



WATER MICROBIOLOGY TESTING:

Accuracy Matters For Protecting Public Health



- “El acceso al agua potable segura es esencial para la salud, un derecho humano básico, y un componente de la política eficaz para la protección sanitaria”

» OMS



El Organismo Indicador

- Los indicadores se usaron originalmente para indicar la calidad general del agua
- Esto fue rápidamente reemplazado por el requisito de indicar la posible presencia de material fecal
- El concepto surgió del trabajo de John Snow y otros que demostraron que el agua recolectada de los sitios aguas abajo de las salidas de aguas residuales era más probable que fuera la causa de la enfermedad entérica como el cólera
- Esto dio paso al desarrollo de las pruebas de indicadores



Un poco de historia....

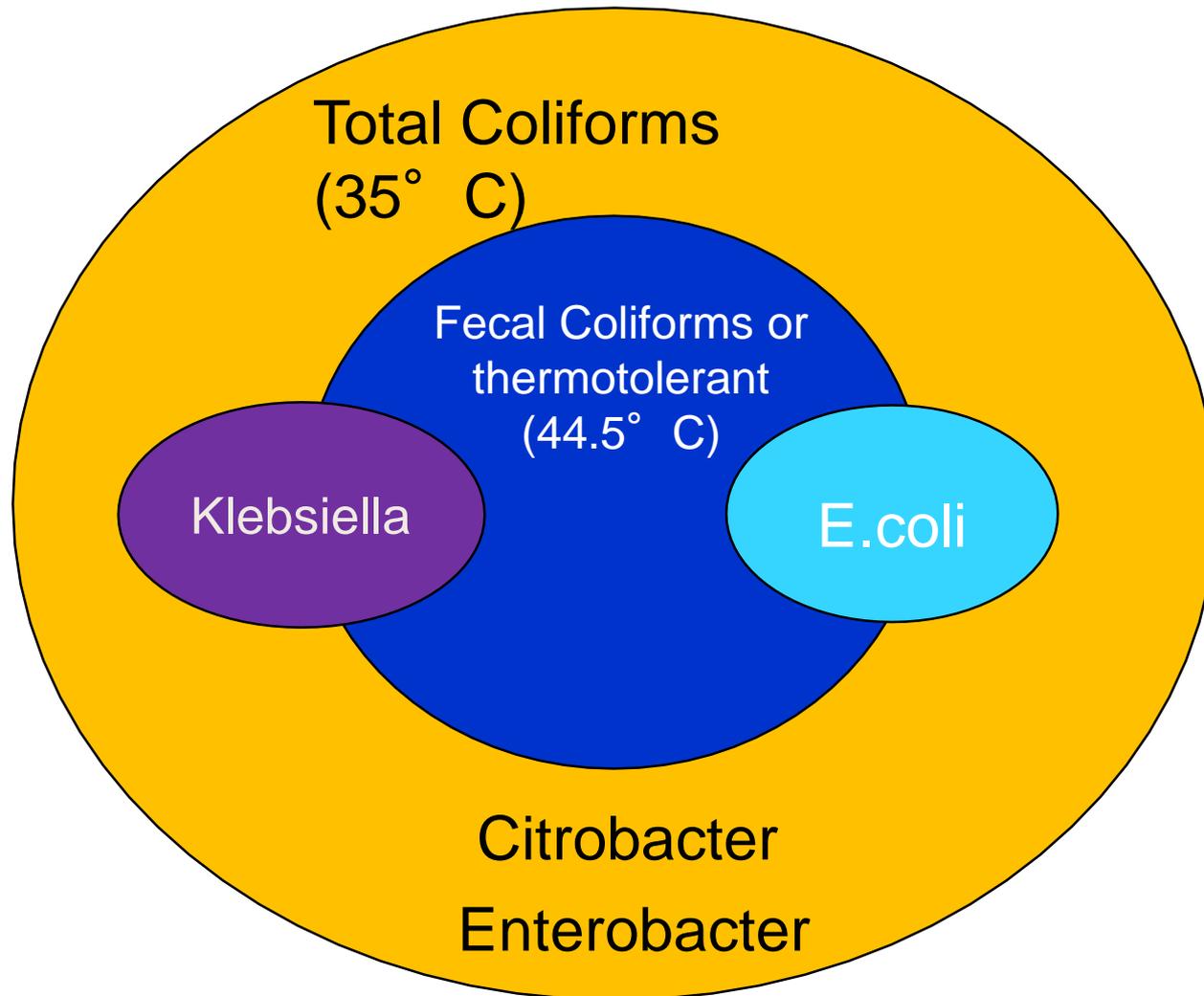
- Las primeras pruebas para determinar la calidad del agua fueron las pruebas de "bacterias totales" introducidas por Koch en el siglo XIX
- Pronto se dio cuenta de que los patógenos presentes en el agua estaban allí a concentraciones muy bajas
- El concepto de bacteria "coliforme" estaba ya en uso a fines del siglo XIX y continuo desarrollándose aun mas en años futuros.
- Se reconoció que "E. coli" y la bacteria "coliforme" fermentan lactosa
- Las bacterias que viven en el intestino pueden crecer en presencia de sales biliares.



