

MICROBIOLOGÍA DE AGUA

CONCEPTOS BÁSICOS

María C. Apella-Paula Araujo
CERELA - CONICET - UNT- CNEA



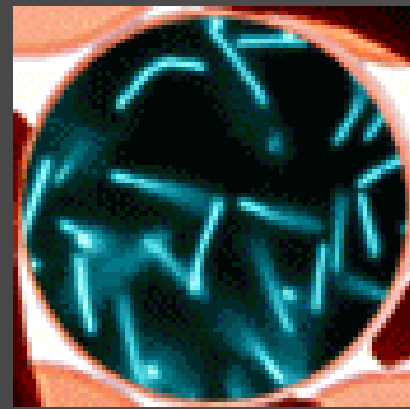
El agua es apta para consumo humano si está exenta de microorganismos patógenos

➡ ENTÉRICOS

➡ PARASITARIOS

➡ VIRUS

MICROBIOLOGÍA



Estudia seres vivientes de tamaño microscópico



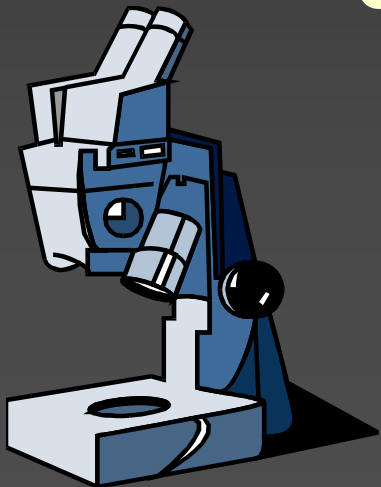
células aisladas
o asociadas



no celulares



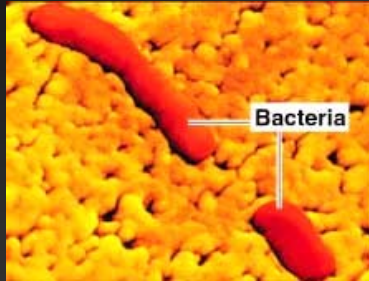
virus



MICROBIOLOGÍA

ORGANISMOS PROCARIOTAS

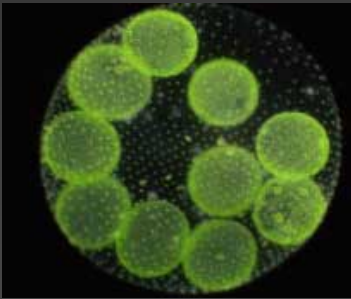
Bacterias



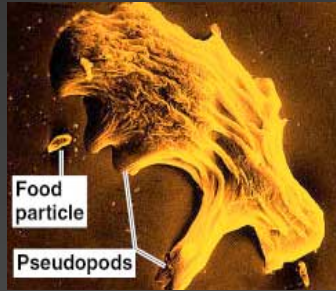
Archaeas



ORGANISMOS EUCARIOTAS



Hongos



Protozoarios



Algas



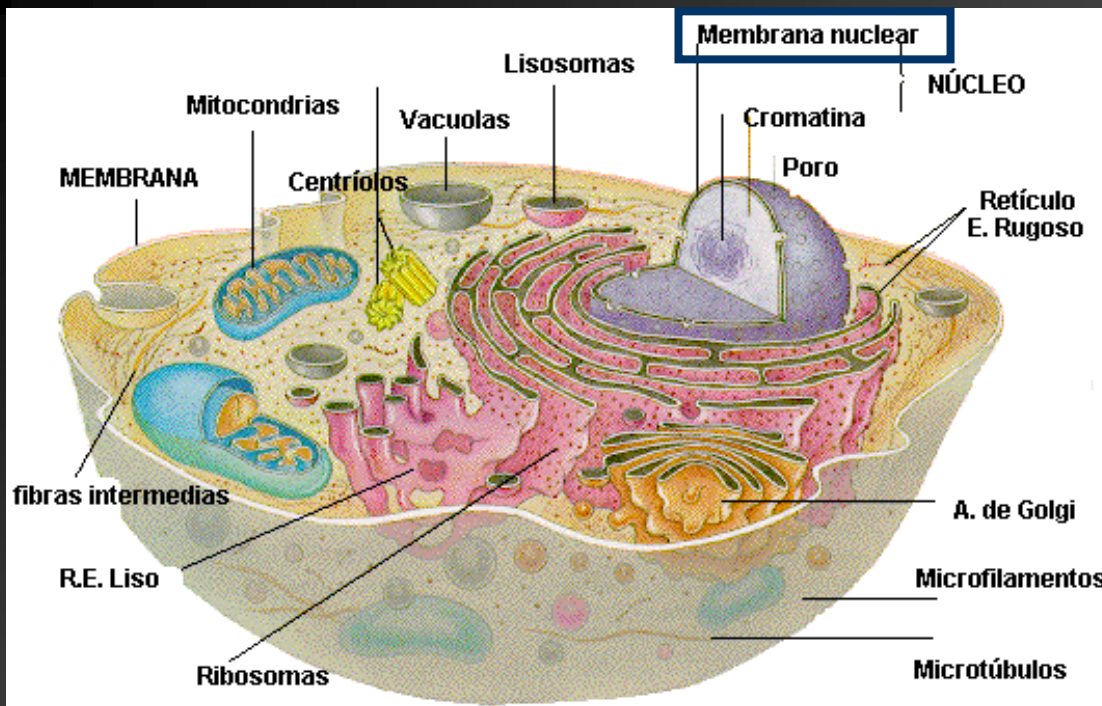
VIRUS

MICROBIOLOGÍA

☞ TIPO DE CÉLULAS

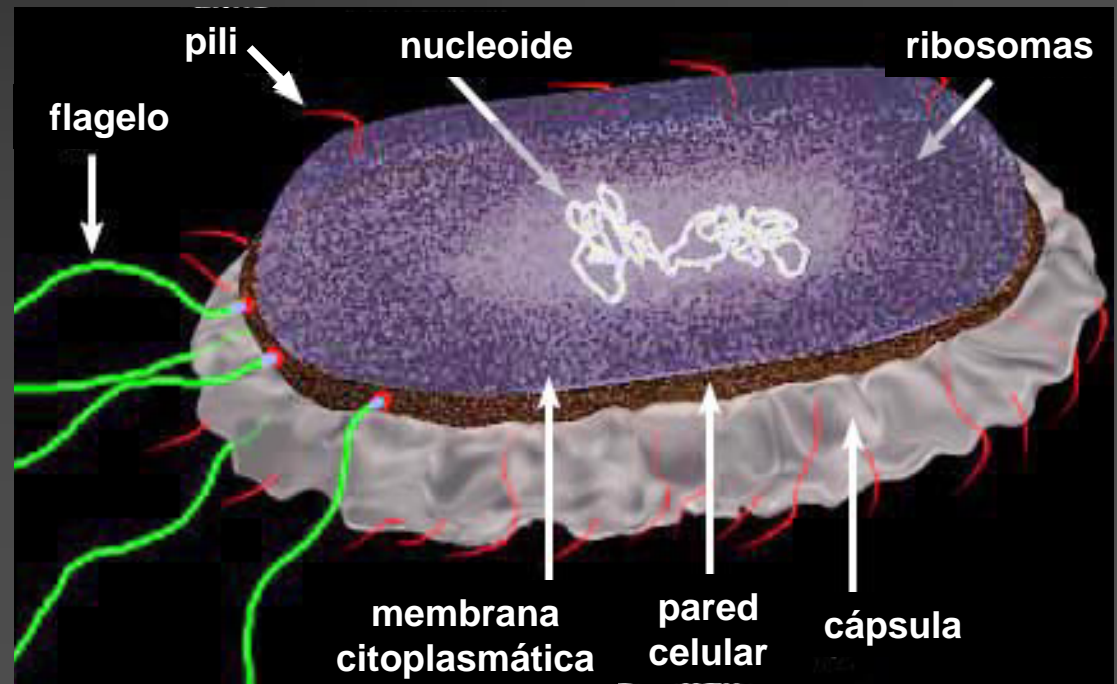
