

## Procedimientos estándares de colecta, preservación y análisis de muestras de agua por comunidad

### 1. Introducción

La colecta de muestras de agua es un procedimiento que debe llevarse a cabo con el mayor cuidado, dado que condiciona los resultados analíticos y su interpretación.

De manera general, las muestras colectadas en campo deben ser homogéneas y representativas para no modificar las características fisicoquímicas o microbiológicas del agua.

En el estudio que realizaremos para evaluar sistemas de agua potable en 300 comunidades de Nicaragua, haremos la colecta y análisis de muestras de agua obtenidas en hogares y distintos puntos de los sistemas de distribución de agua.

### 2. Preparación para la colecta y análisis de muestras de agua

Como parte de la preparación de los frascos de colecta de muestras de agua, cada frasco con la muestra tendrá su propio código el cual estará vinculado al cuestionario de agua, y a su vez el cuestionario estará vinculado a cada cuestionario de hogares y sistemas de agua potable.

Cada ID de muestra está compuesta de la siguiente forma: El ID de la brigada que puede ser del 1 al 5 (1), el ID de muestra de tres dígitos (001) y la clave ya sea del sistema (1) o bien del hogar (2), para este ejemplo el ID de la muestra sería 10012. Los códigos de las muestras están seriados con el objetivo de tener un mayor control e identificación sobre las muestras en cada brigada.

Posterior a la colecta de muestras de agua se deberá analizar diferentes parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos que son descritas en la sección 3. Debido a los distintos tipos de método de análisis y a que algunos parámetros deben ser medidos en diferentes tiempos, los análisis de agua están diseñados y seccionados de la siguiente forma:

- (I) Análisis fisicoquímicos para efectuarse de manera inmediata al momento de la colecta.
- (II) Análisis fisicoquímicos y bacteriológicos para efectuarse al concluir las entrevistas (antes de 6 horas).

Antes de iniciar el día cada líder de brigada deberá asegurarse de contar con el material requerido para cada colecta y análisis de muestras de agua. Para ello deberá revisar su bitácora cada día y corroborar que el material y equipo proporcionado está listo y en buenas condiciones para efectuar la colecta, preservación y análisis correspondientes.

De acuerdo con los tipos de análisis y términos de tiempo para efectuarlos, los materiales requeridos son los siguientes:

#### (I) Material requerido para la colecta, preservación y análisis inmediato de muestras:

- Formatos de documentación y análisis de calidad de agua
- Frascos no estériles de 500 ml (2 frascos reusables por comunidad)
- Bolsas de muestreo estériles de 100 ml con tiosulfato de sodio (9 bolsas: 1 para fuente de agua, 1 para entrada a sistema, 2 para llaves en hogares, 2 para almacenamiento en hogar llenado con sistema, 1 para almacenamiento en hogar cuando no hay sistema, 1 para control, 1 extra)
- Hielera de recolección de muestras (bolsas 100ml)
- Hielera de incubación para análisis bacteriológicos (dejar en vehículo o lugar base)

- Stickers con números aleatorios para etiquetar muestras fisicoquímicas y bacteriológicas
- Servitoallas
- Bolsa plástica para desechar suministros de análisis realizados
- Pluma y plumón indeleble
- Agregar suministros necesarios para análisis de cloro

## (II) Material requerido para colecta y análisis bacteriológicos en menos de 6 horas:

- Formatos de documentación y análisis de calidad de agua
- Frasco estéril de 100 ml con tiosulfato de sodio
- Hielera de incubación para análisis bacteriológicos (dejar en vehículo o lugar base)
- Kits CBT-II para análisis bacteriológicos
- Frasco de 500ml para desechos líquidos
- Servitoallas
- Bolsa plástica para desechar suministros de análisis realizados
- Pluma y plumón indeleble
- Cronómetro/reloj
- Alcohol

## 3. Colecta, preservación y análisis de muestras de agua en sistemas de agua potable

### 3.1 Identificación de puntos de colecta de muestras de agua

Una vez ubicado el sistema de agua potable de cada comunidad y haber concluido la entrevista con el representante del comité o patronato de agua, el líder de brigada deberá identificar un punto de acceso de agua conectado directamente al sistema de agua potable.

En las comunidades rurales encontrarás Sistemas de Agua Potable con tanques de regulación y almacenamiento diferentes. Sin embargo, de forma general, cada sistema está compuesto por: (i) captación de agua, (ii) línea de conducción, (iii) sistema/equipo de cloración, (iv) sistema de bombeo, (v) tanque de regulación, (vi) tanques de almacenamiento, (vii) red de distribución y, (viii) tomas de agua potable domiciliarios.





Debido a que cada sistema de agua potable varía principalmente en sus tanques de regulación y almacenamiento de agua, los puntos de acceso para realizar la colecta de muestras de agua también se ubican en diferentes lugares.

Los diferentes tanques de regulación y almacenamiento de agua para cada sistema y sus puntos de acceso para colecta de muestras de agua son los siguientes:

### ***Sistema de agua potable con tanque de regulación/almacenamiento elevado.***

Este sistema de agua potable bombea el agua hacia el tanque elevado que usualmente se ubica a no más de 500 mts.