Indicadores: Que indican?

- Actualmente, los principales indicadores utilizados para el agua de consumo son los coliformes totales y E. coli
- Los indicadores complementarios son enterococos, Clostridium perfringens y bacteriófago
- TC: eficacia de desinfección, ingreso y biofilm / rebrote
- EC: contaminación fecal reciente (probable presencia de patógenos)
- Enterococos: contaminación fecal
- C. perfringens: contaminación fecal (sobrevive más tiempo)
- Bacteriófago: supervivencia de virus

Bacterias Coliformes

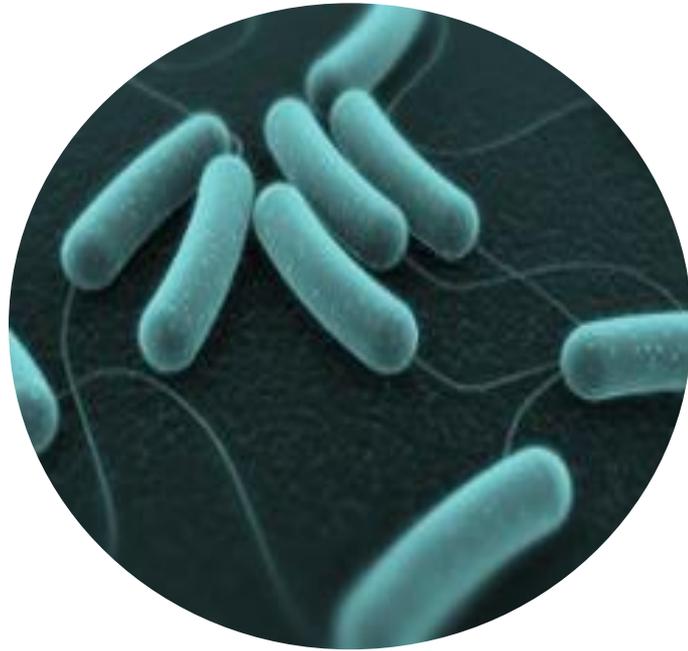




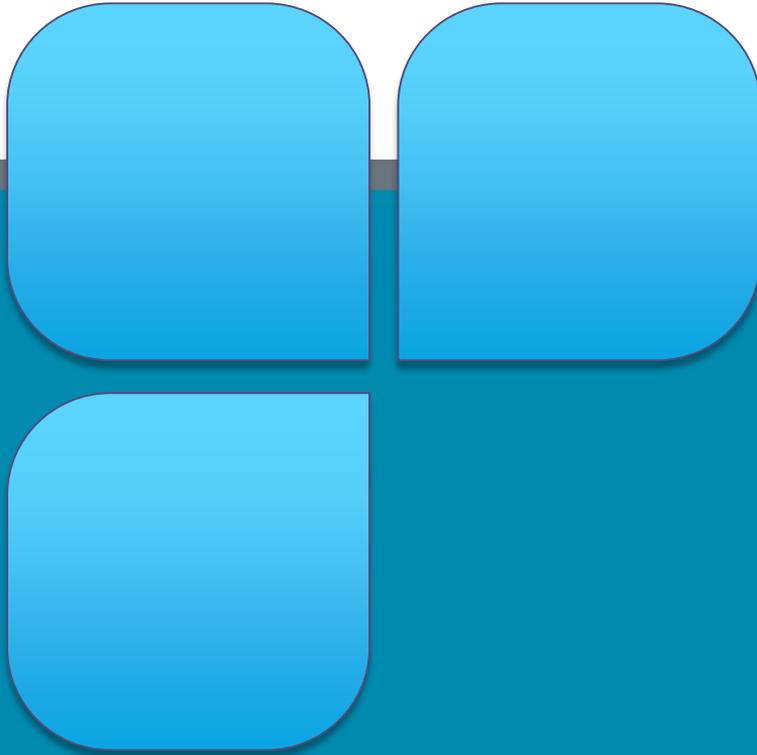
Bacterias dentro del genero Coliformes

- Escherichia- human and animal feces
- Enterobacter- environment, feces
- Klebsiella- environment, feces
- Citrobacter- environment
- Serratia- environment

¿QUÉ INDICAN LAS COLIFORMES?

