



La Santiago
transforma
tu mundo



EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE *Escherichia coli* PRESENTE EN DOS CALIDADES DE AGUAS SINTÉTICAS TRATADAS CON FILTROS CASEROS

ANDREINA DÁVILA ESTUPIÑAN

Directoer (a)

Sandra Patricia Rivera

Universidad Santiago de Cali
Facultad de Ciencias Básicas,
Programa de Microbiología
Cali, Colombia
2019

ISO 9001: 2008

BUREAU VERITAS
Certification



N° CO240938 / N° CO240938-A / N° CO240938-B
N° CO240938-C / N° CO240938-D / N° CO240938-E
N° CO240938-F



Calle 5a Carrera 62 Campus Pampalinda A.A. 4102 / Teléfono: PBX 5183000
web: www.usc.edu.co / Nit. 890.303.797-1 / Santiago de Cali - Colombia





EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE *Escherichia coli* PRESENTE EN DOS CALIDADES DE AGUAS SINTÉTICAS TRATADAS CON FILTROS CASEROS

ANDREINA DÁVILA ESTUPIÑAN

Trabajo de grado presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
Microbióloga.

Director (a):

Sandra Patricia Rivera Sánchez

Línea de Investigación:

Salud Pública

Grupo de Investigación:

GIMIA

Universidad Santiago de Cali

Facultad de Ciencias Básicas,

Programa de Microbiología

Cali, Colombia

Año

2019



La Santiago
transforma
tu mundo



ACTA DE SUSTENTACIÓN

Nota de aceptación

Firma del presidente del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Santiago de Cali, Junio 2019

ISO 9001: 2008

BUREAU VERITAS
Certification



N° CO240938 / N° CO240938-A / N° CO240938-B
N° CO240938-C / N° CO240938-D / N° CO240938-E
N° CO240938-F



ACREDITADO
ISO/IEC 15521:2011
10-250-007

Calle 5a Carrera 62 Campus Pampalinda A.A. 4102 / Teléfono: PBX 5183000
web: www.usc.edu.co / Nit. 890.303.797-1 / Santiago de Cali - Colombia





DEDICATORIA

Al motor de mis días Martin, porque en su pequeña inocencia supo cuando mamá no podía jugar, salir de paseo, acompañarlo al deporte o ir al teatro, etc, para ti y por ti es todo este esfuerzo; gracias simplemente por llegar a mi vida a fortalecerla y llenarla de alegría.

A mi esposo por creer en mí, porque siempre estuvo ahí dándome palabras de aliento, por ayudarme en mis tareas como madre y esposa mientras me dedicaba a mis estudios, por ser muy comprensible y paciente.



AGRADECIMIENTOS

A mi mamá por su cariño, su apoyo, su dedicación y empeño por ayudarme a ser una persona mejor cada día. Por tanto esfuerzo para que yo alcanzara este triunfo.

De manera especial a mi tutor de tesis Sandra Patricia Rivera por compartirme su conocimiento, consejos, y todo el apoyo brindado para desarrollarme profesionalmente y encaminarme al mundo laboral.

A la profesora Andrea Pérez Vidal de la facultad de ingenierías, por la oportunidad de participar en este proyecto.

A la Dra Rosa del Pilar Cogua, por su apoyo en el transcurso de mi carrera, y por sus enseñanzas.

A la Dra Paola Londoño del laboratorio de Salud Pública Departamental por permitir utilizar las instalaciones del laboratorio, para el desarrollo experimental del proyecto.

A Liliana Flórez estadística y epidemióloga, por aportar sus conocimientos y por todo el tiempo invertido en este proyecto.

A la Universidad Santiago de Cali, por permitirme concluir con esta etapa de mi vida y por el financiamiento de este proyecto.

A la empresa Replacol que proporcionó los filtros para el desarrollo de este proyecto.



IMPACTOS

Relacione el (los) impacto(s) que presentó el Trabajo de Grado

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Económico	X	Universidad Santiago de Cali y comunidad general
Responsabilidad social		
Científico	X	Universidad Santiago de Cali y comunidad general
Indicadores de Gestión		
Tecnológico	X	Empresa Replalcol y comunidad en general
Técnico		
Ambiental	X	Universidad Santiago de Cali, Empresa Replalcol y comunidad en general
Social		
Cultural		



TABLA DE CONTENIDO

1. PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA O PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1 Antecedentes del problema	1
1.2 Descripción del problema	2
1.3 Formulación del problema	4
2. JUSTIFICACIÓN EN TÉRMINOS DE NECESIDADES Y PERTINENCIA	5
3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	7
3.1 Calidad del agua:	7
3.2 EDA	8
3.3 Indicadores microbiológicos del agua	9
3.4 Métodos alternativos de desinfección del agua	9
3.4.1 Filtros de membrana, de cerámica porosa o compuestos	10
3.4.1.1 Filtros caseros EKOFIL y EKOFIL PLUS (REPLACOL)	11
3.5 Protocolos internacionales para ensayos microbiológicos	12
3.6 <i>Escherichia coli</i> y bacterias coliformes termotolerantes	12
3.7 Métodos microbiológicos para cuantificar bacterias indicadoras	13
3.8 Filtración por membrana	15
4. OBJETIVOS	16
4.1 Objetivo General:	16
4.2 Objetivos Específicos:	16
5. HIPOTESIS DEL PROBLEMA	17
6. METODOLOGÍA	18
6.1 UBICACIÓN DEL PROYECTO	18
6.2 Fase I	19



6.2.1	Estandarización de la concentración de <i>E. coli</i> 10^2 y 10^3	19
6.2.1.1	Preparación de la escala de Mcfarland.....	19
6.2.1.2	Lavado celular	20
6.3	Fase II	21
6.3.1	Operación de los filtros	21
6.4	Fase III	23
6.5	Análisis Experimental	24
6.6	Método de análisis estadístico	25
7.	RESULTADOS	26
7.1	Fase I.	26
7.2	Fase II.	29
7.3	Fase III.	31
8.	DISCUSIÓN	40
8.1	Fase I: Estandarización de las aguas sintéticas e inóculo	40
8.2	Fase II: Operación de los filtros.....	42
8.3	Fase III: Aplicación de la técnica filtración por membrana	45
9.	CONCLUSIONES	50
10.	RECOMENDACIONES	51
11.	BIBLIOGRAFIA	52
	ANEXOS	61
	ARTÍCULO	70



LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de filtros de la empresa Replacol. A. Diseño exterior del filtro con vasija de arcilla porosa y baño de plata coloidal. B. Diseño interior del filtro con columna de carbón activado (EKOFIL PLUS).	11
Figura 2. Descripción de las fases de la investigación.	18
Figura 3. Preparación de la escala de MacFarland para obtener la curva de calibración.	20
Figura 4. Reactivación y lavado celular de <i>E.coli</i> ATCC 25922.	21
Figura 5. Operación de los filtros.	23
Figura 6. Realización de filtración por membrana.	24
Figura 7. Filtros de olla de cerámica EKOFIL Y EKOFIL PLUS.	30
Figura 8. Biopelícula en EKOFIL PLUS 3.0	38