La colecta de muestras de agua debe realizarse en un punto de acceso posterior al sistema o equipo de cloración. Éste puede ser ubicado en las válvulas control, o un punto de acceso posterior a este.



En los tanques de regulación (tanques elevados) de estos sistemas de agua potable es raro que existan tomas externas, es decir llaves, válvulas o mangueras. *Por tanto en estos sistemas deberás identificar el punto de acceso a agua para colecta de muestras en la caseta de control de bombeo y cloración de agua.*

Los puntos para la colecta de muestras de agua que encontrarás en las casetas de control son los siguientes:

- Llave/Grifo conectado directamente en el sistema (posterior al equipo de cloración).
- Manguera con llave conectada directamente en el sistema.
- Válvula de regulación (el agua sale a presión)

**BUSCA E IDENTIFICA** el punto de colecta de muestras de agua.

La selección del punto de colecta de muestras de agua para estos sistemas la realizarás en el orden anteriormente descrito, por ejemplo, si en un sistema encuentras los tres puntos de acceso: llave/grifo, manguera y válvula, deberás colectar las muestras de agua de la llave/grifo conectado al sistema.





## **Sistema de agua potable con tanque de regulación/almacenamiento de piedra o cemento**

En estos sistemas el agua potable es bombeada hacia un tanque de regulación y/o almacenamiento construido de piedra o cemento. Generalmente el tanque de regulación y/o almacenamiento se ubican a más de 500 mts de la caseta de control de bombeo y cloración de agua.



*Identificar el punto de acceso para la colecta de muestras sigue el procedimiento descrito a continuación:*

-Ubica en la caseta de control de bombeo y cloración la presencia alguno de los siguientes puntos de acceso para colecta de muestras

- Llave/Grifo conectado directamente en el sistema.
- Manguera con llave conectada directamente en el sistema.
- Válvula de regulación (el agua sale a presión)

La selección del punto de colecta de muestras de agua en estos sistemas la realizarás en el orden anteriormente descrito, por ejemplo, si en un sistema encuentras los tres puntos de acceso: llave/grifo, manguera y válvula, deberás colectar las muestras de agua de la llave/grifo conectado al sistema.

Si no detectas ninguno de los puntos de acceso anteriormente señalados, trasládase al tanque de regulación y/o almacenamiento.

En cada tanque IDENTIFICA los puntos de acceso:

- Llave/Grifo conectado directamente en el sistema.
- Manguera con llave conectada directamente en el sistema.
- Válvula de regulación (el agua sale a presión).
- Tubo de respiración del tanque.

Únicamente si no existe en el tanque ninguno de los puntos de acceso descritos, realiza la colecta de agua de acuerdo a lo siguiente:

-El líder de brigada deberá solicitar el apoyo del representante del comité o patronato de agua para colectar la muestra DIRECTAMENTE DEL TANQUE DEL SISTEMA DE AGUA POTABLE.

-Solicita al representante que te acompañe en cada momento de la colecta de agua.

-Coloca el recipiente en un lugar seguro y cómodo donde puedas iniciar la colecta de muestras de agua.

-Realiza la colecta directamente del recipiente iniciando con los frascos estériles para análisis bacteriológicos.

-Finalmente colecta las muestras con los frascos para análisis fisicoquímicos.

REALIZA LO ANTERIOR DE ACUERDO A LOS PROCEDIMIENTOS DE COLECTA DE MUESTRAS DESCRITOS EN EL APARTADO 3.2

**SOLAMENTE NO** coleccionarás muestras de agua de sistemas de agua que no estén en funcionamiento ya sea por abandono o mantenimiento de cada sistema. Para ello el líder de brigada deberá registrar en el cuestionario de calidad de agua que el sistema no cuenta con agua ya sea por abandono o mantenimiento.

### **3.2 Procedimiento de colecta de muestras de agua**

Identificado el punto de acceso del sistema de agua potable, el líder de brigada deberá coleccionar 2 muestras de agua:

- La primera colecta se efectuará en un frasco estéril de 100 ml con tiosulfato de sodio para hacer análisis bacteriológicos en menos de 6 horas.
- La segunda colecta se efectuará en un frasco Nalgene de 500 ml para análisis fisicoquímicos de forma inmediata.

La colecta de muestras de agua debe realizarse de acuerdo al siguiente procedimiento:

#### **3.2.1 Colecta para análisis bacteriológico de llaves/grifos o mangueras.**

Antes de iniciar la colecta de muestras de agua debes tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

El agua de los grifos debe provenir directamente del sistema de distribución. No debe efectuarse toma de muestra en grifos que presenten fugas entre el tambor y el cuello, ya que el agua puede correr por la parte exterior del grifo y contaminar la muestra. Deben removerse los accesorios o aditamentos externos como mangueras, boquillas y filtros de plástico o hule antes de tomar la muestra.

Debes limpiar el orificio de salida con una torunda de algodón impregnada de solución de hipoclorito de sodio.