➔ Eucariotas

➔ Procariotas



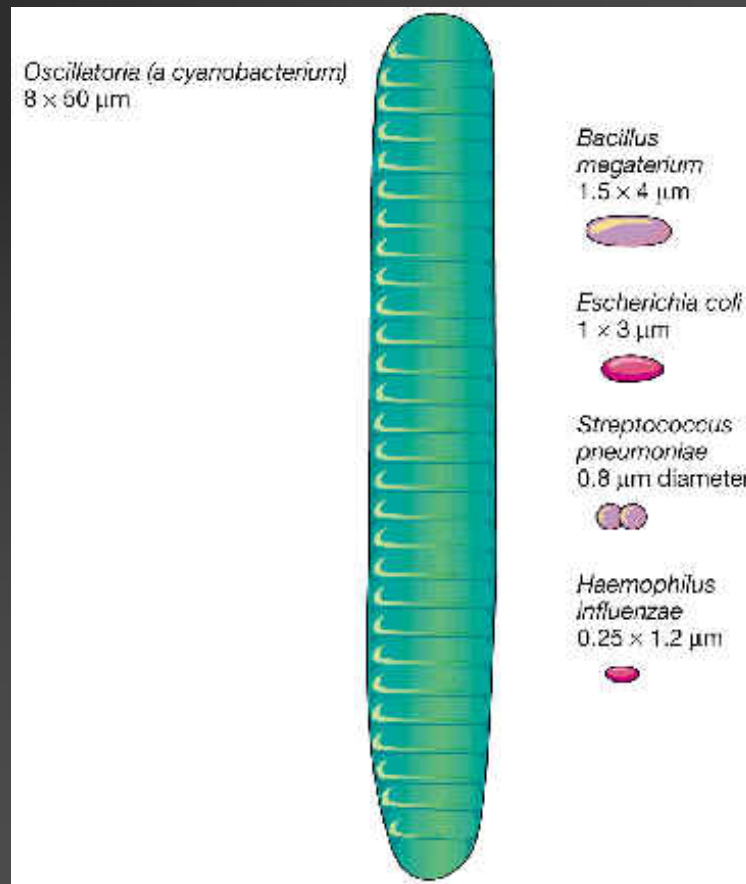
Célula Eucariota

Célula Procariota



MORFOLOGÍA BACTERIANA

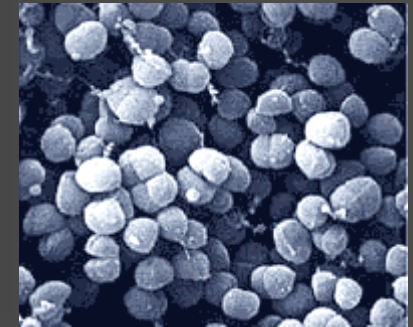
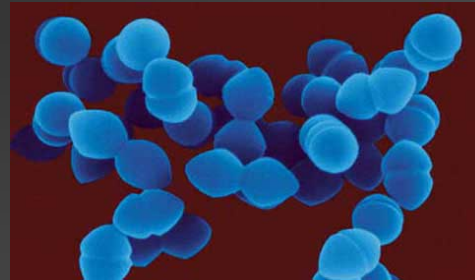
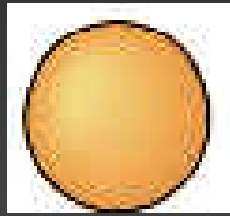
➔ TAMAÑO



MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ FORMA

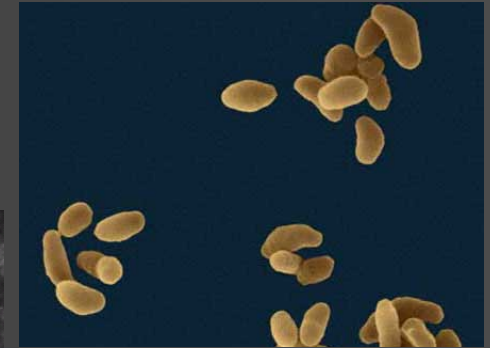
➔ Cocos



MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ FORMA

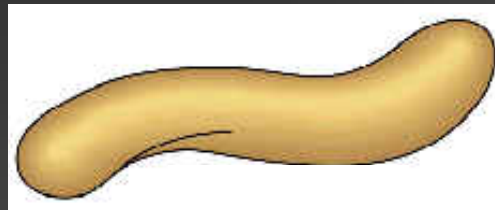
➔ Bacilos



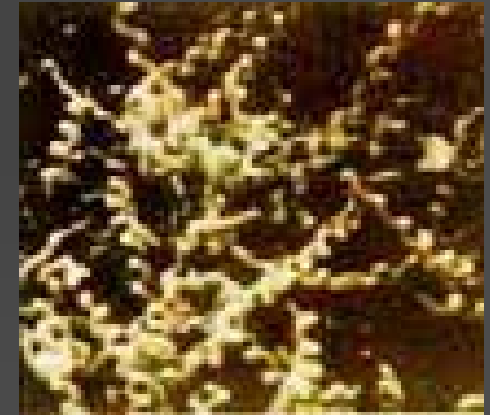
MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ FORMA

➔ Espirilos



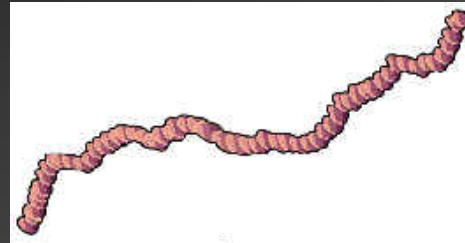
Espiral rígido



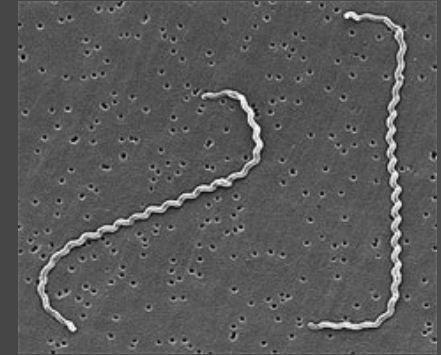
MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ FORMA