LISTAS DE TABLAS

Tabla 1. Preparación de la escala de McFarland.....	19
Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del agua sintética según EPA	22
Tabla 3. Absorbancias de cada estándar de McFarland	26
Tabla 4. Datos para determinar la concentración de <i>E.coli</i>	28
Tabla 5. Datos para determinar el inóculo inicial para el agua sintética.	28
Tabla 6. Concentración final de cada variable para 100 L de agua sintética.	29
Tabla 7. Concentración del control positivo de agua sintética inicial	31
Tabla 8. Concentración del control positivo de agua sintética final.....	32
Tabla 9. Remoción bacteriana de <i>E.coli</i> en la calidad de agua de 10^2 UFC/mL.	33
Tabla 10. Remoción bacteriana de <i>E.coli</i> en la calidad de agua de 10^3 UFC/mL.	36
Tabla 11. Comparación de los modelos de filtración según ANOVA para la concentración de 10^2 y 10^3 UFC/mL	39



LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de calibración de la escala de McFarland	27
Gráfico 2. Recuentos de <i>E.coli</i> a la concentración de 10^2 UFC/mL en los filtros EKOFIL.....	34
Gráfico 3. Recuentos de <i>E.coli</i> a la concentración de 10^2 UFC/mL en los filtros EKOFIL PLUS.	35
Gráfico 4. Recuentos de <i>E.coli</i> a la concentración de 10^3 UFC/mL en los filtros EKOFIL.....	37
Gráfico 5. Recuentos de <i>E. coli</i> a la concentración de 10^3 UFC/mL en los filtros EKOFILPLUS.	38

LISTA DE ECUACIONES

$Y = mx + b$	(1).....	27
$C1 \times V1 = C2 \times V2$	(2)	28



GLOSARIO

Agua: Sustancia líquida sin olor, color ni sabor que se encuentra en la naturaleza en estado más o menos puro formando ríos, lagos y mares, ocupa las tres cuartas partes del planeta Tierra y forma parte de los seres vivos; está constituida por hidrógeno y oxígeno (H_2O).

Bacteria: Son microorganismos con una célula única (unicelulares) relativamente simples. Dado que su material genético no está encerrado por una membrana nuclear especial, las células bacterianas se denominan procariontes, de las palabras griegas que significan prenucleo.

Biopelícula: Es un ensamblaje constituido por células microbianas que están envueltas en una matriz compuesta de polisacáridos principalmente. Ese ensamble provee protección a la comunidad microbiana de la predación de otras células, de la perturbación física y de la presencia de sustancias tóxicas como los antibióticos.

Carbón activado: Puede ser granular o en polvo es un material con una alta capacidad de adsorción, está compuesto por un gran número de poros de tamaño similar con una superficie interna entre 500 a 1500 m²/g. Tiene varios usos como el de depurar el agua, decolorar, desodorizar, adsorber gases o ionizar.

Coliformes: Bacterias Gram negativas, que fermentan la lactosa a una temperatura de 35 o 37 °C, con producción de ácido, gas y aldehído dentro de 24 a 48 horas. Son citocromo-oxidasa negativos y no esporulados.



Colonia: Población de células que puede observarse macroscópicamente, y crecen en medio sólido, procedente de una sola célula.

Diarrea: Alteración de las heces caracterizada por un aumento del volumen, la fluidez y la frecuencia de las deposiciones, en comparación con las condiciones fisiológicas normales.

Fase estacionaria: Es cuando los nutrientes se agotan y operacionalmente es el momento en el que el número de células en el cultivo no varía.

Filtración: Proceso mediante el cual las partículas sólidas que se encuentran en un medio líquido o también gaseoso se separan a través de un medio filtrante o filtro, que retiene las partículas y permite el paso del fluido.

Filtro: Un filtro es un dispositivo que retiene ciertos elementos y deja pasar otros. El concepto suele referirse al material poroso que permite el tránsito de un líquido.

Indicadores: Es un microorganismo cuya presencia permite determinar la existencia de un patógeno. Este indicador se usa mayoritariamente en la determinación de contaminación de las aguas.

Microorganismo: Organismo microscópico consistente en una célula o grupo de células.

Patógeno: Organismo capaz de causar daño a un hospedador, al cual infecta.



Plata coloidal: Es un coloide compuesto por nanopartículas de plata cargadas eléctricamente, entre 1 y 10 nm de diámetro que se mantienen suspendidas en agua destilada.

Turbiedad: Es el efecto óptico causado por la dispersión y absorción de los rayos luminosos que pasan a través de un líquido que contienen pequeñas partículas en suspensión. La turbiedad en el agua resulta de la presencia de materiales sólidos u opacos que dicho líquido transparente de por sí, mantiene en suspensión.



RESUMEN

Introducción: El agua es esencial para la vida y todas las personas deben disponer de un suministro satisfactorio, suficiente, inocuo y accesible; al igual que debe cumplir con las características microbiológicas y organolépticas establecida en la reglamentación, entre ellas la ausencia total de *Escherichia coli*, para ser apta para el consumo humano; sin embargo un gran porcentaje de zonas especialmente rurales no cuentan con agua de buena calidad y presentan enfermedades por esta razón, por lo cual, recurrir a nuevas tecnologías como los filtros caseros que ayuden a la potabilización del agua, proporciona una alternativa con beneficios tangibles para la salud.

Objetivo: Evaluar la remoción de *Escherichia coli* a partir de dos calidades de aguas sintéticas de filtros caseros EKOFIL y EKOFIL PLUS.

Metodología: El proceso para la potabilización del agua fue desarrollado en la Universidad Santiago de Cali y el Laboratorio de Salud pública Departamental. Se emplearon aguas sintéticas inoculada con la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 a una concentración de 10^2 y 10^3 ; y se evaluaron mediante el método microbiológico filtración por membrana. El diseño planteado fue un estudio de tipo experimental de un factor. Para la evaluación de la remoción de los filtros caseros se utilizó un Anova.

Resultados: Para las dos calidades de aguas sintéticas evaluadas (10^2 y 10^3 UFC/mL) no hubo diferencias estadísticas significativas para la remoción de *Escherichia coli* en comparación a las tasas de filtración. Sin embargo, los filtros de EKOFIL PLUS lograron una remoción del microorganismo de 2,2 Log en la concentración



de 10^2 UFC/mL y 3.0 Log para 10^3 UFC/mL, lo cual puede ser atribuido a la presencia de la columna con carbón activado especialmente con tasa de filtración de 2 h/L y 1 h/L respectivamente.

Conclusiones: Aunque los filtros presentaron remoción de *Escherichia coli* en el agua luego de la filtración, no alcanza a cumplir con el criterio recomendado por la normatividad colombiana que es de 0 UFC/100mL, en cuanto a este indicador microbiológico en algunos de los sistemas de filtración y no se presentó una tendencia clara.