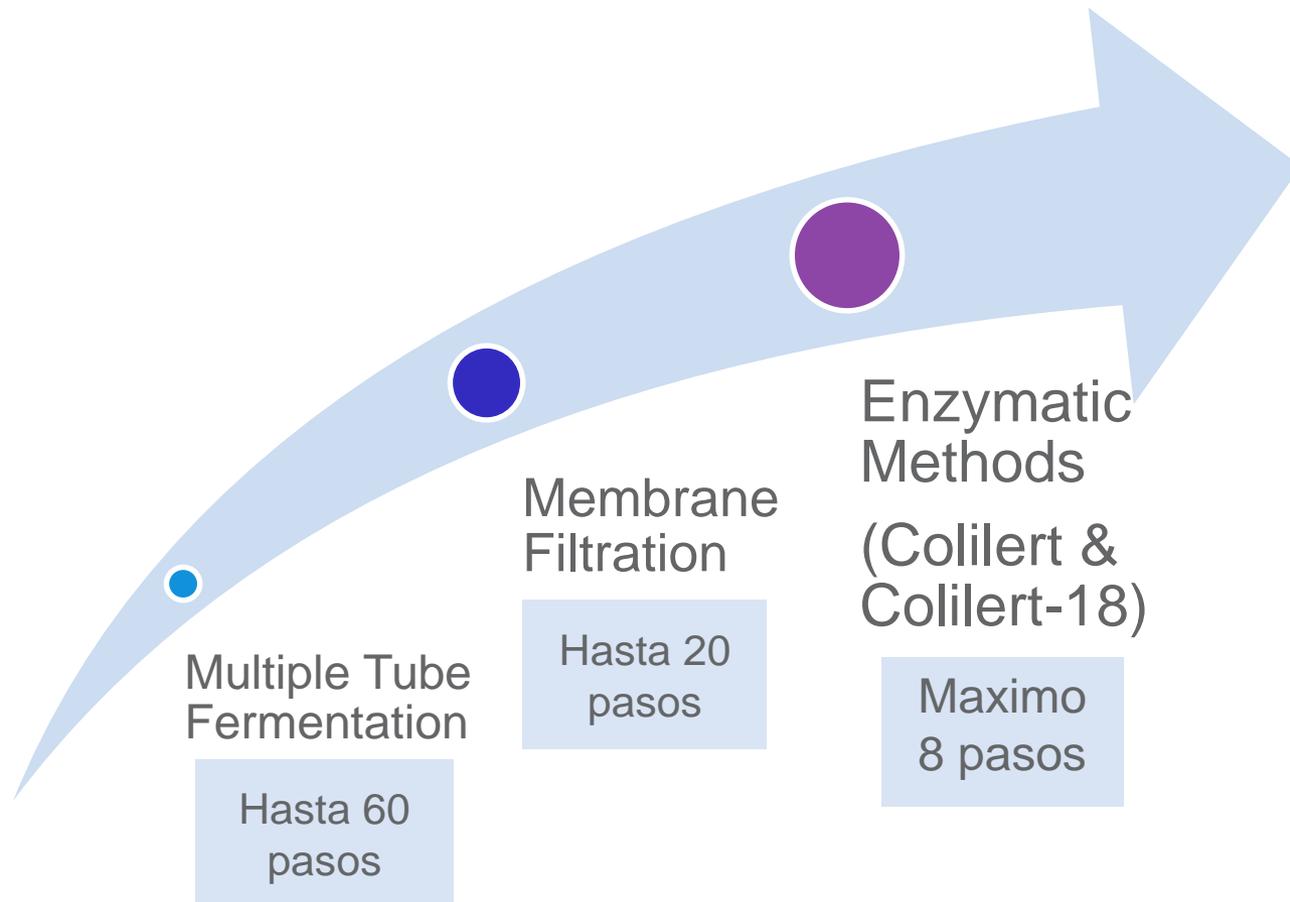


- Son útiles para determinar la eficacia de la desinfección.
- Son más resistentes a la desinfección que la *E. coli*.
- Son buenos indicadores de ingreso.
- Sobreviven más tiempo que la *E. coli*.
- Son más numerosos que la *E. coli*.
- Pueden indicar la formación de biopelículas.