Debe dejarse correr el agua aproximadamente 3 min o hasta asegurarse que el agua que contenían las tuberías ha sido vaciada totalmente. Para ello coloca una cubeta debajo de la llave o grifo para evitar desperdiciar el agua que se deja verter durante los 3 min.

Debe mantenerse el tapón del frasco de muestra hacia abajo para evitar contaminación y procederse a tomar la muestra sin pérdida de tiempo y sin enjuagar el frasco; se debe dejar el espacio libre requerido para la agitación de la muestra previa al análisis (aproximadamente 10% de volumen del frasco).

Al coleccionar la muestra de agua sigue el procedimiento descrito a continuación:

1. Abre la llave y deja correr el agua durante 3 minutos, coloca una cubeta debajo de la llave o grifo para no desperdiciar el agua.
2. Abre el frasco estéril de 100 ml teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO manteniendo la tapa boca abajo y siempre dentro de tu campo de visión. Nunca sueltes la tapa ni la coloques en superficie no estéril ya que la muestra se contamina.
3. Colecta 100 ml de agua, evitando TODO contacto entre el frasco estéril y la llave o perilla de la toma de muestra.
4. Cierra suavemente el frasco sin inclinar la tapa y mantenla todo el tiempo BOCA ABAJO; asegúrate de que el frasco quede bien cerrado.
5. Cierra la llave/perilla o manguera una vez coleccionados los 100 ml de muestra de agua.
6. Etiqueta el frasco con su número de identificación impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.
7. Coloca las muestras en la hielera de recolección y mantén tapado y es un lugar fresco la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.



8. Anota el código de la muestra en el cuestionario para registro (ver anexo 7) y análisis bacteriológicos.
9. Sigue el mismo procedimiento para colecta de muestras control

### **3.2.2 Colecta para análisis bacteriológico directo de tanque de almacenamiento (Sólo en caso de no poder colectar de llave/grifos o mangueras).**

Para la colecta de muestras de agua directo del tanque de almacenamiento sigue el procedimiento:

1. Antes de colectar la muestra de agua deberás lavarte las manos y antebrazos con agua y jabón.
2. Sumerge el frasco en el agua con el cuello del frasco hacia abajo hasta una profundidad de 15 a 30 cm.
3. Abre el frasco y endereza a continuación con el cuello del frasco hacia arriba (en todos los casos debe evitarse tomar la muestra de la capa superficial o del fondo, donde puede haber nata o sedimento y en el caso de captación en cuerpos de agua superficiales, no deben tomarse muestras muy próximas a la orilla o muy distantes del punto de extracción).
4. Efectuada la toma de muestra debe colocarse el tapón, sacar el frasco del agua y colocar el papel de protección.
5. Etiqueta el frasco con su número de identificación impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.
6. Coloca las muestras en la hielera de recolección, mantenlo tapado y en un lugar fresco en la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.
7. Anota el código de la muestra en el cuestionario para registro y análisis bacteriológicos.
8. Sigue el mismo procedimiento para colecta de muestras control.

### **3.2.3 Colecta para análisis fisicoquímico de llaves/grifos o mangueras.**

1. Abre la llave y dejar correr el agua durante 3 minutos.
2. Abre el primer frasco Nalgene de 500 ml para colectar la muestra 1 teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO manteniendo la tapa boca abajo y siempre dentro de tu campo de visión. Nunca sueltes la tapa ni la coloques en superficie no estéril ya que la muestra se contamina.
3. Colecta 500 ml de agua, evitando TODO contacto entre el frasco estéril y la llave o perilla de la toma de muestra.
4. Agita y enjuaga el frasco en dos ocasiones como se menciona en el paso 3.
5. Cierra suavemente el frasco sin inclinar la tapa y mantenla todo el tiempo BOCA ABAJO; asegúrate de que el frasco quede bien cerrado.
6. Abre el segundo frasco Nalgene de 500 ml para colectar la muestra 2 teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO manteniendo la tapa boca abajo y siempre dentro de tu campo de visión. Nunca sueltes la tapa ni la coloques en superficie no estéril ya que la muestra se contamina.
7. Cierra la llave/perilla o manguera una vez colectados los 500 ml de muestra de agua.
8. Etiqueta AMBOS FRASCOS CON EL MISMO NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.
9. Coloca las muestras en la hielera de recolección, mantenlo tapado y en un lugar fresco en la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.

### **3.2.4 Colecta para análisis fisicoquímico directo del tanque de almacenamiento (Sólo en caso de no poder colectar de llave/grifos o mangueras).**

1. Antes de colectar la muestra de agua deberás lavarte las manos y antebrazos con agua y jabón.
2. Abre el primer frasco Nalgene de 500 ml para colectar la muestra 1 teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO manteniendo la tapa boca abajo y

siempre dentro de tu campo de visión. Nunca sueltes la tapa ni la coloques en superficie no estéril ya que la muestra se contamina.