Palabras clave: EDA, Filtros caseros, *Escherichia coli*, Filtración por membrana.



ABSTRACT

Introduction: Water is essential for life and all people must have a satisfactory, sufficient, safe and accessible supply; Likewise, it must comply with the microbiological and organoleptic characteristics established in the regulations, including the total absence of *Escherichia coli*, in order to be suitable for human consumption; However, a large percentage of especially rural areas do not have good quality water and have diseases for this reason, so resorting to new technologies such as household filters that help purify water, provides an alternative with tangible benefits for health.

Objective: To evaluate the removal of *Escherichia coli* from two synthetic water qualities of EKOFIL and EKOFIL PLUS homemade filters.

Methodology: The process for water potabilization was developed at the Santiago de Cali University and the Departmental Public Health Laboratory. Synthetic waters inoculated with the *Escherichia coli* strain ATCC 25922 at a concentration of 10^2 and 10^3 were used; and they were evaluated by the membrane filtration microbiological method. The proposed design was an experimental type study of a factor. For the evaluation of the removal of the homemade filters, an Anova was used.

Results: For the two evaluated synthetic water qualities (10^2 and 10^3 CFU/mL) there were no significant statistical differences for the removal of *Escherichia coli* compared to filtration rates. However, the EKOFIL PLUS filters achieved a removal of the microorganism from 2.2 Log in the concentration of 10^2 CFU/mL and 3.0 Log



for 10^3 CFU/mL, which can be attributed to the presence of the column with activated carbon especially with filtration rate of 2 h / L and 1 h / L respectively.

Conclusions: Although the filters showed removal of *Escherichia coli* in the water after filtration, it fails to meet the criterion recommended by Colombian regulations, which is 0 CFU/100mL, regarding this microbiological indicator in some of the filtration systems and there was no clear trend.

Keywords: EDA, Home filters, *Escherichia coli*, membrane filtration.



1. PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA O PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Antecedentes del problema

Según un nuevo informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del UNICEF, en todo el mundo aproximadamente tres de cada 10 personas carece de acceso a agua potable y disponible en el hogar, y 6 de cada 10, carecen de un saneamiento seguro (1). Por esta razón 1,6 millones de personas mueren cada año de enfermedades diarreicas (incluido el cólera) y provoca unos 4 mil millones de casos de enfermedad al año, atribuibles a la falta de acceso a un agua potable salubre y al saneamiento básico, y un 90% de esas personas son menores de 5 años, principalmente países en desarrollo (2). En promedio, los niños sufren tres episodios de diarrea al año, lo que con lleva a que en cada episodio se reduzca la absorción de calorías y nutrientes y se retrasa su crecimiento y desarrollo (3).

En Colombia la morbilidad y mortalidad infantil tiene tasas muy altas debido a las enfermedades relacionadas con el consumo de agua de baja calidad, como la diarrea y el cólera; por ende las aguas contaminadas generan un impacto negativo en la salud pública que según cálculos recientes asciende aproximadamente a 1,96 billones de pesos al año, de los cuales el 70% corresponde al impacto de la morbilidad y mortalidad por enfermedades diarreicas agudas (EDA) y el 30% restante al gasto en prevención (4). Esta situación es más grave en las zonas rurales y de población dispersa del país. Según cálculos del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial 2002, del 56% de la población rural que



tiene alguna forma de abastecimiento de agua, solo el 6% cuenta con agua a la que se le da algún tratamiento para desinfectarla (5). Esto significa que miles de niños, especialmente en las zonas rurales del país y en los municipios más pobres, aún enfrentan el riesgo de contraer enfermedades como la diarrea y el cólera, que en muchos de los casos puede llegar a ser mortal (6). Por lo tanto, es muy importante que los municipios del país cuenten con un sistema que permita hacerle seguimiento constante a la calidad del agua que distribuyen a sus habitantes e implementar soluciones que mitiguen estos riesgos.

Actualmente existen tecnologías para el tratamiento domiciliario del agua, las cuales comprenden una gama de dispositivos o métodos que se emplean para potabilizar el agua en el hogar o en el punto de uso en otros entornos. Lo que permite una alternativa de bajo costo y eficiente para tratar el agua no potable, con el fin de eliminar o inactivar microorganismos patógenos y sólidos en suspensión, y así reducir significativamente las enfermedades causadas por este problema.

1.2 Descripción del problema

El agua no potable es una de las problemáticas más comunes debido a que más de 1.200 millones de personas no tienen acceso a una fuente segura y las enfermedades relacionadas por la falta de agua o calidad inadecuada afecta a más de 2.300 millones de personas, de las cuales 5 millones de personas fallecen anualmente a causa de enfermedades vinculadas con el agua (7); es por eso que el acceso al agua potable es una cuestión importante en materia de salud y desarrollo en los ámbitos nacional, regional y local. En algunas regiones, se ha comprobado que las inversiones en sistemas de abastecimiento de agua y de



saneamiento pueden ser rentables desde un punto de vista económico, ya que la disminución de los efectos adversos para la salud y la consiguiente reducción de los costos de asistencia sanitaria son superiores al costo de las intervenciones (8).

El riesgo para la salud más común y extendido asociado al agua de consumo es la contaminación microbiana, cuyas consecuencias pueden llegar a ser mortales, por lo que el control debe ser primordial; debido a que ocasiona enfermedades infecciosas causadas por bacterias, virus y parásitos patógenos (p. ej., protozoos y helmintos), las cuales en subpoblaciones vulnerables, pueden traer graves consecuencias como una contaminación a gran escala y, posiblemente, causen brotes de enfermedades detectables como EDAS y enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) (9). Particularmente las causas bacterianas de EDA ocupan un segundo lugar en frecuencia siendo *Escherichia coli* enteropatógenas las más importantes seguida de *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni* y *Vibrio cholerae*. Con respecto a la contaminación de agua con cepas de *E. coli* enteropatógenas, no existen estudios que indiquen específicamente cuáles son los patotipos que más frecuentemente contaminan el agua para consumo humano, cuáles son las regiones del país más afectadas, y qué factores climáticos, geográficos o socioeconómicos contribuyen a dicha contaminación (10).

De esta manera el control de la calidad del agua según las normas y directrices se han basado históricamente en la reducción de la concentración de bacterias del grupo coliformes. Actualmente, la OMS recomienda específicamente el uso de *Escherichia coli* como indicador microbiológico, por ser el miembro del grupo más representativo de la contaminación fecal en el agua de consumo (11) a su vez la resolución 2115 de Colombia (5), establece que ninguna muestra de agua para



consumo humano debe contener *E. coli* en 100 cm³ de agua, independientemente del método de análisis utilizado.