METODOLOGIAS

Métodos en utilizados



MÉTODOS BASADOS EN LACTOSA: LIMITACIONES

Mediante los métodos basados en lactosa, no se puede detectar la cantidad de coliformes como en métodos basados en función de la β -D- galactosidasa.



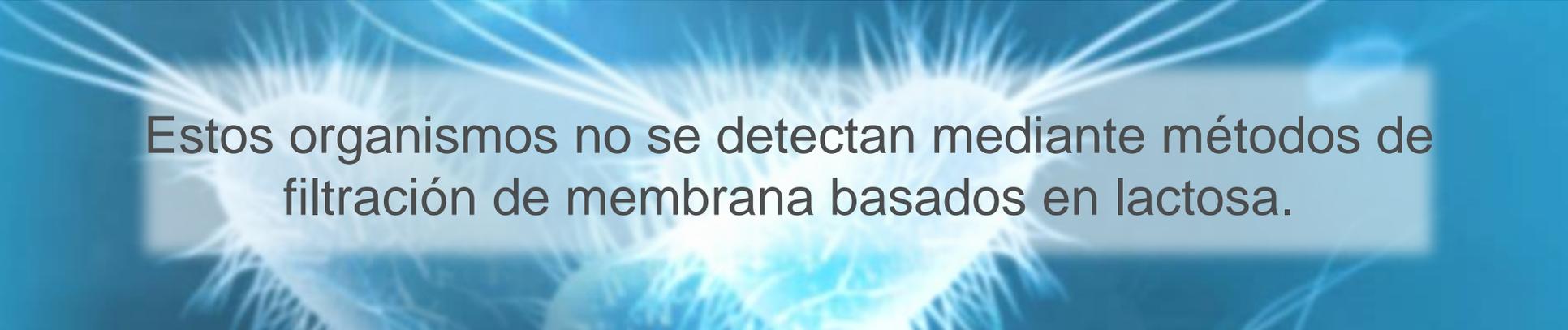
LACTOSA *VERSUS* β -D-GALACTOSIDASA

- La fermentación de la lactosa depende de dos enzimas fundamentales: la lactosa permeasa y a β -D-galactosidasa.
- La lactosa permeasa permite que la lactosa se transporte activamente a la célula.
- La β -D-galactosidasa divide a la lactosa en glucosa y galactosa.



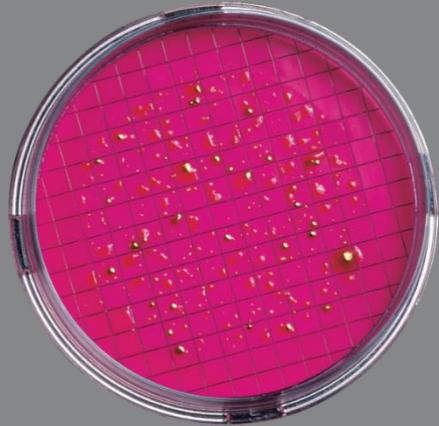
LACTOSA *VERSUS* β -D-GALACTOSIDASA

- Muchas bacterias coliformes no presentan lactosa permeasa y, por lo tanto, no fermentan la lactosa rápidamente.
- Sin embargo, pueden dividir la β -D-galactosidasa.



Estos organismos no se detectan mediante métodos de filtración de membrana basados en lactosa.

MÉTODOS BASADOS EN ENZIMAS Y LACTOSA

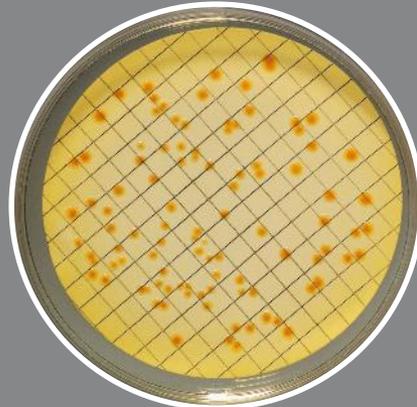


m-Endo

Se utiliza principalmente en Norteamérica para la detección de coliformes en el agua potable.

La fermentación de la lactosa produce aldehídos que reaccionan con el sulfito de fucsina básica en el medio y producen una colonia con “brillo”.

Basado en lactosa



Tergitol TTC

Se utiliza principalmente en Europa para la detección de coliformes en el agua potable.

La fermentación de la lactosa se detecta mediante un cambio en el color del azul de bromotimol.