➔ Espiroquetas



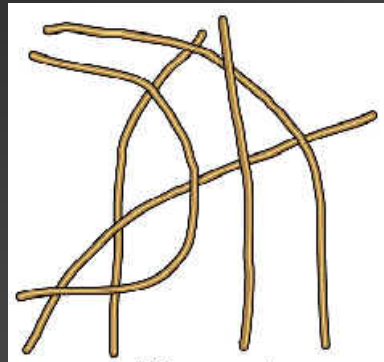
Espiral flexible y
ondulado



MORFOLOGÍA BACTERIANA



☞ FORMA

➔ Filamentosas



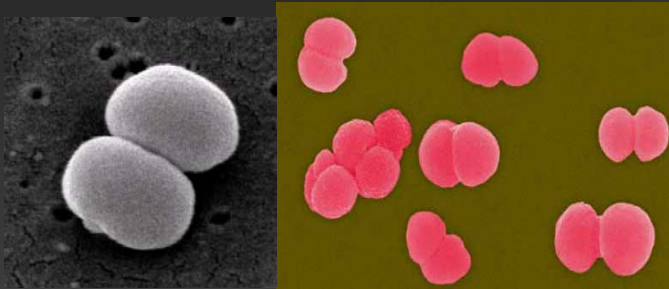
MORFOLOGÍA BACTERIANA

👉 AGRUPACIONES BACTERIANAS

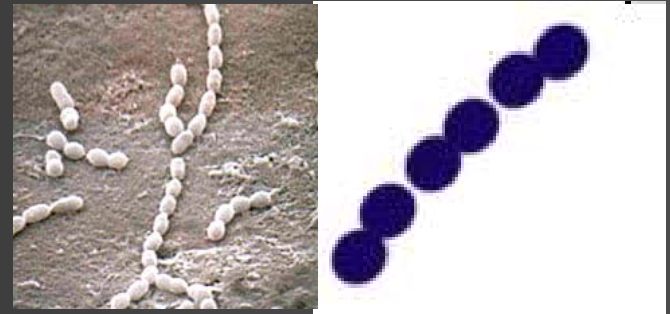
					
cocos solos	División a lo largo del mismo plano		División a lo largo de 2 planos diferentes	División a lo largo de 3 planos	
	2 cocos juntos DIPLOCOCOS	4 - 20 en cadenas ESTREPTOCOCOS		regularmente SARCINAS	irregularmente ESTAFILOCOCOS

MORFOLOGÍA BACTERIANA

➔ AGRUPACIONES BACTERIANAS



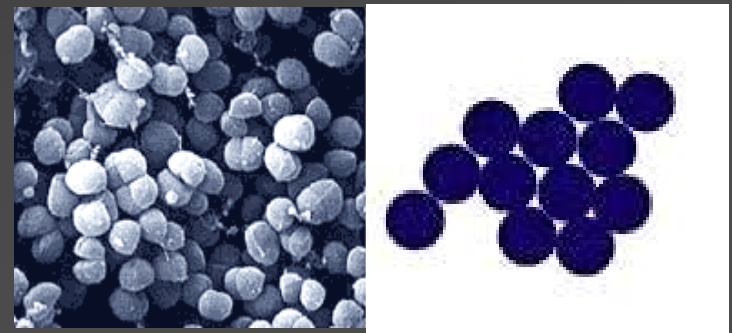
Neisseria gonorrhoeae
(diplococos en forma de anillos)



Streptococcus pneumoniae
(cadenas)



Estafilococcus aureus
(par de tétradas)



Staphylococcus aureus
(racimos)

MORFOLOGÍA BACTERIANA

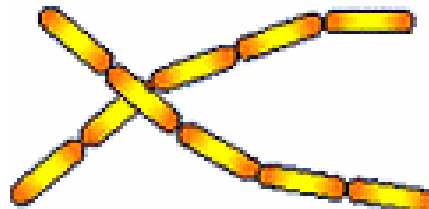
➔ AGRUPACIONES BACTERIANAS



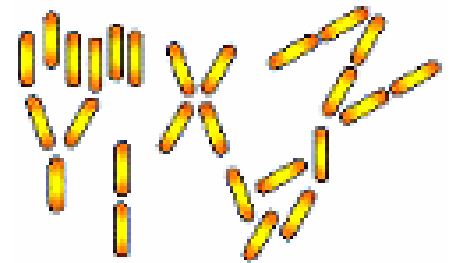
Bacilos solos



Dos bacilos juntos



Cadenas de bacilos



Empalizadas, bacilos
lado con lado o en
figuras en X, V o Y

MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ APÉNDICES SUPERFICIALES

➔ Flagelos

➤ órganos de locomoción

➤ tienen diferente tamaño

➤ se observan generalmente en bacilos y raramente en cocos

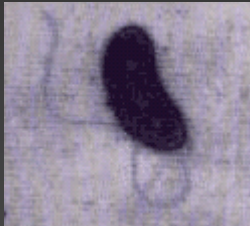


MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ APÉNDICES SUPERFICIALES

➔ Flagelos

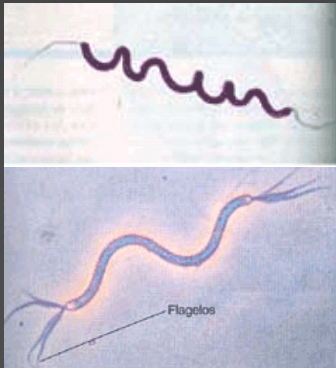
➤ Distribución



Monopolar
(monotrica)



Monopolar
(politrica)



bipolar
(anfitrica)



peritrica

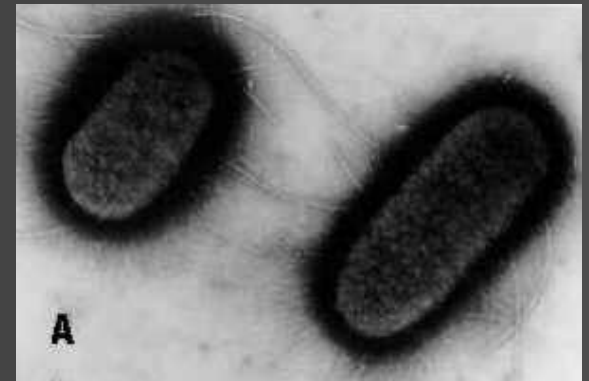
MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ APÉNDICES SUPERFICIALES

➔ Pili o fimbrias

➤ son cortos, finos y rígidos ("cabellos")

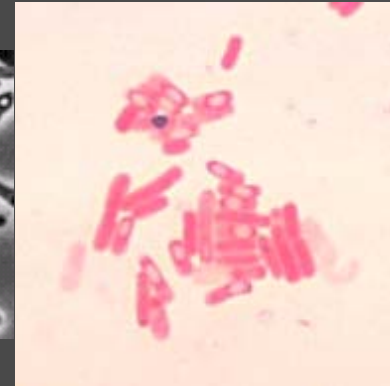
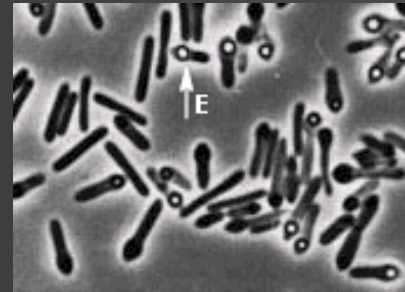
➔ Algunas bacterias poseen tanto flagelos como pili



➔ Algunas muestran un pili sexual (participa en la conjugación: transferencia de genes) y pilis convencionales

MORFOLOGÍA BACTERIANA

☞ ENDOSPORAS



- ➔ son resistentes a agentes físicos (calor, desecación, radiación) y químicos
- ➔ se eliminan sólo por esterilización
- ➔ son formadas por bacilos como *Bacillus* y *Clostridium*
- ➔ su volumen es igual a 1/10 parte de la bacteria que la origina