Con el fin de evitar dichas enfermedades atribuidas principalmente a la falta de potabilización del agua, se ha demostrado que el tratamiento por métodos como los filtros de cerámica y el almacenamiento seguro han mejorado significativamente la calidad del agua y reducido los riesgos de enfermedades infecciosas transmitidas por el agua (12) en zonas rurales de difícil acceso donde todavía no hay red de distribución. Por lo cual, evaluar la remoción de microorganismos que afectan la salud por medio de este método, contribuye a una alternativa que puede impactar de manera positiva y rápida en la salud donde no hay posibilidades de tener agua potable y las personas dependen de fuentes de agua que podrían estar contaminadas o mal almacenada debido a la manipulación antihigiénica durante el transporte o en la vivienda.

1.3 Formulación del problema

¿Los filtros caseros EKOFIL y EKOFIL PLUS son efectivos para remover *Escherichia coli* cuando están en concentraciones bajas 10¹ y 10² en aguas sintéticas, utilizando filtración por membrana como método microbiológico para comprobar su remoción?



2. JUSTIFICACIÓN EN TÉRMINOS DE NECESIDADES Y PERTINENCIA

Los brotes de enfermedades transmitidas por el agua se han asociado con el tratamiento inadecuado del suministro de agua no potable. Según datos publicados en el análisis de situación de salud Colombia 2010, por el Ministerio de Salud y Protección Social en lo que refiere a condiciones de acceso al acueducto, se encontró que el 46,8% (13) de las viviendas de la zona rural no cuentan con servicio de acueducto y el riesgo para episodios de EDA es 16,1 veces mayor que en la cabecera; este riesgo es también 2,7 veces mayor para zona rural comparado con centro poblado (13,14). El mayor porcentaje de población por número de habitantes sin el servicio de acueducto se encuentra en el grupo comprendido entre 20 mil y 50 mil habitantes, y para esta población el riesgo para EDA es 118 veces mayor comparado con Bogotá (14).

En algunos países con problemas de calidad de agua, las unidades de filtración casera han sido promovidas por instituciones humanitarias, como estrategia para el tratamiento y almacenamiento seguro del agua, principalmente por su bajo costo y facilidad de manejo. Estas opciones, han significado una solución inmediata tanto para situaciones de emergencia o desastre como para la provisión de agua a comunidades rurales alejadas y dispersas que, previsiblemente, no podrán disponer en un futuro mediano de sistemas de abastecimiento y tratamiento de agua (15).

Se ha comprobado, en ensayos de campo, que los dispositivos de filtración cerámicos de vela comerciales sí constituyen una barrera eficaz contra los microorganismos patógenos indicadores presentes en el agua y que en las intervenciones en las que se utilizan estos dispositivos (filtros caseros) se detectan



mejoras significativas en salud de los usuarios de este método de desinfección en comparación con quienes no la utilizan. Los resultados de estudios realizados en Camboya sobre filtros cerámicos de olla de producción local y de bajo costo indican que estas intervenciones también son eficaces. En dos ensayos de campo realizados en zonas rurales de Camboya, en los que se usaron filtros que proporcionaban una reducción media, según los análisis en laboratorio, del 99% de la concentración de *E. coli* en el agua de consumo doméstico, y una reducción media del 90-99% de los virus, se registraron reducciones de la incidencia de diarrea asociadas con el uso de los filtros de aproximadamente el 50% (16). En el caso de Colombia según estudios realizados por la investigadora (Perez, 2014) (17) los resultados mostraron que los sistemas de filtración evaluados lograron reducir la turbiedad a valores promedio 0,28 UNT (99% eficiencia) y eliminar *E. coli* entre 99:9 y 100% por lo que resultan efectivos y confiables.

Por lo mencionado anteriormente este trabajo tendrá como objetivo Evaluar la remoción de *Escherichia coli* en filtros caseros cuando están en concentraciones bajas de 10^1 y 10^2 utilizando filtración de membrana como método microbiológico. Este proyecto permitirá obtener resultados y análisis microbiológicos para la cuantificación de *E. coli* en dos calidades de aguas sintéticas, utilizando para su remoción los filtros caseros fabricados por la empresa REPLACOL en sus modelos EKOFIL Y EKOFIL PLUS, lo que mejora de forma significativa posibilidades de tener un agua apta para el consumo en lugares donde todavía no hay potabilización de este recurso, así como la disminución de enfermedades ocasionadas por esta problemática como EDA y ETAS enfermedades de impacto en Salud Pública.



3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

3.1 Calidad del agua:

El agua es esencial para la vida y todas las personas deben disponer de un suministro satisfactorio, suficiente, inocuo y accesible; al igual que debe cumplir con las características físicas, químicas, microbiológicas y organolépticas establecida en la reglamentación que la hacen apta para el consumo humano (8) por lo tanto, la mejora del acceso al agua potable proporciona beneficios tangibles para la salud.

Los peligros microbiológicos relacionados con el agua de consumo humano son las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, virus protozoos y helmintos patógenos siendo un riesgo común para la salud y asociado con la calidad del agua (18). De este modo los microorganismos patógenos, cuya transmisión por el agua de consumo humano contaminada es conocida, producen enfermedades graves que, en ocasiones, pueden ser mortales; entre ellas está la fiebre tifoidea, el cólera, la hepatitis infecciosa (causada por el virus de la hepatitis A o de la hepatitis E) y la enfermedad causada por *Shigella spp.* y *E. coli* O157. Otros se asocian típicamente a resultados menos graves, como la enfermedad diarreica autolimitada (p. ej., los norovirus, *Cryptosporidium*) (9).

Los organismos patógenos transmitidos por el agua tienen varias propiedades que los distinguen de otros contaminantes del agua de consumo humano:

- Los agentes patógenos pueden causar efectos agudos y también crónicos sobre la salud.



- Algunos agentes patógenos pueden proliferar en el ambiente.
- Los agentes patógenos se encuentran en número discreto en el ambiente.
- Los organismos patógenos a menudo se agregan o se adhieren a los sólidos suspendidos en el agua y sus concentraciones varían con el tiempo, de modo que la probabilidad de ingerir una dosis infecciosa no se puede predecir a partir de su concentración media en el agua.
- La exposición a un agente patógeno que ocasiona una enfermedad depende de la dosis, de la invasión y la virulencia del organismo patógeno, así como del estado inmunológico de la persona.
- Si se establece la infección, los agentes patógenos se multiplican en su huésped.
- Ciertos organismos patógenos del agua también se multiplican en los alimentos, las bebidas o los sistemas de agua caliente, lo que perpetúa o incluso aumenta la probabilidad de infección (19).