3. Sumerge el frasco en el agua con el cuello del frasco hacia abajo hasta una profundidad de 15 a 30 cm.
4. Abre el frasco y endereza a continuación con el cuello del frasco hacia arriba (en todos los casos debe evitarse tomar la muestra de la capa superficial o del fondo, donde puede haber nata o sedimento y en el caso de captación en cuerpos de agua superficiales, no deben tomarse muestras muy próximas a la orilla o muy distantes del punto de extracción).
5. Efectuada la toma de muestra debe colocarse el tapón, sacar el frasco del agua y colocar el papel de protección.
6. Etiqueta el frasco con su número de identificación impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.
7. Coloca las muestras en la hielera de recolección, mantenlo tapado y en un lugar fresco en la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.
8. Anota el código de la muestra en el cuestionario para registro y análisis bacteriológicos.
9. Sigue el mismo procedimiento para colecta de muestras control.

## Preguntas frecuentes

### 1. ¿Qué hago si el tanque de almacenamiento del sistema está vacío al momento de la visita?

*Las principales razones por las que el tanque de almacenamiento puede estar vacío son porque (1) el sistema de agua dejó de funcionar, (2) el sistema de agua potable se encuentra en mantenimiento en ese momento, o bien (3) no está siendo abastecido por la fuente de agua ya sea de manera temporal o intermitente. En cualquiera de los casos no se colectarán muestras de agua del sistema de agua potable, sin embargo se deberá REGISTRAR EN EL CUESTIONARIO DE CALIDAD DE AGUA LA RAZÓN POR LA CUAL NO HAY AGUA EN EL SISTEMA Y POR TANTO NO HAY MUESTRAS DE AGUA.*

### 2. ¿Cuál es la manera correcta de colectar la muestra del sistema cuando no hay llave?

*La forma correcta de colectar las muestras de agua son las señaladas los puntos 3.2.2 y 3.2.4.*

### 3. ¿Qué pasa si no nos dejan tomar la muestra en el hogar/sistema?

*Si las personas que entrevistamos o encuestamos no nos permiten colectar muestras de agua se debe indagar amablemente la razón del por qué no nos permiten colectar muestras de agua. Se debe insistir por un par de ocasiones para que permitan efectuar la colecta de muestras de agua. Para ello se puede argumentar la importancia de conocer la calidad de agua que las personas consumen en la comunidad. De no obtener respuesta afirmativa para colectar las muestras de agua se deberá registrar en el cuestionario de calidad de agua la razón del por qué no se colectaron las muestras de agua en el hogar o sistema de agua potable.*

## 3.3 Preservación y análisis de calidad de agua

### 3.3.1 Análisis fisicoquímicos inmediatos

La muestra de agua con el frasco de 500 ml para análisis fisicoquímicos nos sirve para realizar los análisis fisicoquímicos inmediatos.

Para efectuar los análisis inmediatos continúa con el siguiente procedimiento:

Una vez efectuada la colecta de la muestra con el frasco de 500 ml busca un lugar cómodo y suficientemente limpio para realizar los análisis inmediatos. Si en el mismo sistema de agua existen condiciones para efectuar los análisis hazlos en el mismo lugar de colecta.

Abre el frasco de 500 ml, ten a la mano el formato de análisis de agua:

## (I) Análisis con estuche de pruebas para Cloro libre y Total

<b>Nombre de la prueba:</b>	Análisis para determinar la presencia de cloro libre o total, 0 a 3.4 mg/l de Cl
<b>Tipo de prueba:</b>	Análisis de Cloro por cambio de color en base a DPD.
<b>Descripción de la prueba:</b>	El método mide la cantidad de cloro libre y cloro total en una muestra de agua, por medio de la reacción con el DPD que permite el cambio de color del agua a diferentes tonos de magenta, en base a la concentración de cloro presente en el cuerpo de agua. Esto se debe a que el DPD oxida el cloro. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de cloro presente.



Realiza el procedimiento para medir Cloro libre y total en base al método descrito a continuación:

1. Agrega 5 ml de muestra de agua hasta la primera línea del tubo colector
2. Introduce el tubo en el orificio izquierdo del comparador
3. Agrega 5 ml de muestra de agua al tubo numero 2
4. Agrega un sobre de reactivo DPD al tubo 2 para medir el cloro libre. Mezcla haciendo girar el tubo.
5. Después de 1 minuto coloca el tubo 2 en el orificio derecho del comparador.
6. Sostén el comparador de manera que quede una fuente de luz natural o fluorescente directamente a través de los tubos. Rota el disco cromático hasta que coincidan los colores en las ventanas del comparador.
7. Lee el resultado y anótalo en el cuestionario de calidad de agua.
8. Deshecha el líquido del tubo 2 y enjuégalo 3 veces.
9. Agrega un sobre de reactivo DPD al tubo 2 para medir el cloro total. Mezcla haciendo girar el tubo.
10. Después de 4 minutos coloca el tubo 2 en el orificio derecho del comparador.
11. Sostén el comparador de manera que quede una fuente de luz natural o fluorescente directamente a través de los tubos. Rota el disco cromático hasta que coincidan los colores en las ventanas del comparador.
12. Lee el resultado y anótalo en el cuestionario de calidad de agua.