PARED CELULAR Y TINCIÓN DE GRAM DE BACTERIAS

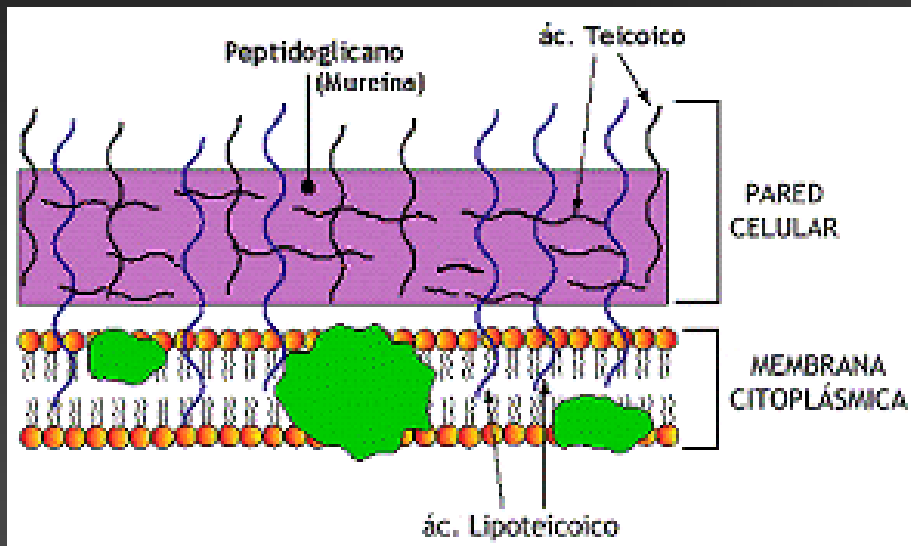
➔ PARED CELULAR

- ➔ está constituida de peptidoglicano, mureína, que determina la forma característica y confiere protección mecánica a la bacteria
- ➔ es permeable y elástica
- ➔ está ausente en *Mycoplasma* y formas L derivadas de bacterias que perdieron habilidad para sintetizarla

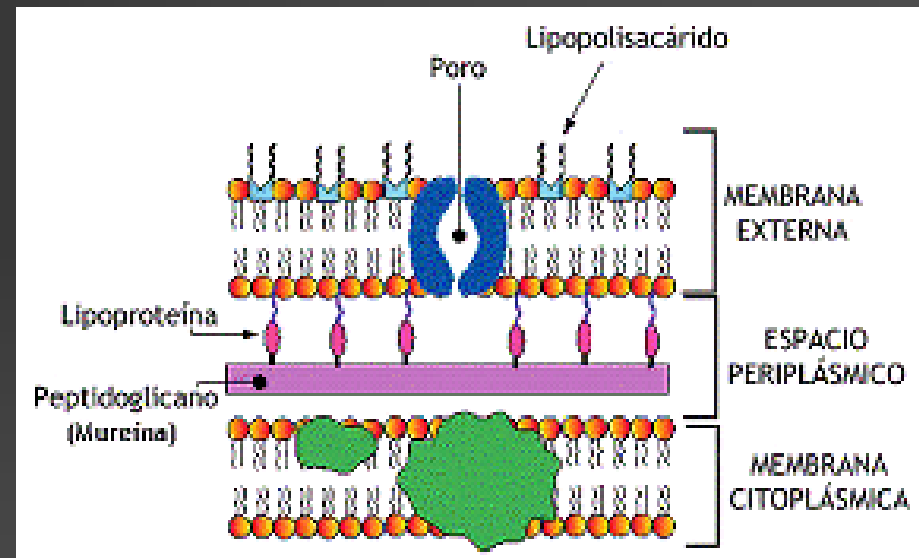


Mycoplasma pneumoniae

👉 PARED CELULAR

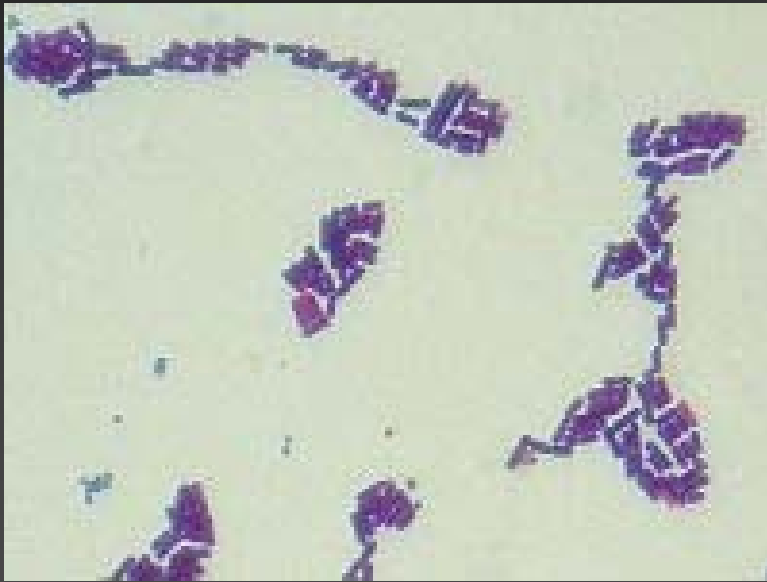


Bacteria Gram Positiva



Bacteria Gram Negativa

👉 EXAMEN MICROSCÓPICA DE LA TINCIÓN DE GRAM



Bacteria Gram positiva



Bacteria Gram negativa

CRECIMIENTO MICROBIANO

- Es el aumento ordenado de todos los componentes químicos que llevan a un incremento de los constituyentes y estructuras celulares, a la división celular y al crecimiento de la población
- es necesario la disponibilidad de agua



biosintéticos o anabolismo

energéticos o catabolismo

PRINCIPALES GRUPOS NUTRICIONALES

Tipos Nutricionales	Fuente de Energía	Fuente de Carbono	Ejemplos
Fotoautótrofos	Luz	CO ₂	Cianobacterias, algunas bacterias verdes y púrpuras
Fotoheterótrofos	Luz	CO	Algunas bacterias verdes y púrpuras
Quimioautótrofos o Litótrofos	CI H ₂ , NH ₃ , NO ₂ , H ₂ S	CO ₂	Pocas bacterias y muchas arqueobacterias
Quimioheterótrofos o Heterótrofos	CO	CO	Mayoría de las bacterias y algunas arqueobacterias

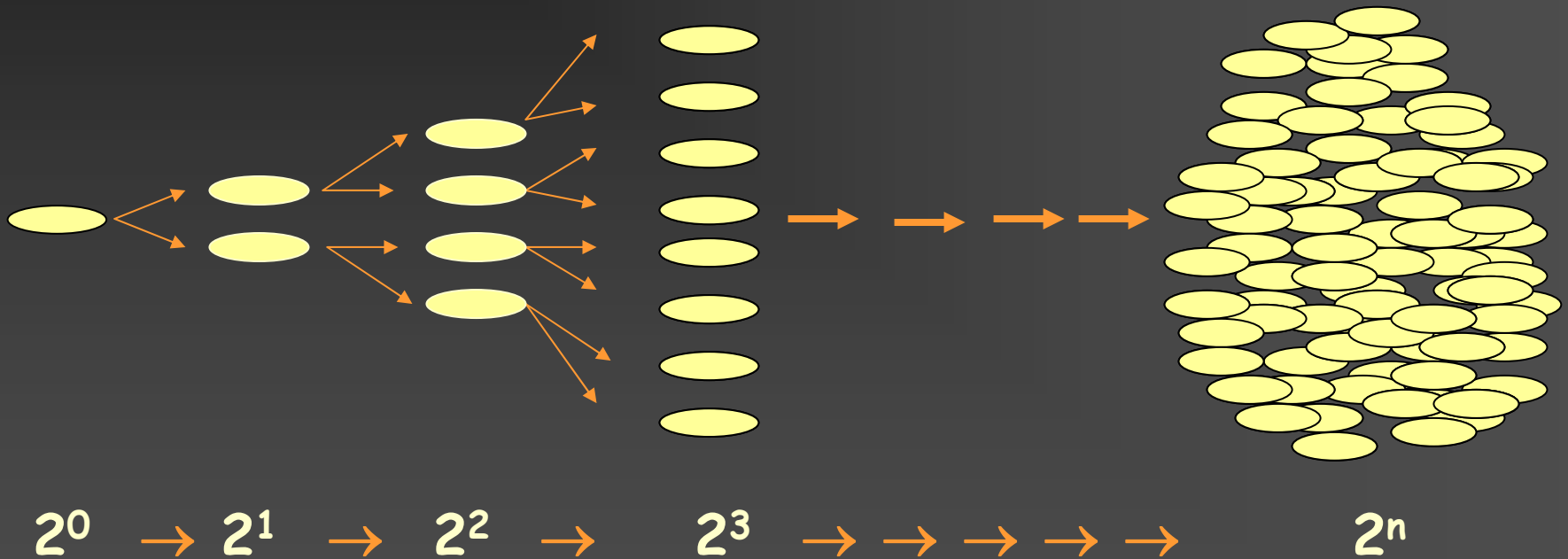
CRECIMIENTO MICROBIANO

☞ MEDIOS DE CULTIVOS

- ➔ Son ambientes artificiales diseñados por el hombre para proporcionar todas las sustancias necesarias para el crecimiento microbiano
 - ➔ **Clasificación según composición química**
 - Sintéticos o definidos
 - Complejos o indefinidos
-