3.2 EDA

La enfermedad diarreica aguda es el término adoptado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para referirse a un proceso inflamatorio gastrointestinal infeccioso o no infeccioso, asociado a una disminución en la consistencia y un aumento en la frecuencia (más de tres veces por día) de las deposiciones fecales (20). La diarrea puede ser líquida, semilíquida, y puede contener moco y sangre. Otras manifestaciones clínicas de la EDA son náuseas, vómitos, dolor abdominal, fiebre y deshidratación. Como en algunos pacientes el vómito, la deshidratación, y la fiebre pueden ser las manifestaciones más predominantes, un término apropiado



para describir los órganos afectados y las manifestaciones clínicas de los pacientes afectados sería el de gastroenteritis aguda (10).

3.3 Indicadores microbiológicos del agua

La verificación de la calidad microbiológica del agua por lo general incluye análisis microbiológicos en la mayoría de los casos con indicadores de contaminación fecal como *Escherichia coli* la cual no debe haber presencia en el agua de consumo ya que constituye una prueba concluyente de contaminación fecal reciente, aunque este indicador presenta limitaciones debido a que los virus y protozoos entéricos son más resistentes a condiciones medioambientales o técnicas de tratamiento convencionales; por tanto, la ausencia de *E. coli* no implica necesariamente que no haya presencia de estos organismos (10).

Para proporcionar resultados significativos, las bacterias indicadoras de contaminación fecal deben cumplir determinados criterios como: no ser patógenos, deben estar presentes universalmente, en concentraciones elevadas, en las heces humanas y de otros animales de sangre caliente, ser fácilmente detectables mediante métodos sencillos y no proliferar en aguas naturales. En Colombia la Resolución 2115 del 2007 sugiere la búsqueda como indicadores de la calidad del agua apta para el consumo *E. coli*, *Cryptosporidium*, y *Giardia spp* (5).

3.4 Métodos alternativos de desinfección del agua

Existen varias tecnologías para el tratamiento del agua a nivel domiciliario, las cuales por su facilidad de acceso, la simplicidad de su operación, el grado de aceptación

9



por parte de la comunidad y su eficacia en la reducción del riesgo microbiológico se convierten en alternativas para mejorar la calidad de agua (21). Entre las tecnologías más empleadas para el mejoramiento de la calidad microbiológica del agua para consumo humano se encuentran (17,22,23): ebullición del agua; desinfección solar; radiación ultravioleta [UV]; desinfección solar combinada con radiación UV; cloración y almacenamiento apropiado; y sistemas combinados de coagulación-filtración y cloración.

No todas las tecnologías de tratamiento domiciliario del agua tienen alta eficacia para reducir todos los agentes patógenos transmitidos por el agua (bacterias, virus, protozoos y helmintos). Por ejemplo, el cloro es ineficaz para inactivar ooquistes del protozoo *Cryptosporidium* que se transmite a través del agua, así mismo, algunos métodos de filtración, como los filtros de cerámica, de tela o de fibra, son ineficaces para eliminar virus entéricos. Aunque las técnicas de filtración cada vez se aplican más en países en desarrollo donde la desinfección química o la ebullición en ocasiones no son prácticas o eficaces (16).

3.4.1 Filtros de membrana, de cerámica porosa o compuestos

Son filtros, cuyos poros tienen tamaños definidos e incluyen a los filtros de carbón en bloque, de cerámica porosa que contiene plata coloidal, membranas reactivas, membranas poliméricas y filtros de fibra o tela. El agua pasa a través de una sola o varias superficies porosas estructuradas, cuyos poros remueven y retienen físicamente a los microorganismos por exclusión de tamaño y sólidos en suspensión. Algunos de estos filtros también pueden emplear superficies antimicrobianas o bacteriostáticas o compuestos químicos que hacen que los microorganismos



adsorbidos en las superficies de los filtros se inactiven o al menos que no se multipliquen (24).

3.4.1.1 Filtros caseros EKOFIL y EKOFIL PLUS (REPLACOL)

Son filtros para agua portátil, prácticos, de fácil instalación y sencillo manejo. No requiere electricidad, ni especialistas para operarlos. EKOFIL está elaborado con arcilla porosa tratada con un baño especial de plata coloidal (Figura 1A) y trabaja por la acción de la gravedad generando agua limpia, fresca y libre de bacterias, a partir de fuentes poco confiables; actualmente la empresa cuenta con un nuevo modelo EKOFIL PLUS (Figura 1B) que tiene un valor agregado ya que posee una columna de carbón activado granular para brindar mayor efectividad y seguridad (25).



Figura 1. Modelo de filtros de la empresa Replacol. **A.** Diseño exterior del filtro con vasija de arcilla porosa y baño de plata coloidal. **B.** Diseño interior del filtro con columna de carbón activado (EKOFIL PLUS).



3.5 Protocolos internacionales para ensayos microbiológicos

Hay normas y directrices reconocidas internacionalmente para la realización de ensayos sobre el eficiencia o la eficacia, como la Norma orientativa y protocolo de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (U.S EPA) para la evaluación microbiológica de filtros caseros o el Protocolo P231: Purificadores microbiológicos de agua de NSF International, las cuales proponen la selección y la preparación de microorganismos para pruebas de exposición de aguas que deben contener de forma natural una concentración suficiente de los microorganismos de interés, al igual que los parámetros tales como: las variables de Turbiedad, Sólidos Disueltos Totales (SDT) para tener simular un agua contaminada de forma sintética (16,26)

3.6 *Escherichia coli* y bacterias coliformes termotolerantes

Las bacterias del grupo de los coliformes totales que son capaces de fermentar lactosa a 44-45 °C se conocen como coliformes termotolerantes. En la mayoría de las aguas, el género predominante es *Escherichia*, pero algunos tipos de bacterias de los géneros *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter* también son termotolerantes. *Escherichia coli* se puede distinguir de los demás coliformes termotolerantes por su capacidad para producir indol a partir de triptófano o por la producción de la enzima β -glucuronidasa. Al igual que está presente en concentraciones muy grandes en microflora intestinal normal de las personas y animales, en las aguas residuales y en el agua que ha estado expuesta recientemente a contaminación fecal (27). Cabe resaltar que en la microflora intestinal *E. coli* es inocua; sin embargo, en otras partes del cuerpo puede causar



enfermedades graves, como infecciones de las vías urinarias, bacteriemia y meningitis en personas con una enfermedad de base. Un número reducido de cepas enteropatógenas pueden causar diarrea aguda. Se han determinado varios tipos de *E. coli* enteropatógenas, basándose en diferentes factores de virulencia: *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enterotoxígena (ECET), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEA) y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD). Se cuenta con más información sobre los primeros cuatro tipos mencionados, pero se conocen peor la patogenicidad y la prevalencia de cepas de ECEA y ECAD (27).

No hay ningún indicio de que la respuesta de las cepas enteropatógenas de *E. coli* a los procedimientos de tratamiento y desinfección del agua sea diferente de la de otras cepas de *E. coli*. Por lo tanto, los análisis convencionales de *E. coli* (o bien de bacterias coliformes termotolerantes) son un índice adecuado de la presencia de serotipos enteropatógenos en el agua de consumo. Esto es cierto, a pesar de que los análisis normales generalmente no detectan las cepas de ECEH (28).