Colilert®

Es una prueba de 24 horas en la que se utilizan los indicadores de nutrientes ONPG y MUG como fuentes de carbono y energía, divididos por la β -D-galactosidasa y β -D-glucuronidasa en coliformes y *E. coli*.

Basado en enzimas



Colilert-18®

Se utiliza la misma tecnología de sustrato definido Defined Substrate Technology® que la de Colilert con resultados en 18 horas.

Tanto Colilert como Colilert-18 se pueden utilizar en pruebas de presencia o ausencia, o de cuantificación.

Traditional Method

Membrane Filtration

MEDIA PREPARATION

PREPARE M-ENDO SOLUTION

WEIGH DEHYDRATED REAGENT | HYDRATE WITH ETHYL ALCOHOL(95%) | HEAT | ADJUST PH | CAP FLASK | AUTOCLAVE | STORE REFRIGERATED | PREPARE 10/6PDA STOCK SOLUTION | PREPARE MgO₂ STOCK SOLUTION | COMBINE STOCK SOLUTION | CAP FLASK | AUTOCLAVE | RUN CONTROL FOR STERILITY

PREPARE BG18

WEIGH DEHYDRATED REAGENT | HYDRATE WITH H₂O | HEAT | ADJUST PH | ADD DURHAM TUBE | PIPETTE 10ML TO EACH TUBE | CAP TUBES | AUTOCLAVE | RUN POSITIVE CONTROLS | RECORD RESULTS

PREPARE EC MEDIA

WEIGH DEHYDRATED REAGENT | HYDRATE WITH H₂O | HEAT | ADJUST PH | ADD DURHAM TUBE | PIPETTE 10ML TO EACH TUBE | CAP TUBES | AUTOCLAVE | RUN POSITIVE CONTROLS | RECORD RESULTS

RUNNING ROUTINE SAMPLES

LABEL PLATES | PUT PADS ON PLATE | PIPETTE M-ENDO ONTO PLATES | STERILIZE FILTER ASSEMBLY | SET UP FILTER ASSEMBLY | STERILIZE FORCEPS | REMOVE INDIVIDUAL FILTERS | PLACE FILTER ON FILTER ASSEMBLY | RESTERILIZE FORCEPS | SET UP FUNNEL | POUR SAMPLE | TURN ON VACUUM PUMP | RINSE WITH BUFFERED WATER | REMOVE FUNNEL AND STERILIZE | TURN ON UV STERILIZER AND SET TIMER | TRANSFER FILTER TO MENDO PLATES | VERIFY SAMPLE NUMBER | CAP PLATE AND INVERT | INCUBATE 24 HOURS | READ PLATES WITH MICROSCOPE | RECORD RESULTS | RUN 1 BLANK CONTROL EVERY 30 SAMPLES

CONFIRMATION TESTING

COLIFORM CONFIRMATION

SWAB POSITIVE PLATES | LABEL BGLB TUBES | INOCULATE BGLB WITH POSITIVE | CAP TUBES | INCUBATE 24 HOURS | CHECK BGLB FOR GAS AND TURBIDITY | RECORD RESULTS | IF NEGATIVE, INCUBATE 24 HOURS | CHECK BGLB FOR GAS AND TURBIDITY | RECORD RESULTS

FECAL CONFIRMATION

SWAB POSITIVE PLATES | LABEL EC MEDIA TUBES | INOCULATE EC MEDIA WITH POSITIVES | CAP TUBES | INCUBATE 24 HOURS | CHECK FOR GAS AND TURBIDITY | RECORD RESULTS

IDEXX DST®

Presence/Absence

ADD REAGENT TO WATER | INCUBATE VESSEL | CHECK FOR PRESENCE/ABSENCE | RECORD RESULTS

Quantification

ADD REAGENT TO WATER | POUR SAMPLE/PLATE MIXTURE INTO TRAY | SEAL TRAY | INCUBATE TRAY | COUNT YELLOW AND FLUORESCENT WELLS | RECORD RESULTS

There is no comparison.

Call today for a demonstration of how IDEXX can be a smarter solution for all your water testing needs.

1.800.321.0207

idexx.com/water

Easy. Rapid. Accurate.