CRECIMIENTO MICROBIANO

☞ Fisión binaria



☞ Es exponencial

CRECIMIENTO MICROBIANO

☞ TIEMPO DE GENERACIÓN O TIEMPO DE DUPLICACIÓN

➔ es el intervalo de tiempo requerido para que una población se duplique

$$g = \frac{t}{\left[3,3 \log \frac{x}{x_0} \right]}$$

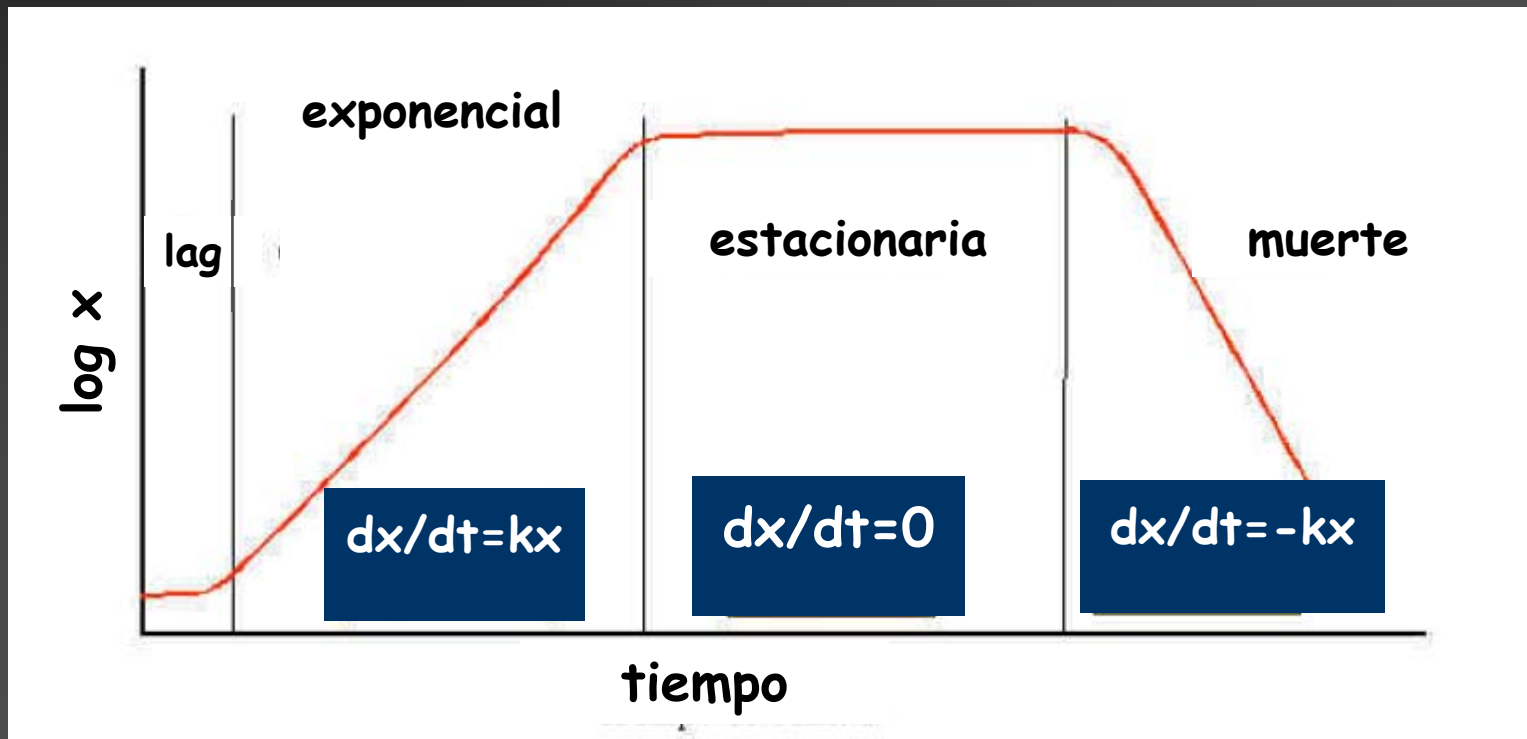
☞ VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

➔ es el número de generaciones que ocurren en un tiempo t

$$k = \frac{\left[3,3 \log \frac{x}{x_0} \right]}{t}$$

CRECIMIENTO MICROBIANO

👉 CURVA DE CRECIMIENTO



CRECIMIENTO MICROBIANO

➔ MÉTODOS DE DETERMINACIÓN

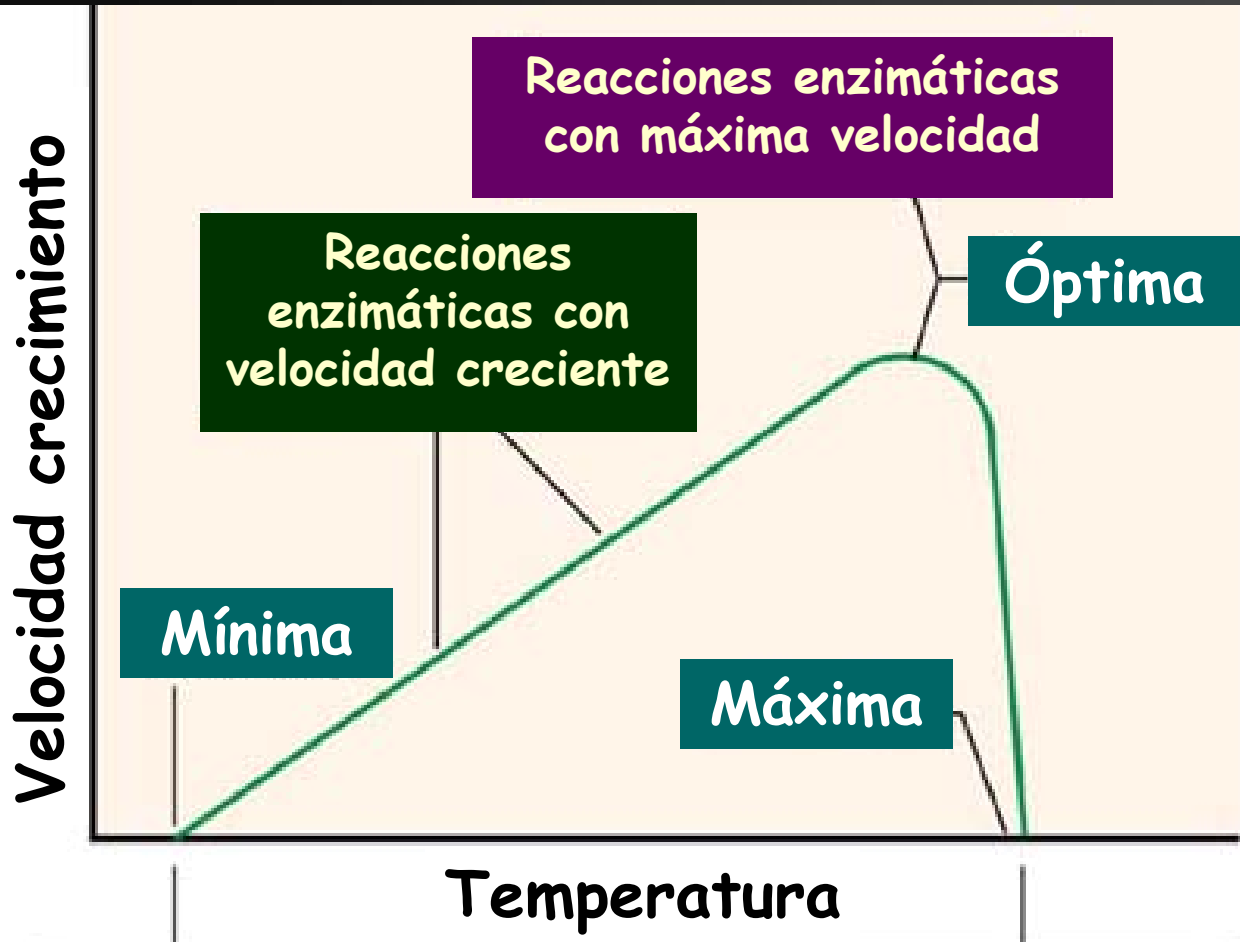
DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS	Vivas y Muertas	Recuento en cámara Recuento indirecto en portaobjetos Contador automático de partículas Nefelometría
	Vivas	Recuento en medio sólido Filtración sobre membrana
DETERMINACIÓN DE LA MASA CELULAR	Directos	Determinación de peso seco Estimación de proteínas
	Indirectos	Turbidimetría Acumulación de metabolito Consumo de un nutriente