3.7 Métodos microbiológicos para cuantificar bacterias indicadoras

El análisis de las bacterias indicadoras de contaminación fecal proporciona una información confiable, aunque no la más rápida, de la contaminación del agua de consumo. Dado que el medio de cultivo y las condiciones de incubación, así como la naturaleza y antigüedad de la muestra de agua, pueden influir en la especie aislada y en el recuento; la exactitud de los análisis microbiológicos puede ser variable. Por consiguiente, es muy importante normalizar y verificar los métodos y los procedimientos de laboratorio para poder aplicar criterios de calidad



microbiológica del agua uniformes, entre laboratorios diferentes y a nivel internacional.

Existe una gran diversidad de técnicas y métodos para el recuento de *E. coli* en muestras de agua como los métodos normalizados para el examen de aguas y aguas residuales publicados en Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (29) y los métodos de la EPA de los Estados Unidos y la Organización Internacional de Normalización ISO, 2000, entre otros. En los métodos 1603 y 1604 de la EPA y el método normalizado 9222 (12) se describen técnicas básicas de filtración de membrana para el recuento de *E. coli* en muestras de agua. Dichos métodos son los recomendados para la cuantificación de *E. coli* en muestras inoculadas de agua tratada y no tratada.

En la actualidad en Colombia la calidad del agua se basa en la resolución 2115 del 2007 en la cual el parámetro microbiológico definen que tanto para coliformes totales y *E. coli* deben haber 0 UFC/ 100 cm³, usando el método filtración por membrana (5). Sin embargo, se debe tener en cuenta que países industrializados o desarrollados como Canadá, Estados Unidos y algunos países europeos hacen un buen monitoreo microbiológico de la calidad del agua mediante métodos moleculares como DVC-FISH; los cuales según estudios de Baudart y colaboradores (30,31), permiten evidenciar la presencia de bacterias viables no cultivables en comparación con recuento en placa que presentan recuentos muy bajos. Esta condición se presenta en las poblaciones bacterianas que en el ambiente están expuestas a estrés por limitaciones cambio en disponibilidad de nutrientes, temperatura, salinidad, iluminación solar, y saturación de O₂, de esta manera las bacterias sufren afecciones celulares generadas por estrés, que causan



daño a nivel de actividad metabólica, tamaño celular, permeabilidad de las membranas, contenido de DNA y proteína (30). Por estas razones, las bacterias pierden la habilidad para multiplicarse y entran en estado “viable no cultivable“, lo que con lleva a que desarrollen resistencia al estrés ambiental (30,32); por lo tanto esto a la vez hace que se vuelvan indetectables por los métodos convencionales usados para la evaluación de la calidad del agua, como es el recuento en placa (30,31).

3.8 Filtración por membrana

Esta técnica consiste en hacer pasar la muestra de agua por un filtro poroso, en este filtro se lleva posteriormente a una caja con medio de cultivo, diferencial o selectivo, en el cual crecen colonias de microorganismos (29). A su vez es reproducible, debido a que puede utilizarse para estudiar diferentes volúmenes. Además esta técnica es útil para controlar situaciones de evidencia en control de calidad de agua en distintos tipos de agua, sin embargo, las limitaciones que tiene son el estudiar aguas con elevada turbidez o que contengan bacterias no coliforme (33).



4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General:

Evaluar la remoción de *Escherichia coli* a partir de dos calidades de aguas sintéticas de filtros caseros EKOFIL y EKOFIL PLUS.

4.2 Objetivos Específicos:

- Describir la remoción de *E. coli* en dos calidades de aguas sintéticas con concentraciones de 10^2 y 10^3 en los filtros caseros EKOFIL Y EKOFIL PLUS mediante la técnica de filtración por membrana.
- Comparar la remoción de dos modelos de filtros caseros EKOFIL Y EKOFIL PLUS en las dos diferentes calidades de aguas sintéticas.



5. HIPOTESIS DEL PROBLEMA

Hipótesis nula: Los dos modelos de filtros caseros EKOFIL Y EKOFIL PLUS presentan una alta remoción de *Escherichia coli* cuando están en concentraciones bajas 10^2 y 10^3 en aguas sintéticas, usando filtración por membrana como método microbiológico.



6. METODOLOGÍA

6.1 UBICACIÓN DEL PROYECTO

Esta investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Santiago de Cali, y Laboratorios de Salud Pública Departamental, con la ayuda de la empresa vallecaucana REPLACOL la cual proporciona los filtros EKOFIL Y EKOFIL PLUS; dicha investigación fue financiada por la Universidad Santiago de Cali con el proyecto EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE *E. coli* Y *Salmonella sp* EN DOS MODELOS DE FILTROS CASEROS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO, con código DGI-COCEIN # 711-621116-D30 y liderado por los grupos de Investigación GIEIAM adscrito a la Facultad de Ingeniería y el Grupo GIMIA, adscrito a la Facultad de Ciencias Básicas

Este estudio se desarrolló en tres fases, presentadas en la Figura 2.

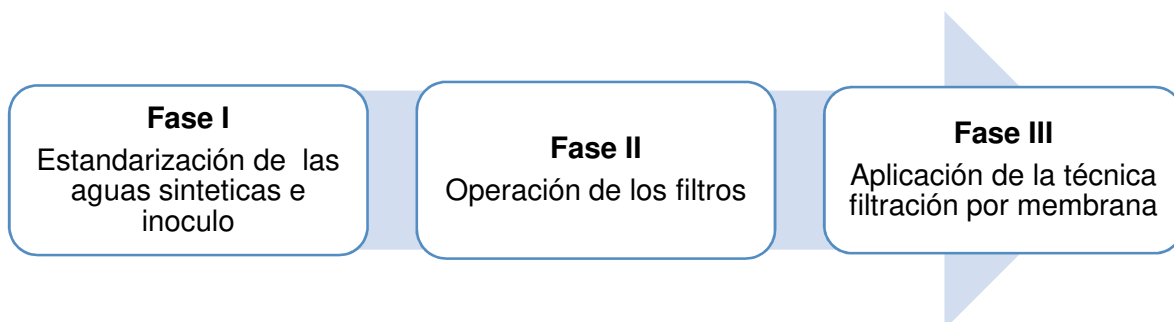


Figura 2. Descripción de las fases de la investigación.



6.2 Fase I

6.2.1 Estandarización de la concentración de *E. coli* 10^2 y 10^3 UFC/mL

6.2.1.1 Preparación de la escala de McFarland

Para la escala de McFarland se preparó inicialmente 100 mL de BaCl_2 al 1% (0,048M) como de H_2SO_4 al 1% (0,36N) y luego se realizaron en tubos las escalas de la 0,5 a la 10 según las especificaciones de la Tabla 1.