IDEXX

ISO 9001:2008 CERTIFIED

Fermentación de Tubos Múltiples (MTF)

Método tradicional de fermentación de lactosa
Incubar LTB (caldo de lauril triptosa) hasta 48 horas a 35°C

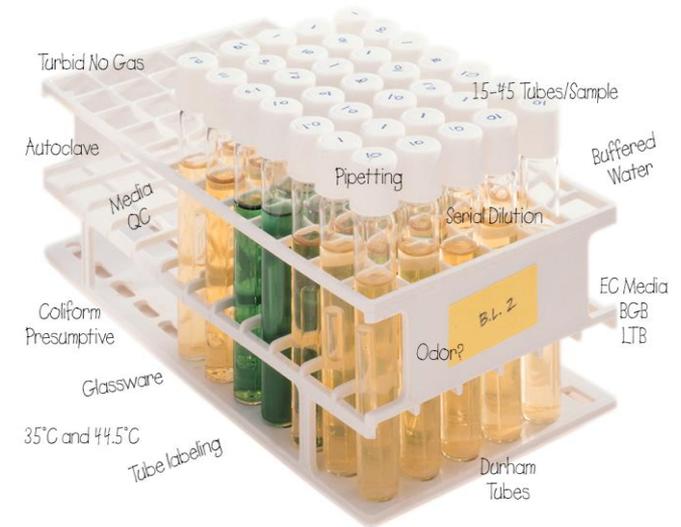
- Prueba presuntiva para Coliformes

Confirmación in BGLB (caldo Bilis Verde Brillante) 48 horas a 35°C

- Coliformes totales

Confirmación con medio de cultivo EC (+mug)
24 horas a 44.5°C

- *E.coli*





Método Enzimático

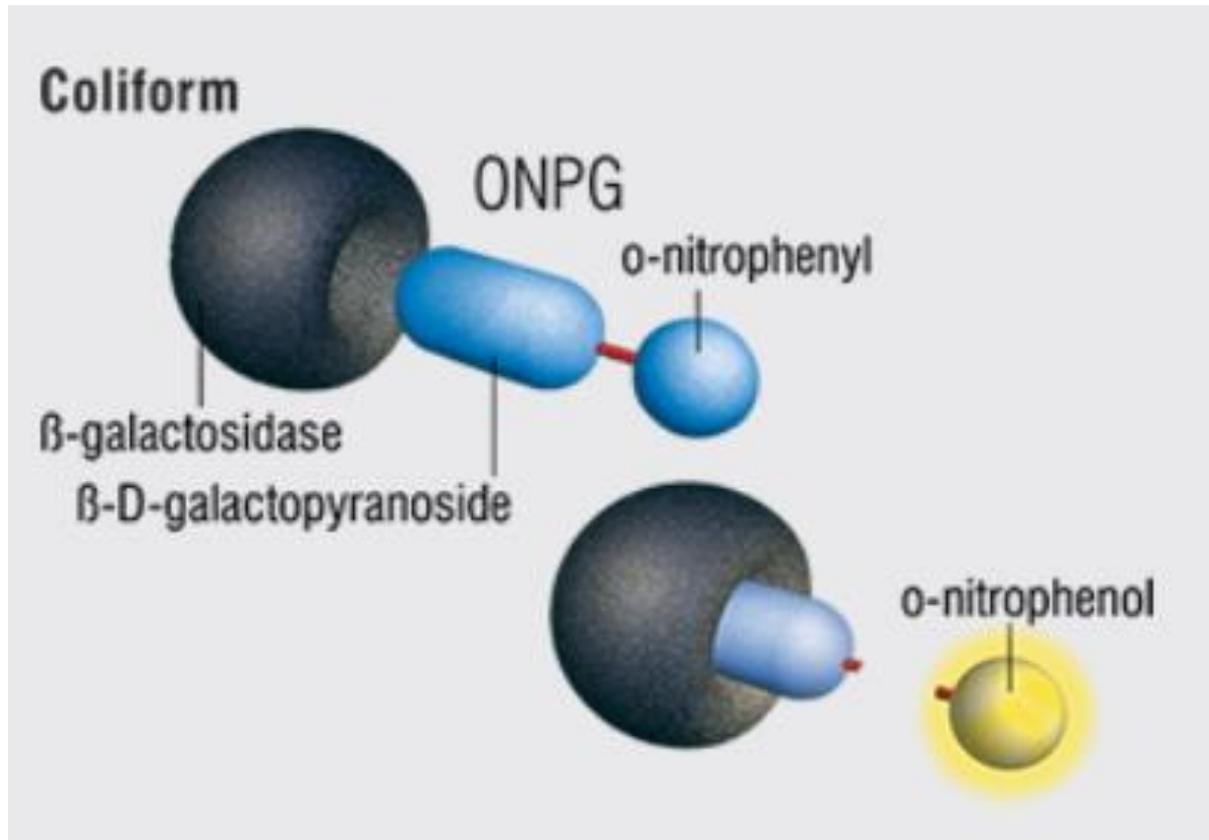
Defined Substrate Technology (DST®)

Es la tecnología patentada de IDEXX que utiliza indicadores de nutrientes (sustratos) metabolizados por las enzimas β -D-galactosidasa y β -D-glucuronidasa presentes en las coliformes y la *E. coli*.