Al concluir los análisis fisicoquímicos de forma inmediata, desecha el agua y **GUARDA TU FRASCO DE MUESTRA DE AGUA de 500 ml.**

### 3.3.4 Análisis bacteriológicos

Una vez concluidos los análisis fisicoquímicos debes realizar los análisis bacteriológicos. Es MUY IMPORTANTE que no dejes pasar más de 6 horas para hacer los análisis bacteriológicos. Las características de la prueba que realizarás a continuación son las siguientes:

<b>Nombre de la prueba:</b>	Prueba del contenedor dividido (Kit - Aquagenx CBT-II Compartment Bag Test-II).
<b>Tipo de prueba:</b>	Número Más Probable (NMP) de <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) en 100 mL.
<b>Descripción de la prueba:</b>	





La prueba del contenedor dividido es una forma fácil, rápida y segura para analizar la calidad del agua y determinar si el agua de consumo humano contiene *E. coli*. Una muestra de agua es colectada en una botella de 100 ml, a la cual se le añade un medio de crecimiento de *E. coli*. Después de que el medio se disuelve, la muestra se vierte en la bolsa que contiene cinco compartimentos de diferentes volúmenes por un total de 100 ml. La concentración de bacterias fecales se estima a partir de la combinación de compartimentos positivos y negativos generados en el contenedor dividido, que da una estimación del Número Más Probable (NMP) de *E. coli* por cada 100 ml de agua.

Para efectuar los análisis bacteriológicos continúa con el siguiente procedimiento:

Abre el cuestionario para registro de análisis bacteriológicos precargado en la tablet e introduce el código de la muestra.

Sigue el procedimiento descrito a continuación para el análisis bacteriológico.

## 1. Colecta 100 ml de muestra de agua (De acuerdo al procedimiento de colecta de muestras)

- Llena la botella de muestra de 100 ml
- Evita tocar el interior de la botella y la tapa
- Coloca el sticker con el código de la muestra en el frasco de la muestra



## 2. Prepara el área de trabajo

- Desinfecta el área de trabajo utilizando alcohol o una solución desinfectante y guantes de plástico



- Asegúrate de contar con el material necesario para realizar la prueba:

(a) Muestra de agua



(b) Bolsa de compartimento (contenedores divididos)



(c) Medio de crecimiento para *E. coli*



(d) Pinza de cierre para bolsas de compartimento



(e) Tabletas de cloro



## 3. Mezcla la muestra de agua con el medio de crecimiento

- Abre la botella de la muestra de agua cuidando no tocar las orillas de la botella y la tapa.



- Abre la bolsa del medio de crecimiento y agréguelo a la botella de la muestra de agua
- No toques medio con los dedos o las manos
- Coloca la tapa en la botella y disuelve el medio de crecimiento durante unos 15 minutos agitando periódicamente.



#### 4. Vierte la muestra en bolsa de compartimiento

- Remueve la costura perforada en la parte superior de la bolsa
- Antes de llenar la bolsa, etiquétala y frota los lados con los dedos para que sea más fácil de abrir y vaciar la muestra en ella
- Utiliza las pestañas blancas en la parte superior de la bolsa para mantener la bolsa abierta mientras la viertes
- Agrega lentamente la muestra en la bolsa hasta que cada compartimento cubra las marcas que están indicadas por líneas horizontales de la parte superior de los compartimentos



#### 5. Sella la bolsa

- Cierra la bolsa con el sello amarillo de la misma
- Coloca la pinza para asegurar la bolsa



#### 6. Incuba la muestra

- Incuba la bolsa compartimento para permitir el crecimiento bacteriano
  - Incuba a temperatura ambiente arriba de 25°C.
- Para temperaturas inferiores a 25°C, utiliza un recipiente o incubadora portátil.





El tiempo de incubación y la temperatura recomendadas son las siguientes:

- (1) A temperatura ambiente de 32 a 44.5° C se deja la muestra incubar de 20 a 24 horas.
- (2) A temperaturas de 30 a 35° C se deja incubar de 24 a 30 horas.
- (3) A temperaturas de 25 a 30° C se deja incubar de 40 a 48 horas.
- (4) Para temperaturas por debajo de 25 ° C, es recomendable utilizar un recipiente aislado (hielera) o se recomienda incubadora portátil.

## 7. Interpretación de los resultados obtenidos de la prueba y su registro

- Amarillo / amarillo-marrón indica negativo (ausencia) de *E. coli*



- Azul / azul-verde indica positivo (presencia) de *E. coli*



- La concentración de bacterias fecales en la muestra se calcula a partir de la combinación de compartimentos positivos y negativos, dando un número más probable (NMP) para la estimación de *E. coli* por 100 ml de agua
- Usa la tabla NMP para determinar la concentración de *E. coli*
- Registra el resultado NMP

## 8. Descontaminación de la bolsa y muestra de agua

- Abre la bolsa y añade 3 tabletas de cloro a la parte superior de la bolsa. Agita la bolsa hasta que las pastillas de cloro se disuelvan y déjala reposar durante 45 minutos.
- Después de 45 minutos, vierte el contenido líquido en un lavabo, inodoro o un agujero en el suelo y elimina de forma segura la bolsa vacía.