Tabla 1. Preparación de la escala de McFarland

Escala McFarland	BaCl_2 al 1% (mL)	H_2SO_4 al 1% (mL)	UFC/mL ($\times 10^3$)
0,5	0,05	9,95	1,5
1	0,1	9,9	3
2	0,2	9,8	6
3	0,3	9,7	9
4	0,4	9,6	12
5	0,5	9,5	15
6	0,6	9,4	18
7	0,7	9,3	21
8	0,8	9,2	24
9	0,9	9,1	27
10	1,0	9,0	30

A cada una de las escalas se le tomo la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro visible GENESYS™ 20 - Thermo Scientific, para obtener una



curva de calibración con la ecuación de la recta ($Y = mx + b$) la cual permitió calcular la concentración inicial para inocular los filtros (Figura 3.).

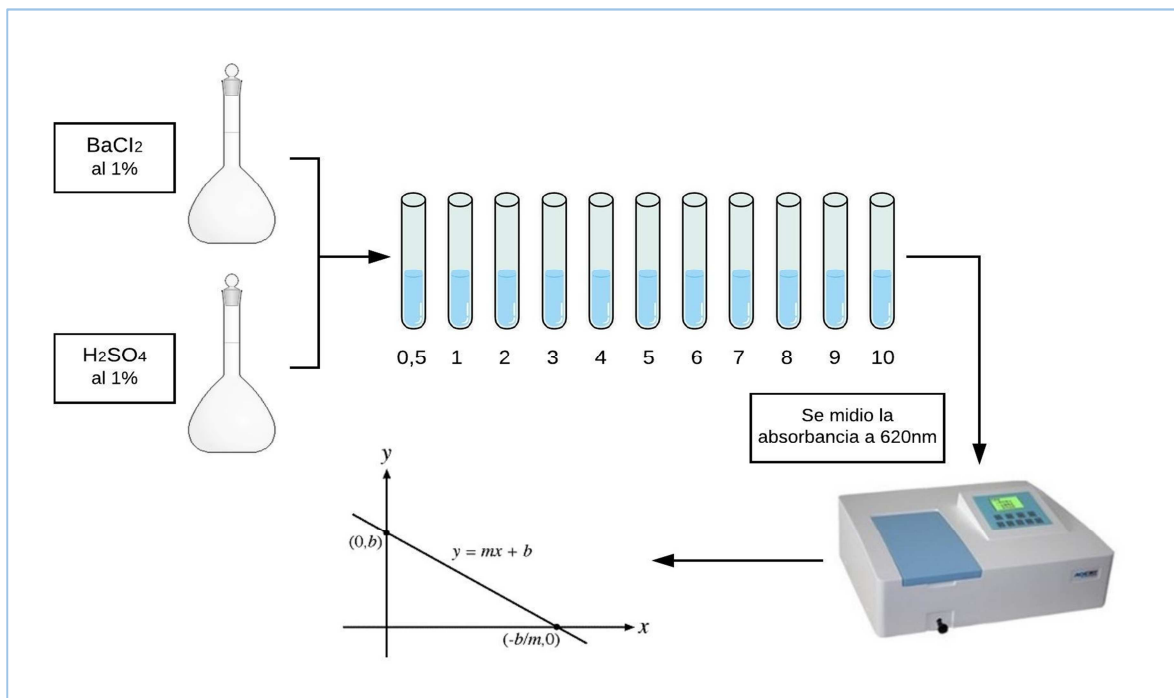


Figura 3. Preparación de la escala de MacFarland para obtener la curva de calibración.

6.2.1.2 Lavado celular

El lavado celular se realizó según los protocolos publicados por Rivera S., Sanabria J, Florez L. (2011) (34); representados en la Figura 4. Ver procedimiento en el Anexo 1.

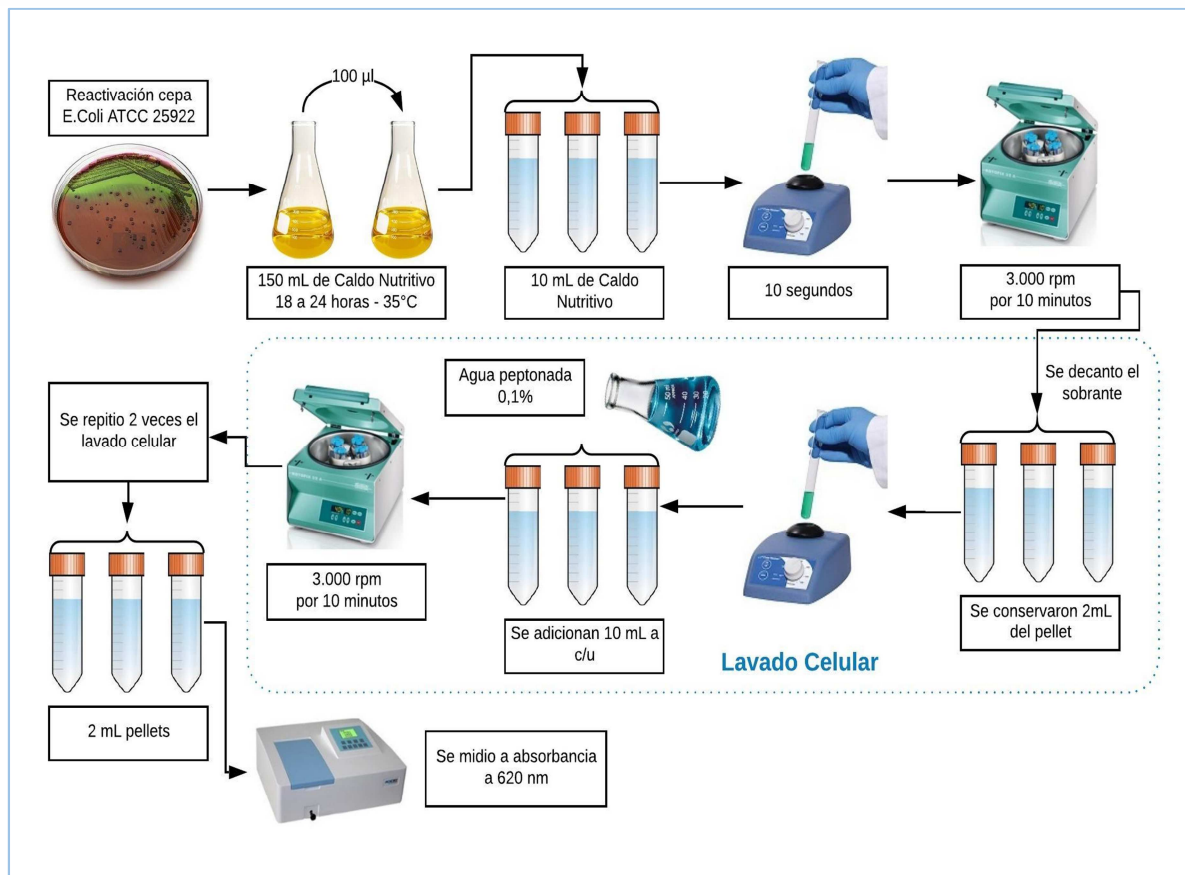


Figura 4. Reactivación y lavado celular de *E. coli* ATCC 25922.