- El indicador de nutrientes (sustrato) está dirigido a la enzima específica del organismo
- El indicador de nutrientes es la principal fuente de nutrientes
- El indicador de nutrientes cambia de color o fluorescente cuando se metaboliza
- Las bacterias no-objetivas son a la vez no alimentadas y suprimidas

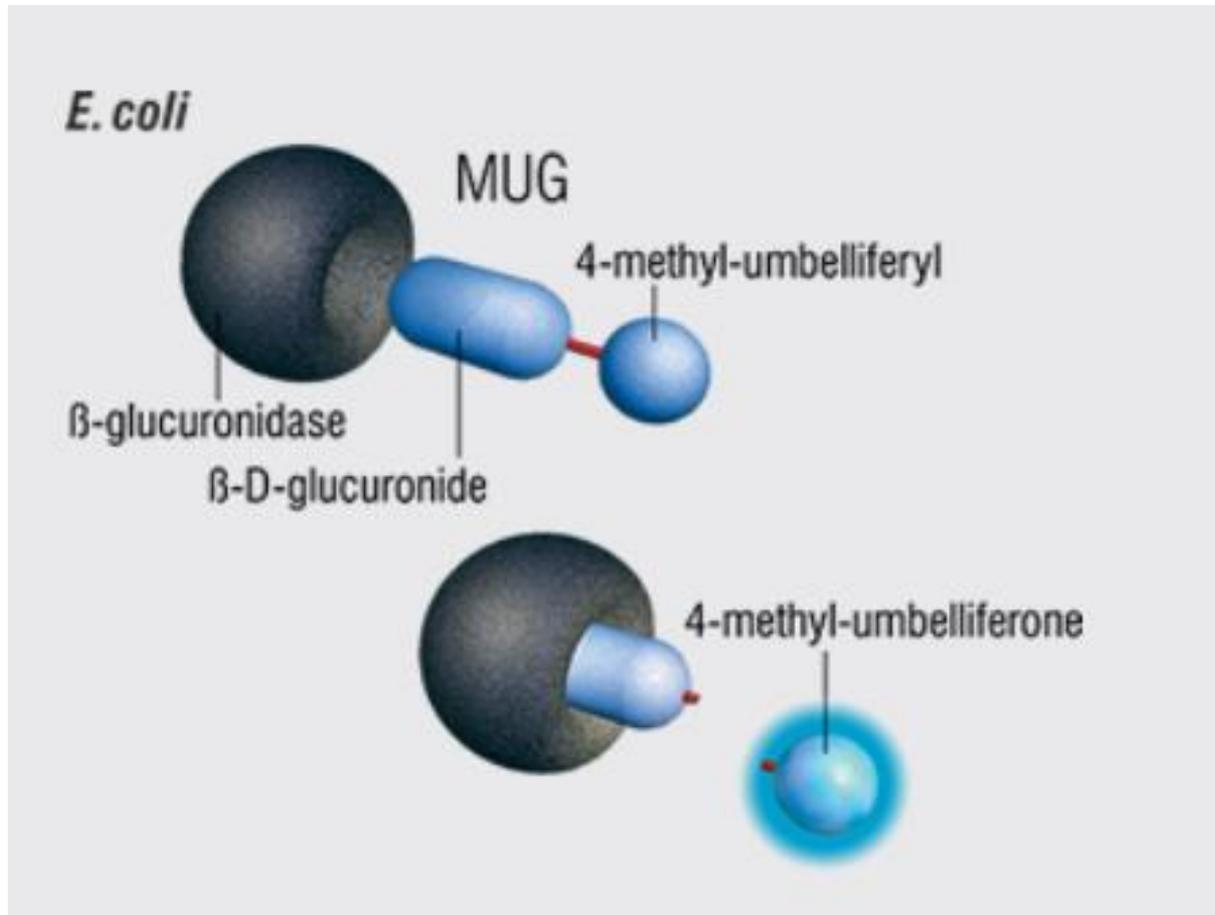
ONPG Positive Reaction

(Colilert and Colilert-18)



MUG Positive Reaction

(Colilert, Colilert-18, Colisure)





