agua de las cubetas, los niveles se disparan considerablemente, el NMP de organismos coliformes rebasa los 240 / 100 mL, todos los tubos en la prueba confirmatoria presentaron gas (figura 1 y 2) incluso el número de bacterias aisladas e identificadas aumentó considerablemente, esto significa que el agua se contamina aún más en las cubetas, es importante mencionar que la forma de realizar la limpieza de las jaulas y de los bebederos es diferente en cada uno de los encargados de los animales que se mantienen en el bioterio, aunque no es el objetivo de este trabajo evaluar la eficiencia de los trabajadores, con los resultados obtenidos, se puede observar que esto influye de manera muy importante en la contaminación del agua, si las cubetas estuvieran limpias se esperarían resultados similares a los obtenidos en los grifos, sin embargo esto no fue así, se sabe que la misma cubeta que se utiliza para lavar los bebederos es usada para el llenado de los mismos por lo que es fácil sospechar que se contamina el agua limpia con los residuos de materia fecal, alimentos entre otras. Además de haber encontrado las mismas bacterias que en los grifos y el tanque, en las cubetas se encontraron los siguientes microorganismos: *Micrococcus sp*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris*, el primero de ellos es una bacteria de vida libre y es considerada como flora normal del agua<sup>30,46</sup>, el segundo es un microorganismo del grupo coliforme considerado patógeno tanto para animales como para los seres humanos, es una bacteria que puede provocar neumonía, abscesos y empiema<sup>12,47</sup>, el tercero de ellos es también una bacteria del grupo coliforme, esta especie no se considera patógena sin embargo hay otras especies del mismo género que sí lo son como es el caso de *Proteus mirabilis*. Con base en los resultados anteriores es importante mencionar que las cubetas donde se transporta el agua dentro del bioterio pueden funcionar como un buen medio de transporte para propagar microorganismos patógenos en todas las áreas del bioterio, de manera que en salas donde no existía contaminación por una bacteria dada se puede contaminar con la ayuda de las cubetas.

Después de haber realizado el análisis microbiológico de las zonas anteriores se hizo el estudio directamente de los bebederos de las jaulas donde se mantienen a los animales, iniciando por la sala 1 (la numeración de las salas se realizó arbitrariamente para los fines de este trabajo), se muestrearon cuatro bebederos de cada sala, y se encontró en la primera de ellas un grado de contaminación bacteriana muy similar a la encontrada en los grifos, este resultado corrobora lo mencionado en el párrafo anterior con respecto a que las labores de limpieza por parte de cada trabajador influye de manera importante en el grado de contaminación microbiológica los resultados obtenidos en esta sala sugieren que la cubeta que se utilizó para el llenado de los bebederos se limpió adecuadamente antes de realizar lo anterior. Con respecto a la flora microbiana encontrada se observa que existen tres bacterias que predominan en todas las muestras anteriores, estas son. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus sp*, estos resultados eran de esperarse teniendo en

cuenta que estos microorganismos se encuentran presentes desde los grifos que surten de agua al bioterio de la FES-Zaragoza.

Las salas 2, 3 y 4 muestran resultados muy similares entre ellas, se observa que el grado de contaminación bacteriana es muy elevado y similar a los niveles encontrados en la cubeta de transporte de agua, el NMP de organismos coliformes es superior a 240 / 100 mL esto demuestra nuevamente que la manera de realizar la limpieza de los bebederos es un factor determinante en la calidad microbiológica del agua de los bebederos. Por otra parte la flora identificada también es similar a la encontrada en las salas anteriores, en las tablas 1, 2 y 3 se muestran los resultados de manera resumida, por lo que se pueden comparar los diferentes datos de una forma más sencilla.

Es la tabla 2 se puede observar claramente una drástica disminución en los valores de NMP de organismos coliformes en la sala 5, incluso por debajo de los encontrados en los grifos lo cual hace suponer que pudo existir una mejora en la calidad del agua que llega al bioterio y además que las labores de limpieza se realizaron de forma cuidadosa, dos de las muestras incluso cumplen con la norma oficial para organismos coliformes, sin embargo de cualquier forma no se considera como agua potable ya que en el caso del recuento de microorganismos mesófilos aerobios sobrepasa los niveles permitidos para esta prueba, en cuanto a la flora bacteriana identificada en estas muestras se identificaron solamente dos bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, estos dos microorganismos se encuentran de forma abundante en el bioterio de la FES-Zaragoza.