## **Colecta y análisis de muestras CONTROL.**

### **Controles duplicado:**

Durante cada semana el líder de brigada deberá coleccionar una muestra por duplicado en un hogar.

La muestra duplicado será coleccionada de la misma fuente que es coleccionada para una muestra normal.

Esta muestra es coleccionada únicamente 1 vez a la semana de 1 solo hogar.

El control duplicado será coleccionado de forma secuencial en cada semana. Por ejemplo, durante la primera semana el control duplicado será coleccionado el primer día de la semana. El segundo control duplicado será coleccionado el segundo día de la segunda semana y así sucesivamente hasta iniciar nuevamente la semana.

Los resultados de los controles duplicados serán registrados en el cuestionario de análisis bacteriológicos de calidad de agua y en la bitácora en papel que será proporcionada a cada líder de brigada.

### **Controles Blanco:**

Durante cada semana el líder de brigada deberá coleccionar una muestra blanco en un hogar. Al momento de realizar la coleccion de muestras normales y la muestra duplicado, el líder deberá llenar un frasco para análisis bacteriológico con agua destilada y deberá realizar el mismo análisis que para cualquier muestra normal.

La muestra control será coleccionada en el mismo lugar donde son coleccionadas las muestras normales y los controles duplicados.

Esta muestra es coleccionada únicamente 1 vez a la semana de 1 solo hogar.

El control blanco también será coleccionado de forma secuencial en cada semana. Por ejemplo, durante la primera semana el control blanco será coleccionado el primer día de la semana. El segundo control blanco será coleccionado el segundo día de la segunda semana y así sucesivamente hasta iniciar nuevamente la semana.

Los resultados de los controles blancos serán registrados únicamente en la bitácora en papel que cada líder de brigada traerá consigo.

## **Preguntas frecuentes**

### **1. ¿Cuántos tipos de controles hay?**

*Sólo se realizarán dos tipos de control: Controles duplicado y controles blancos. Ambos deberán de efectuarse únicamente para análisis bacteriológicos de acuerdo a lo señalado en el apartado para la coleccion y análisis de muestras control.*

### **2. ¿Cómo vamos a reportar los resultados de los controles blanco (negativo)?**

*Los resultados blancos únicamente serán reportados en los formatos por comunidad proporcionados a cada líder de brigada.*

### **3. ¿Qué pasa si me paso del tiempo para leer los análisis bacteriológicos?**

*El tiempo de lectura está determinado por la temperatura ambiental de tal forma que **ESTRICTAMENTE** deberás leer las muestras al tiempo requerido. Recuerda que:*

*A temperatura ambiente de 32 a 44.5° C se deja la muestra incubar de 20 a 24 horas.*

*A temperaturas de 30 a 35° C se deja incubar de 24 a 30 horas.*



A temperaturas de 25 a 30° C se deja incubar de 40 a 48 horas.

En caso de que el tiempo de lectura exceda el máximo de rango otorgado deberás registrar en observaciones en el cuestionario de calidad de agua la razón del por qué se leyeron las muestras fuera del tiempo límite.

**4. ¿Qué hacemos si se nos acaban los frascos o bolsas para tomar muestras (de 500 ml o de 100ml)?**

Cada semana deberás hacer una revisión del material para colecta y análisis de muestras de agua. Una semana antes de que registres que hará falta material de cualquier tipo deberás dar aviso al coordinador de calidad de agua para prevenir que te quedes sin material para colecta.

Como medida preventiva tendrás suficiente material para efectuar la colecta y análisis de muestras de agua durante el estudio. No obstante ante alguna pérdida o desperfecto de cualquier material se deberá dar aviso inmediato al coordinador para dar solución a cualquier imprevisto.

**5. ¿Qué pasaría o qué hacer si ya estando en el hotel una muestra bacteriológica de hogares se nos cae o se nos derrama y no podamos realizar el análisis?**

Ante esta situación se deberá registrar en el cuestionario de calidad de agua la colecta de muestras de agua fue realizada y escribir a su vez razón del por qué no se realizó. **ES IMPORTANTE RECORDAR QUE CUALQUIER MUESTRA COLECTADA Y SU ANÁLISIS ES MUY VALIOSA, POR LO QUE SE DEBERÁ SER SUMAMENTE CUIDADOSO PARA EVITAR QUE LA PÉRDIDA DE CUALQUIER MUESTRA DE AGUA.**

**6. ¿Cuáles son los residuos que no se deben tirar a la coladera, o los sobres de reactivos a no tirar en la basura normal?**

Los kits y sus análisis para las muestras tienen normas internacionales de “no contaminación de agua” por lo que están diseñados para no contaminar el ambiente y pueden ser desechados sin causar algún impacto negativo.

Las bolsas estériles usadas para los análisis bacteriológicos deberán ser depositadas en la basura. Las bolsas de análisis deberán ser desinfectadas con pastillas de cloro como se indica en el manual. Después de ser desinfectadas, el líquido se deberá verter en un inodoro o letrina y las bolsas deberán ser depositadas en la basura.