CRECIMIENTO MICROBIANO

☞ EFECTO DE FACTORES FISICOQUÍMICOS

- ➔ temperatura
 - ➔ pH
 - ➔ biodisponibilidad de agua
 - ➔ presión osmótica
 - ➔ disponibilidad de O_2
 - ➔ tensión superficial
 - ➔ radiaciones
-

TEMPERATURA



TEMPERATURAS CARDINALES

Membrana y citoplasma pierden fluidez; proceso de transporte lento que impide el crecimiento

Desnaturalización proteica; colapso de la membrana; lisis térmica

CRECIMIENTO MICROBIANO

☞ EFECTO DE FACTORES FISICOQUÍMICOS

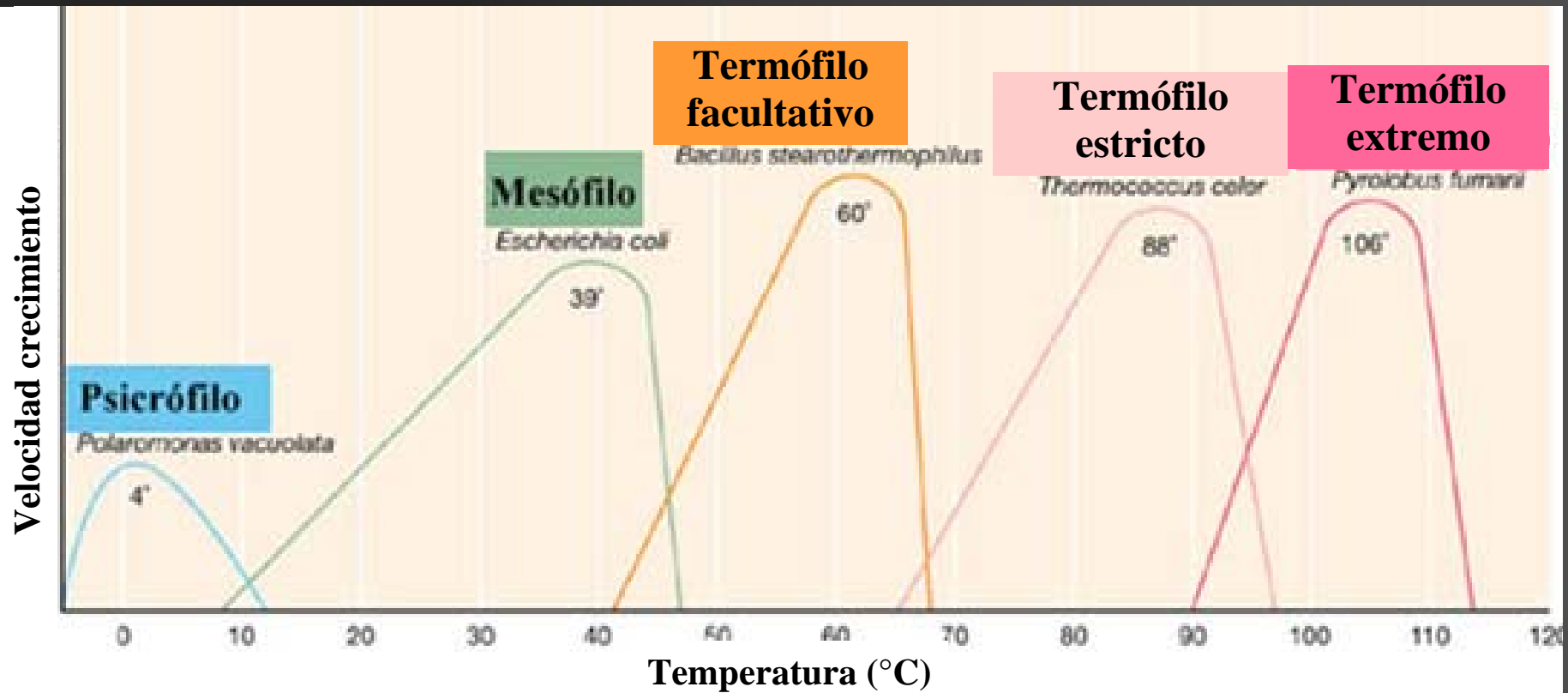
➔ Temperatura

- tasa de muerte térmica o punto de muerte térmica



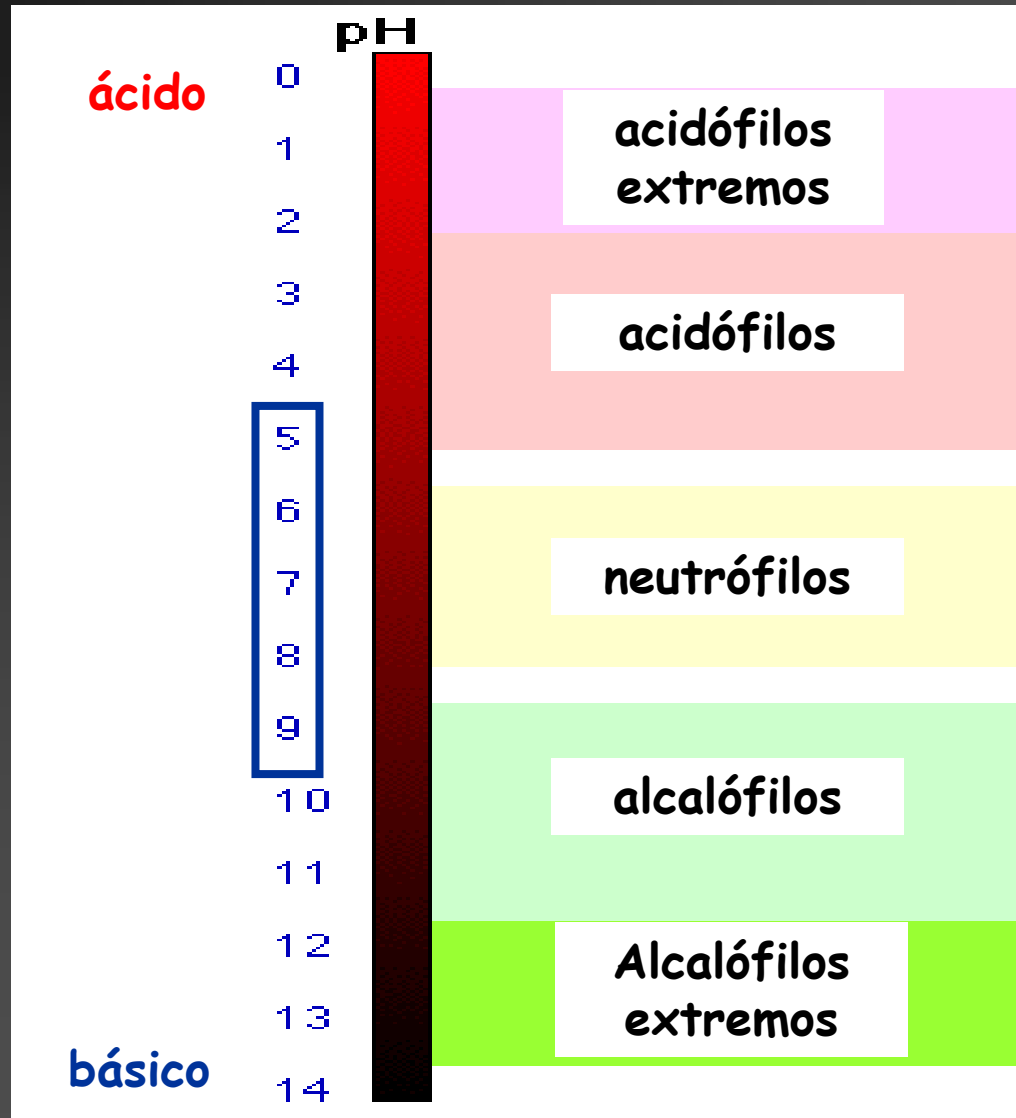
es la menor temperatura que mata a toda la población microbiana en 10 min

CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS SEGÚN LA TEMPERATURA DE CRECIMIENTO



☞ EFECTO DE FACTORES FISICOQUÍMICOS

➔ pH



☞ EFECTO DE FACTORES FISICOQUÍMICOS

➔ pH

- existe un rango de pH en el cual existe crecimiento y un pH óptimo
- valores superiores o inferiores al rango de pH en el cual existe crecimiento son nocivos



afectan la estabilidad de la membrana plasmática, inhiben enzimas y alteran el transporte de nutrientes

efecto nocivo indirecto por ionización de algunos nutrientes



inhibe el transporte pasivo

efecto nocivo directo por acidificación o alcalinización



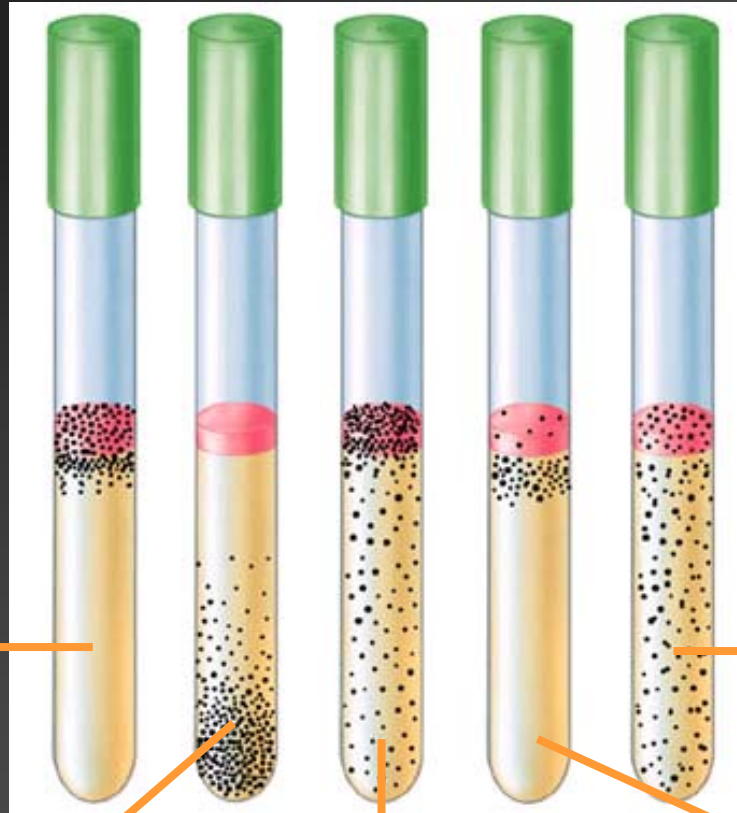
proteínas



ácidos nucleicos

EFECTO DE FACTORES AMBIENTALES

➔ Disponibilidad de O_2



aerobios obligados
requieren O_2
(respiración aeróbica)
Pseudomonas

anaerobios aerotolerantes
no requieren y no crecen
mejor con O_2
(fermentación)
Enterococcus


anaerobios obligados