Las salas 6, 7, 8, y 9, muestran resultados muy similares entre ellas, se puede ver que el nivel de contaminación microbiológica es moderado, menor que en el caso de los grifos, pero mayor que en la sala 5, de cualquier modo rebasan los niveles establecidos por las normas oficiales para organismos coliformes y mesófilos aerobios, por lo que estas muestras no se consideran potables. El hecho de que en estas salas el grado de contaminación por bacterias sea inferior incluso al encontrado en los grifos hace suponer que pudo existir una mejoría en la calidad microbiológica del agua que llega al bioterio.

En las salas 10, 11 y 12 se observa que el número más probable de organismos coliformes es inferior a 2 / 100 mL por lo que cumple con los niveles establecidos para coliformes, esto significa que en estas muestras no se detectó contaminación fecal, por otra parte la cuenta de microorganismos mesófilos aerobios si rebasa los niveles establecidos para agua potable por esta razón a pesar de que no se halla detectado contaminación fecal estas muestras no se pueden considerar potables ya que para esto se deben cumplir los niveles establecidos para las dos pruebas antes mencionadas. Aunque las especies animales que habitan en las diferentes zonas del bioterio no fueron consideradas como una variable para este estudio, es importante mencionar que en las salas arriba mencionadas solo se mantienen conejos, los cuales se mantienen uno en cada jaula, y los bebederos para estos animales son diferentes a los que se utilizan para las ratas y los ratones, se sabe que los animales contaminan su propia agua con materia fecal y restos de alimentos al introducir estos materiales con las patas a los bebederos, en el caso de los conejos y debido a la forma en como se les administra el agua sería difícil que estos pudieran hacer esto último, esto explica que no se haya detectado contaminación fecal en las muestras obtenidas de las

jaulas de los conejos Como ya se mencionó anteriormente se mantiene un conejo por jaula y esto también puede influir de manera importante en el grado de contaminación bacteriana.

Con respecto a las muestras obtenidas de la sala 13 se observa que los resultados se dispararon de forma muy importante con respecto a las salas anteriores, el número más probable de organismos coliformes en estas muestras fue de más de 240 por cada 100 mL,

y colonias incontables de organismos mesófilos aerobios esto se debe seguramente a un descuido en la limpieza de las jaulas y los bebederos por parte del personal encargado de esta actividad.

Con respecto a las pruebas utilizadas en este estudio para determinar la potabilidad del agua se puede observar la utilidad de las mismas como indicadores de contaminación del agua, ya que son relativamente sencillas y confiables. El número más probable de organismos coliformes es una prueba que detecta el grado de contaminación con materia fecal, se basa en la capacidad que tienen las bacteria del grupo coliforme de fermentar la lactosa con producción de gas, si no se cumple con los límites establecidos para esta prueba el agua es potencialmente riesgosa ya que no se puede descartar la presencia de bacterias patógenas transmitidas por el agua Por otra parte la cuenta de mesófilos aerobios, indica presencia de materia orgánica presente en una muestra , la cual favorece el desarrollo de gran cantidad de microorganismos, los cuales no necesariamente son patógenos.

En el caso de la flora bacteriana identificada es importante mencionar algunas características de las diferentes bacterias encontradas.

*Escherichia coli*, es un bacilo Gram negativo, es la bacteria más abundante en el intestino de los animales de sangre caliente y del hombre, su comportamiento es característico del grupo de organismos coliformes, forma colonias rosas en agar McConkey debido a la utilización de la lactosa de este medio de cultivo, esto facilita su identificación, las pruebas de TSI, citrato, RM-VP y SIM son determinantes en su identificación (figuras 10 y 11).

*Bacillus sp.* este género se caracteriza por que sus miembros son bacilos Gram positivos, aerobios o anaerobios facultativos, esporulados, son habitantes comunes del suelo, la única especie patógena es *Bacillus anthracis*. De las distintas cepas aisladas en este trabajo ninguna corresponde a la especie antes mencionada por lo que se descarta la presencia de especies patógenas del género *Bacillus* (figura 9)

*Pseudomonas aeruginosa*, son bacilos Gram negativos no esporulados, aerobios obligados, no forma esporas, catalasa positivo, es la única especie que produce pirocianina, por lo que si se observa la coloración verdosa característica de este compuesto es una prueba positiva en la identificación de este microorganismo (figuras 5 y 6 ). En el caso de las *Pseudomonas* aisladas en el bioterio de la FES-Zaragoza, todas presentaron producción de pirocianina por lo que se logro la identificación de esta bacteria.