## Tabla de resultados de análisis de calidad de agua mediante la prueba de contenedores divididos

La Tabla NMP está basada en las Guías para la Calidad del Agua Potable de la Organización Mundial de la Salud, 4ª Edición.

La tabla 5.4 de dicha publicación califica el riesgo del agua potable según los niveles de *E. coli* en los siguientes rangos:

0/100 mL = segura; 1-10/100 ml = riesgo intermedio; 11-100/100 ml = Alto Riesgo; y > 100 / 100 ml = Muy Alto Riesgo.

El consenso general es que el agua potable no debe contener *E. coli*, pero en algunos países las concentraciones de *E. coli* de hasta 10/100 ml puede ser consideradas como de riesgo intermedio.

Compara los volúmenes de cada compartimento de la bolsa de análisis con uno de estos 32 posibles resultados.

1(10ml)	2(30ml)	3(56ml)	4 (3ml)	5 (1ml)	NMP/100ml	Re/100ml	Categoría de Riesgo a la salud
					0.0	2.87	Riesgo Bajo / Seguro para consumo
					1.0	5.14	Riesgo Intermedio / Probablemente seguro
					1.0	4.74	
					1.1	5.16	
					1.2	5.64	
					1.5	7.81	
					2.0	6.32	
					2.1	6.85	
					2.1	6.64	
					2.4	7.81	
					2.4	8.12	
					2.6	8.51	
					3.2	8.38	
					3.7	9.70	
					3.1	11.36	Riesgo Intermedio / Posiblemente seguro
					3.2	11.82	
					3.4	12.53	
					3.9	10.43	
					4.0	10.94	
					4.7	22.75	
					5.2	14.73	
					5.4	12.93	
					5.6	17.14	
					5.8	16.87	
					8.4	21.19	
					9.1	37.04	
					9.6	37.68	
					13.6	83.06	Riesgo Alto / Probablemente inseguro
					17.1	56.35	
					32.6	145.55	Riesgo Alto / Posiblemente inseguro
					48.3	351.91	
					>100.0	9435.1	Riesgo Muy Alto / Inseguro para consumo
	Negativo: No hay presencia de <i>E. Coli</i> .						
	El color del compartimento es amarillo o amarillo café						
	Positivo: Presencia de <i>E. Coli</i> .						
	El color del compartimento es azul o verde-azul						

## 4. Procedimiento de colecta y análisis de muestras de agua en hogares

La colecta y análisis de calidad de agua será realizado en 3 hogares por comunidad.

Únicamente el líder de brigada será el responsable de colectar y realizar el análisis de calidad de agua una vez que haya concluido con cada entrevista en cada hogar seleccionado.

Para ello, el líder de brigada deberá identificar en cada hogar un punto de acceso de agua conectado directamente al sistema de agua potable evaluado en el estudio.

Por orden prioritario, los puntos de acceso para colectar las muestras de agua en hogares son los siguientes:

- a. Llave/Grifo conectado a la red del sistema de agua potable evaluado en el estudio.
- b. Manguera con o sin llave conectada directamente a la red del sistema de agua potable evaluado en el estudio.  
De no coincidir con el horario de distribución de agua, y por tanto si los hogares seleccionados no cuentan con agua directa de la red al momento de la colecta, deberá identificar y colectar las muestras de agua de los siguientes puntos de acceso:
- c. Tinaco de almacenamiento de agua proveniente del sistema de agua potable que sea de uso reciente (El tinaco llenado con agua del sistema hace no más de tres días).
- d. Pila/pileta de almacenamiento de agua proveniente del sistema de agua potable (Pila/pileta llenada con agua del sistema hace no más de tres días).

Las muestras de agua deberán ser colectadas en el orden anteriormente señalado.

**Únicamente no se colectarán muestras de agua en hogares donde no haya agua en la red ni agua almacenada en los contenedores anteriormente señalados en el hogar. Para ello el líder de brigada deberá registrar en el cuestionario de calidad de agua que el hogar no cuenta con agua y describir la razón.**

### 1.1 Colecta de muestras de agua

Una vez identificado el punto de acceso en el hogar, el líder de brigada deberá colectar 2 muestras de agua:

- La primera colecta se efectuará en una bolsa estéril de 100 ml con tiosulfato de sodio para hacer análisis bacteriológicos en menos de 6 horas.
- La segunda colecta se efectuará en un frasco Nalgene de 500 ml para análisis inmediatos.

La colecta de muestras de agua debe realizarse de acuerdo al siguiente procedimiento:

#### 4.1.1 Colecta para análisis bacteriológico de llaves/grifos o mangueras.

1. Abre la llave y dejar correr el agua durante 30 segundos.
2. Abre el frasco estéril de 100 ml teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO manteniendo la tapa boca abajo y siempre dentro de tu campo de visión. Nunca sueltes la tapa ni la coloques en superficie no estéril ya que la muestra se contamina.
3. Colecta 100 ml de agua, evitando TODO contacto entre el frasco estéril y la llave o perilla de la toma de muestra.
4. Cierra suavemente el frasco sin inclinar la tapa y mantenla todo el tiempo BOCA ABAJO; asegúrate de que el frasco quede bien cerrado.
5. Cierra la llave/perilla o manguera una vez colectados los 100 ml de muestra de agua.
6. Etiqueta el frasco con su número de identificación impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.