 O_2 tóxico
(respiración anaeróbica o
fermentación)
Clostridium

aerobios facultativos
crecen mejor con O_2
(respiración aeróbica y
anaeróbica, fermentación)
Enterobacterias

Microaerófilos
requieren O_2 (< atmosférica)
(respiración aeróbica)



MICROORGANISMOS PRESENTES EN AGUAS NATURALES



☞ CÉLULAS EUCARIOTAS

Algas

Protozoarios

☞ CÉLULAS PROCARIOTAS ⇒ Bacterias

☞ VIRUS

ALGAS

→ contienen clorofila

→ son aerobias

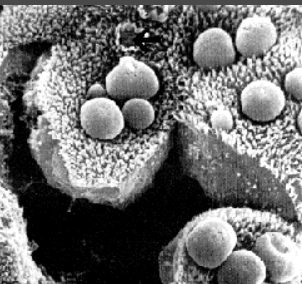
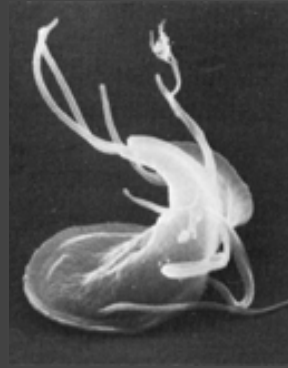


👉 PROTOZOARIOS

➔ *Giardia lamblia*

- ✓ es flagelado
- ✓ mide 15 μm
- ✓ se transmite a través de agua contaminada con materia fecal
- ✓ sus células producen *quistes* ➡➡➡ giardiasis

➔ *Cryptosporidium parvum* ➡➡➡ Criptosporidiosis



☞ BACTERIAS GRAM NEGATIVAS



➔ *Pseudomonas*

- ✓ comunes en napas freáticas
 - ✓ bacilos psicrófilos
 - ✓ presentan flagelos peritricos
 - ✓ producen pigmentos (verde, azul verdoso, rojo, marrón)
 - ✓ no forman esporas
- usan diversas fuentes de carbono
bajos requerimientos nutricionales

☞ BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

➔ *Pseudomonas*

- ✓ morfología y nicho ecológico coincide con bacterias entéricas, se diferencian por ser de metabolismo respiratorio
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* es la de mayor relevancia sanitaria

patógeno oportunista
por excelencia

resistente al cloro

es un indicador de eficiencia
de la cloración

☞ BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

➔ *Enterobacteriaceae*

- son las más importantes de los anaerobios facultativos
- habitan naturalmente el intestino de los animales