*Klebsiella pneumoniae*, es un bacilo Gram negativo perteneciente al grupo coliforme, es la segunda bacteria más abundante en el intestino de los animales de sangre caliente después

de *E. Coli*, en agar McConkey forma colonias rosas de 2-4 mm, de consistencia mucóide, esto último debido a que produce cápsula, la formación de gas a 45 °C de caldo lactosa es una prueba característica de esta especie.<sup>48</sup> Esta bacteria es considerada patógena tanto para

animales como para el ser humano, puede provocar neumonía, abscesos entre otros padecimientos importantes

*Micrococcus sp.* los miembros de este género son cocos gram positivos, se agrupan en tétradas y racimos más grandes, son aerobios o anaerobios facultativos, se diferencian de los *Staphylococcus* en la prueba de O-F glucosa en la cual son oxidativos (figura 7), son microorganismos de vida libre y no tienen especies patógenas.

*Proteus vulgaris*, es un bacilo Gram negativo, no esporulado, este género se caracteriza por dar prueba positiva de fenilalanina, produce ácido sulfhídrico, la prueba de citrato es negativa (figuras 9, 13). Esta bacteria no es considerada patógena sin embargo su presencia como miembro del grupo coliforme hace riesgoso el consumo de productos contaminados con esta bacteria

## X. CONCLUSIONES.

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

- El agua utilizada en el bioterio de la FES-Zaragoza no es apta para el consumo de los animales.
- Se encontraron bacterias patógenas para el ser humano por la que esta agua representa un riesgo para el personal que labora en el bioterio si este no toma las debidas precauciones en la manipulación de la misma.
- El filtro que se tiene para disminuir la carga bacteriana no funciona adecuadamente.
- La manera de realizar las labores de limpieza no es la misma en cada trabajador y esto puede influir de manera muy importante en la contaminación del agua

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## **XI. SUGERENCIAS.**

- Revisar el filtro y reemplazarlo de ser necesario.
- Acidificar el agua de consumo de los animales a pH de 2.5 – 3 para disminuir la carga bacteriana
- Realizar un monitoreo microbiológico para observar si la carga bacteriana disminuye con las medidas anteriores.

## XII. REFERENCIAS.

- 1 - SSA. Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos. NOM-059-SSA1-1993. México: Diario oficial de la federación, 1998. 18.
- 2 - Tena Betancourt E. Guía de procedimientos adecuados de uso y cuidado de animales de laboratorio y bioterio. México: C.I.P A.M.,1994: 2-7.
- 3 -UFAW.Handbook on the care and management of laboratory animals. 6ª edición. Longman Scientific and Technical UK Limited,1987:2,14,279,312.
- 4.-Medical research council labotratotry animal centre: The Accreditation and recognition scheme for suppliers of laboratory animals. 2ª, Carshalton , uk 1974. 45.
- 5.-Villalobos H E Descripción y funciones del bioterio de la unidad de investigación biomédica del centro médico nacional del IMSS. México: Tesis de licenciatura Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1980: 2-5.
- 6-Contreras V J. Proyecto de planeación organización y manejo para el bioterio de la escuela nacional de estudios profesionales unidad académica Zaragoza. México: Tesis de licenciatura Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM,1979: 10-12.
- 7.- Hrapkiewiez K, Medina L, Holmes D. Clinical laboratory animal medicine. 2ª edición USA: Iowa State University Press, 1998: 22-23.
- 8.- Fowler M. Zoo wild animal medicine. 2ª edición. Canada: W. B. Saunders company, 1986: 718-720, 738-746.
- 9.- Farris E. The mouse in biomedical reserch. Vol 3. USA: Academic Press Inc, 1981: 291-293.
- 10.- Griffith J. The rat in laboratory investigation. USA: Lippincott company, 1992: 345-350.
- 11.- Harkness J, Wagner J. Biología y clínica de conejos y roedores. España: Acribia, 1977: 105-107.
- 12.- Harkness J, Wagner J. The biology and medicine of rabbits and rodents. 4ª edición USA: William wilkins, 1995. 110-111.