7. Coloca las muestras en la hielera de recolección y mantén tapado y es un lugar fresco la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.
8. Sigue el mismo procedimiento para colecta de muestras control

#### **4.1.2 Colecta para análisis bacteriológico directo de tanque de almacenamiento (Sólo en caso de no poder coleccionar de llave/grifos o mangueras).**

1. Abre el frasco estéril de 100 ml teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO, y mantén la tapa boca abajo pero siempre dentro de tu campo de visión.
2. Inclina y sumerge el frasco de muestra, tomándolo de la parte central y evitando el contacto de la mano con la fuente de colecta de la muestra.
3. Llena el frasco con 100 ml de muestra de agua.
4. Coloca cuidadosamente la tapa al frasco de muestra SIN TOCAR la parte interna del frasco y de la tapa. Asegúrate de que el frasco quede bien cerrado.
5. Etiqueta el frasco con su número de identificación impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.
6. Coloca las muestras en la hielera de recolección y mantén tapado y es un lugar fresco la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.
7. Sigue el mismo procedimiento para colecta de muestras control.

#### **4.1.3 Colecta para análisis fisicoquímico de llaves/grifos o mangueras.**

1. Abre la llave y dejar correr el agua durante 30 segundos.
2. Abre el frasco Nalgene de 500 ml para coleccionar la muestra teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO manteniendo la tapa boca abajo y siempre dentro de tu campo de visión. Nunca sueltes la tapa ni la coloques en superficie no estéril ya que la muestra se contamina.
3. Colecta 500 ml de agua, evitando TODO contacto entre el frasco estéril y la llave o perilla de la toma de muestra.
4. Cierra suavemente el frasco sin inclinar la tapa y mantenla todo el tiempo BOCA ABAJO; asegúrate de que el frasco quede bien cerrado.
5. Cierra la llave/perilla o manguera una vez coleccionados los 500 ml de muestra de agua.
6. Etiqueta EL FRASCO CON EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.
7. Coloca las muestras en la hielera de recolección y mantén tapado y es un lugar fresco la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.

#### **4.1.4 Colecta para análisis fisicoquímico directo del tanque de almacenamiento (Sólo en caso de no poder coleccionar de llave/grifos o mangueras).**

1. Abre el frasco Nalgene de 500 ml para coleccionar la muestra teniendo cuidado de NO TOCAR LA PARTE INTERNA DE LA TAPA Y EL FRASCO manteniendo la tapa boca abajo y siempre dentro de tu campo de visión. Nunca sueltes la tapa ni la coloques en superficie no estéril ya que la muestra se contamina.
2. Inclina y sumerge el frasco de muestra, tomándolo de la parte central y evitando el contacto de la mano con la fuente de colecta de la muestra.
3. Llena el frasco con 500 ml de muestra de agua.
4. Coloca cuidadosamente la tapa al frasco de muestra SIN TOCAR la parte interna del frasco y de la tapa. Asegúrate de que el frasco quede bien cerrado.
5. Etiqueta EL FRASCO CON EL NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN impreso en un sticker. Verifica que quede bien adherido al frasco.
6. Coloca las muestras en la hielera de recolección y mantén tapado y es un lugar fresco la hielera hasta el momento de hacer los análisis bacteriológicos.



## 4.2 Análisis de calidad de agua

### 4.2.1 Análisis fisicoquímicos inmediatos

La muestra de agua número 1 con el frasco de 500 ml para análisis fisicoquímicos no recibe tratamiento de preservación ya que los análisis de calidad de agua son realizados al momento de haber colectado las muestras de agua.

Para efectuar los análisis inmediatos continúa con el siguiente procedimiento:

Una vez efectuada la colecta de la muestra 1 con el frasco de 500 ml busca un lugar cómodo y suficientemente limpio para realizar los análisis inmediatos. Si en el mismo sistema de agua existen condiciones para efectuar los análisis hazlos en el mismo lugar de colecta.

Abre el frasco de 500 ml, ten a la mano el formato de análisis de calidad de agua.

#### (I) Análisis con estuche de pruebas para Cloro libre y Total

Realiza el procedimiento para medir Cloro libre y total en base al método descrito en el punto 3.3.1 de métodos de análisis de calidad de agua.

Anota el resultado en el cuestionario de calidad de agua.

### 4.2.2 Análisis bacteriológicos

Una vez concluidos los análisis fisicoquímicos debes realizar los análisis bacteriológicos.

Es MUY IMPORTANTE que no dejes pasar más de 6 horas para hacer los análisis bacteriológicos.

Para efectuar los análisis bacteriológicos sigue el procedimiento descrito en el apartado punto 3.3.4 de los métodos de calidad de agua.