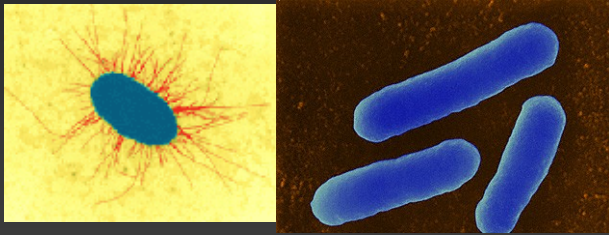


su presencia en agua está asociada a contaminación fecal

- son bacilos no esporulados
- no móviles y si lo son es por flagelos de inserción períttrica
- requerimientos nutricionales relativamente simples
- patógenos humanos

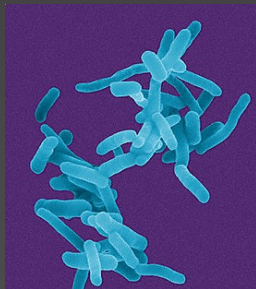
☞ BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

➔ *Enterobacteriaceae*



Escherichia coli

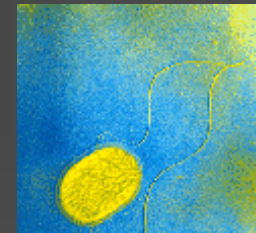
Klebsiella



Shigella



Sal. typhimurium



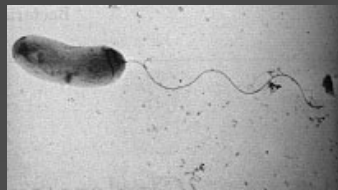
Sal. typhi

☞ BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

➔ *Vibrio*

- bacilos curvados
- poseen flagelos polares, algunos peritricos
- anaerobios facultativos
- presentes en aguas dulces o marinas

➤ *Vibrio cholerae*



especie más representativa
patógeno para humanos
responsable del cólera
transmisión casi exclusivamente
por vía hídrica

☞ BACTERIAS GRAM POSITIVAS

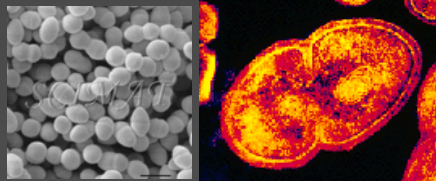
- ➔ No son un grupo muy difundido en agua
- ➔ Incluye algunos patógenos humanos aislados especialmente de aguas subterráneas

➤ *Micrococcus y Staphylococcus*

- aerobios y tolerantes a altas concentraciones salinas

➤ *Streptococcus*

➤ *Ent. faecalis*



habita normalmente en el intestino de hombres y animales

es un indicador complementario de contaminación fecal de aguas

➔ BACTERIAS GRAM POSITIVAS

➤ Bacterias esporulantes

➤ *Bacillus*



aeróbicas

presentes en suelos y acuíferos
aeróbicos

Bacillus anthracis ➔ antrax

➤ *Clostridium*



anaeróbicas

se encuentra en la última porción de
tracto intestinal de animales

presente en suelos, sedimentos, aguas
subterráneas anaeróbicas

Clostridium tetani ➔ tétano

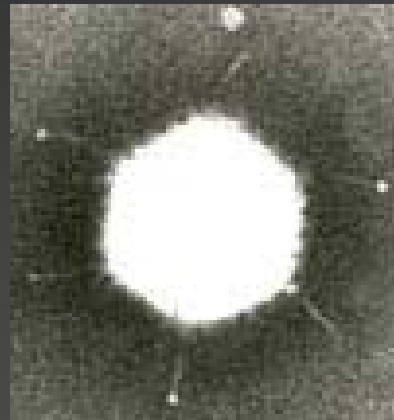
👉 VIRUS



- ➔ El 87% de las enfermedades virales de transmisión hídrica son causadas por el virus de la hepatitis



➤ *Adenovirus*



➤ *Rotavirus*



☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CALIDAD DE AGUA

➔ Requisitos

- fáciles de aislar y crecer en el laboratorio
 - relativamente inocuas para el hombre y animales
 - presencia cuali y cuantitativamente se relacione con la de otros microorganismos patógenos de difícil aislamiento
-

☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CALIDAD DE AGUA

➔ Coliformes fecales

- Indican contaminación fecal

➔ Aerobias mesófilas

- Determinan efectividad del tratamiento

➔ Pseudomonas

- señalan deterioro en la calidad o recontaminación
-

☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN

➔ Coliformes

- habitan el tracto intestinal de mamíferos y aves
- fermentan lactosa a 35°C

➤ Géneros

✓ **Escherichia**

✓ *Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter, Edwardsiella*

➔ COLIFORMES TOTALES

- Incluye a coliformes de cualquier origen
- Indicadoras de contaminación sin asegurar su origen

➔ COLIFORMES FECALES

- Incluye a coliformes de origen exclusivamente intestinal con capacidad de fermentar lactosa también a 44,5 °C
- Indicadoras de contaminación de origen intestinal
- *E. coli* es el indicador universal

➔ **ENTEROCOCOS FECALES** que desarrollan a 35°C son indicadores complementarios de contaminación fecal

☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN

➔ Validez de todo examen bacteriológico

- Toma de muestra apropiada { recipiente de boca ancha
estéril
metodología precisa
 - Transporte y conservación de la muestra { refrigerado
tiempo corto
-

☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN

➔ Análisis cuantitativo

➤ Recuento indirecto (Técnica de los Tubos Múltiples)

- ✓ basado en cálculos estadísticos
- ✓ siembra de diluciones seriadas de la muestra en medios de cultivos líquidos específicos
- ✓ se consideran números de cultivos "positivos" y "negativos"
- ✓ los resultados se expresan como NMP de microorganismos

BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN

Análisis cuantitativo

Recuento directo de microorganismos cultivables

- ✓ siembra de la muestra sobre o en un medio de cultivo selectivo agarizado
- ✓ la muestra se concentra por filtración sobre membrana

 Técnica de la Membrana Filtrante

☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN

⇒ Análisis cuantitativo

➤ Técnica de la Membrana Filtrante

- ✓ se filtra un V_m (100 mL) a través de membranas de ésteres de celulosa de $0,45 \mu\text{m}$
- ✓ la membrana se deposita sobre un medio de cultivo selectivo
- ✓ se cuentan, después de incubación, el número de colonias desarrolladas sobre la membrana
- ✓ se determina el número de UFC por unidad de volumen

☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN

⇒ Análisis cuantitativo

➤ Técnica de la Membrana Filtrante

- ✓ evitar la filtración de aguas con alto contenido de material en suspensión
 - ✓ el número de colonias desarrolladas sobre la membrana debe ser inferior a un determinado valor (80 y 100)
-

Medios de cultivo, temperaturas y tiempos de incubación, y color de las colonias de algunas bacterias indicadores de contaminación

MICROORGANISMOS	MEDIO DE CULTIVO	TEMPERATURA Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	COLOR DE LAS COLONIAS
Coliformes totales	Endo	35°C; 24 h	Rojo con brillo metálico en superficie
Coliformes fecales	FC	44,5°C; 24 h	Matices de azul
<i>Ent. faecalis</i>	KF	35°C; 48 h	Marrón
<i>E. coli</i>	EC	44,5°C; 24 h	Blanco crema
<i>P. aeruginosa</i>	Cetrimida	37°C; 72 h	Verde

☞ BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN

➔ **Análisis cuantitativo**

- Técnica de hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) utilizando sondas marcadas en base a secuencia nucleotídica del gen 16S.
-

MICROBIOLOGÍA DE AGUA

CONCEPTOS BÁSICOS

María C. Apella-Paula Araujo

MUCHAS GRACIAS !!!!