Pruebas de Presencia- Ausencia

Procedimiento para P / A

Blister Pack of Colilert



Añadir reactivo a la muestra





Mezclar bien para disolver



Incubar



Colilert P/A resultados



Coliformes
giro a amarillo

IDEXX

Negativos
permanece
incolore



E. Coli Amarillo
+fluorescencia

Cuantificación por Quanti-Tray



Colilert[®] and Quanti-Tray[™]

© IDEXX Laboratories, Inc. 1995
09-60671-00

Procedimiento Cuantificación

Blister Pack of Colilert



Añadir reactivo a la muestra



Llenado y sellado Quanti-Tray para cuantificación



Incubar :Colilert a $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 24 -28 Horas
Colilert 18 a $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 18 - 22 Horas



Pocillos amarillos
positivos para
coliformes totales



Pocillos amarillos y
fluorescente positivos para
E.coli



IDEXX APROBACIONES REGULATORIAS



- APROBACIONES REGULATORIAS GLOBALES
 - ▶ Estampa Global de aprobaciones – Numerosas entidades y cuerpos regulatorias
 - ▶ Aceptaciones y Validaciones Globales– Numerosos países (y entidades incluyendo ISO).
 - ▶ Cumple con criterios y estudios rigurosos
 - ▶ Cumple con estándares de funcionamiento por excelencia
- Las pruebas de IDEXX son aprobadas y aceptadas globalmente
- Aprobadas en mas de 50 países



Worldwide Water Product Approvals/Acceptances

Country	Products Approved ¹	Water Types
Argentina	 ColiIert*	Drinking water
Australia	 ColiIert, ColiIert*-18, Quanti-Tray*, Quanti-Tray*/2000	Drinking water
Belgium	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, Enterolert*-DW	Drinking water
Bosnia Herzegovina	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Brazil	 ColiIert, ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Canada	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure*, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, SimPlate for HPC	Drinking water
Chile	 ColiIert, ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
China	 ColiIert, Filta-Max*, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, surface water, ground water, drinking water for poultry and livestock
Colombia	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Costa Rica	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Croatia	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, bottled water
Czech Republic	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Denmark	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
El Salvador	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, SimPlate for HPC	Drinking water
Finland	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, fresh bathing water
Germany	 ColiIert-18, Enterolert-DW, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, spas and pools
Greece	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Greenland (Denmark)	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Guatemala	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, source water
Hungary	 ColiIert, ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, bathing water
Iceland	 ColiIert, ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Ireland	 ColiIert	Drinking water
Italy	 ColiIert-18, Filta-Max, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, surface water, spas and pools, fresh and marine bathing water

Country	Products Approved ¹	Water Types
Jamaica	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure*, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, source/surface water, wastewater, recreational waters
Japan	 ColiIert	Drinking water
Kuwait	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Latvia	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Enterolert, Filta-Max, Filta-Max xpress*, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, SimPlate for HPC, Pseudalert*	Drinking water, bottled water, ambient water, ground water, source/surface water, wastewater, marine water
Lithuania	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Mexico	 ColiIert	Drinking water, bottled water
New Zealand	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Enterolert*, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, fresh and marine bathing water
Norway	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, bottled water
Panama	 ColiIert, ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Philippines	 ColiIert	Drinking water
Poland	 ColiIert-18, Enterolert*-E, Quanti-Disc* YEA, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, bathing water, source/surface water
Portugal	 ColiIert-18, Quanti-Tray	Drinking water
Slovakia	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water, bottled water, ground water, source/surface water, wastewater
South Africa	 ColiIert, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, Quanti-Disc YEA, SimPlate* for HPC	Drinking water, wastewater effluent
South Korea	 ColiIert	Drinking water
Spain	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000	Drinking water
Sweden	 ColiIert-18, Enterolert-E, Quanti-Tray	Bathing water
Ukraine	 ColiIert-18, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, Quanti-Disc	Drinking water
United Kingdom	 ColiIert-18, Filta-Max, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, Quanti-Disc, Enterolert*-DW	Drinking water
United States	 ColiIert, ColiIert-18, Colisure, Enterolert, Filta-Max, Filta-Max xpress*, Quanti-Tray, Quanti-Tray/2000, SimPlate for HPC, Pseudalert*	Drinking water, bottled water, ambient water, ground water, source/surface water, LT2 testing, wastewater, marine water, dairy water (FDA), spas (New Jersey)
Zimbabwe	 ColiIert	Drinking water, ambient water, ground water, wastewater



¡Gracias!

Sonia-O'Donnell@idexx.com