- 13.- Weisbrot S, Kraus A. The biology of the laboratory rabbit. USA: Academic Press Inc, 1974. 190-194.
- 14.- Harkness J. A practitioner's guide to domestic rodents USA: The American animal hospital association, 1993. 50-52.
- 15 - Hime J, O'Donoghoe P. Patología de los animales de laboratorio diagnóstico y tratamiento España: Acribia, 1994: 63-65.
- 16 Lane Petter, W. y Pearson, A. The Laboratory animals: Principles and Practice. Londres y N.Y: Academic press, 1971. 140-163.
- 17 - Fox J, Cohen B. Loew F. Laboratory animal medicine. USA: Academic Press Inc 1984 654-655
- 18.- Martínez M. Control de calidad de los animales de laboratorio. Actualización en manejo y producción de animales. UAM México: Asociación mexicana para el estudio de los animales de laboratorio A.C. 1990.
- 19 - Benirschke K, Garner F, Juns T. Pathology of laboratory animals vol II. USA: Springer- Verlag, 1978: 563.
- 20 - Athie M L. Calidad y cantidad de agua en México. México: Universo veintiuno, 1987. 49.
- 21.- Rodier J Análisis de las aguas naturales, aguas residuales, aguas de manantiales; Química, Física; Bacteriológica y Biológica. Barcelona Ediciones Omega, 1990.663-673, 697-710.
- 22.- Tebbutt T. Fundamentos de control de la calidad del agua. México: Limusa, 1994. 43.
- 23.- Gray N. Calidad del agua potable problemas y soluciones España: Acribia, 1994. 189-190.
- 24.- S.S.A. Agua para uso y consumo humano- límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización NOM-SSA1-113-1994. México: Diario oficial de la federación, 1994: 109-110.
- 25.- S.S.A. Manual de técnicas y procedimientos de laboratorio para análisis microbiológico de agua potable México: Secretaría de salud, 1989: 11-19.
- 26.- Organización Panamericana de la Salud. Guías para la calidad del agua potable. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 1987: 19-25.
- 27.- Eugene F, Junkin M. Agua y salud humana México: Limusa, 1986 230-231.

- 28.- APHA, AWWA, WPCF. Estándar methods for examination of water an wastewater. 18ª edición USA: Editorial Joint board,1992: 870-878.
- 29.- S.S.A. Determinación de bacterias coliformes Técnica del número más probable NOM-112-SSA1-1994. México: Diario Oficial de la federación, 15 de agosto de 1994: 4-26.
- 30.- Freeman B. Microbiología de Burrows 22ª México: McGraw-Hill, 1984: 229
- 31.- James A, Evison L. Biological indicators of water quality. Inglaterra: John Wiley & Suns,1979: 380.
- 32 - Departamento de sanidad del estado de Nueva York. Manual de tratamiento de aguas. México: Departamento de sanidad del estado de Nueva York, 1993.15-37.
- 33.- Ortega S. Análisis microbiológico en la presa Emiliano Zapata. México: Tesis de licenciatura UNAM, 1997: 11.
- 34 - James G. Microbiology a laboratory manual 3ª edición. USA: Cumming publishing, 1992: 295-299.
- 35 - S.S.A. Método para la cuenta de bacteria aerobias en placa. NOM-092-SSA1. México Diario oficial de la federación, 1994: 14-19.
- 36.- SECOFI-DGN. Calidad del agua- determinación del número más probable (NMP) de organismos coliformes totales, coliformes totales (termorresistentes) y *Escherichia coli* presuntiva Norma oficial mexicana NOM-AA-42-1987 México dirección general de normas, 1987: 8-10.
- 37.- Guinea J. Análisis microbiológico de agua aspectos aplicados. España: Omega,1984: 83-115.
- 38.- García E, Giono S. Bacteriología médica diagnóstica. México IPN, 1993,8-10.
- 39.- Koneman E, Allen S, Dowell V, Janda W, Sommers H, Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 3ª edición México: Médica panamericana, 1997: 211-237, 276.
- 40.- Lennette E. Manual de microbiología clínica. 4ª edición Argentina: Médica panamericana, 1987: 275-283, 446-450.
- 41.- Murray P, Drew L, Kobayashi G, Thomson J. Microbiología médica. España: Mosby, 1993: 103-119.

- 42 Pumarola A, Rodriguez A, García J, Piedrola G. Microbiología y parasitología médica. 2ª edición. España: Ediciones científicas y técnicas, 1987: 381, 413-416.
43. S.S.A. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 6ª edición México: S.S.A., 1996. 201-210.
- 44.- Davis D, Dulbecco R. Microbiology. 4ª ed USA: Lippincot Company, 1990: 561-587.
- 45 - McFaddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. México: Médica panamericana, 1991: 259-265.
- 46.- Jawets E, Melnick J. Microbiología médica 4ª edición. México: El manual moderno, 1987: 207.
- 47 - Committee on Infectious of Mice and Rats, Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council. Companion guide to infectious diseases of mice and rats USA: National Academy Press, 1991: 42
- 48 - Joklik W, Willet H, Amos B, Wilfert C. Zinsser microbiología 2ª. Edición. Argentina: Editorial médica panamericana, 1995 : 834-840.