6.3 Fase II

6.3.1 Operación de los filtros

Los filtros se sometieron a un mes de descaste antes de iniciar con los respectivos ensayos. La preparación del agua sintética se realizó según las recomendaciones del protocolo del EPA (26) y las recomendaciones de algunos autores con el fin de ajustar las variables de turbiedad, Sólidos Disueltos Totales (SDT). En un recipiente



de 100 L que contenía esta cantidad de agua potable del laboratorio de Biotecnología de la Universidad Santiago de Cali y se le adicionó concentraciones de Tiosulfato, Caolín y Cloruro de Sodio (NaCl), y *E. coli* ATCC 25922 a 10^2 y 10^3 UFC/mL (Tabla 2.). Después de la preparación del agua sintética, se alimentaron los dos modelos de de filtros (EKOFIL y EKOFIL PLUS) seis de cada modelo, los primeros recubiertos con plata coloidal y EKOFIL PLUS además de tener plata coloidal están reforzados con un cartucho de carbón activado, para un total de 12 filtros; los cuales fueron alimentados semanalmente con 7.5 L del agua sintética preparada, (Figura 5.) durante cinco semanas.

En la siguiente tabla se pueden evidenciar las cantidades exactas añadidas para realizar el agua sintética.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del agua sintética según EPA

VARIABLE	VALOR	DESCRIPCIÓN
Turbiedad	30 UNT	Se adiciono 0,2 g/Lb de Caolín
Solidos Disueltos Totales	1500 mg/L	Se adiciono 1,6 g/Lb NaCl comercial
<i>E.coli</i>	1×10^2 UFC/mL 1×10^3 UFC/mL	Cepa ATCC 25922 liofilizada marca Microbiologics®
Otros	N/A	Tiosulfato de Sodio para inactivar el Cloro

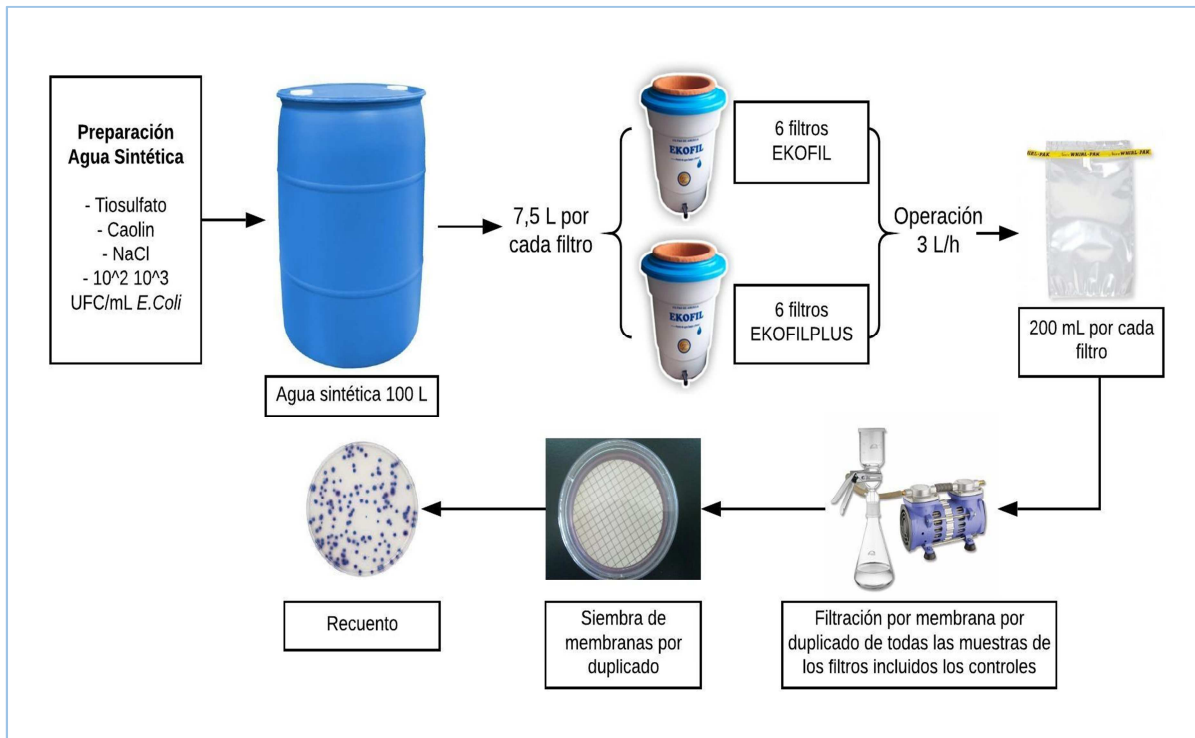


Figura 5. Operación de los filtros.

6.4 Fase III

Luego de obtener agua filtrada se recolectaron 200 mL de cada filtro, y con ellos se realizó por duplicado el método filtración por membrana descrita en los protocolos del IDEAM (35) e INVIMA, de acuerdo a la metodología detallada en el Anexo 2; posteriormente el recuento en placa de coliformes fecales (Figura 6.).



Figura 6. Realización de filtración por membrana.

6.5 Análisis Experimental

- **Tipo de estudio:** Diseño experimental con estructura factorial con tres niveles: Calidad de agua sintética (10^2 y 10^3 UFC/mL), el microorganismo que ha sido removido (*E. coli*) y el modelo del filtro (EKOFIL y EKOFIL PLUS).
- **Tamaño de muestra:** Se alimentaron doce filtros, de los cuales seis corresponden al modelo EKOFIL y seis al modelo EKOFIL PLUS cada uno con 7.5 L de agua sintética y concentraciones de *E. coli* ATCC 25922 de 10^2 y 10^3 , al igual que cuatro controles del experimento; dos positivos (agua sintética inicial y concho (agua sin filtrar que queda después de alimentar los filtros) y dos negativos (agua sintética con tiosulfato y agua de la llave), con un total de 10 repeticiones durante 5 semanas.



- **Recolección y administración de datos:** La información se recolectó en una bitácora, donde se registraron cada una de las acciones que se realizaron en el experimento, y luego se pasaron los resultados en hoja de cálculo de Microsoft Excel versión 2010.

6.6 Método de análisis estadístico

Se utilizaron diseños experimentales con herramientas de estadística descriptiva como la mediana siendo utilizada como medida de tendencia central, rangos intercuartílicos (RIC) como medidas de dispersión; por otro lado se utilizó diagrama de cajas y alambres como grafico para observar las diferencias entre las medianas, la cual se obtuvo con un análisis de varianza (ANOVA) no paramétrica, se empleó el software libre "R", con un nivel de significancia 0.05 para las comparaciones realizadas.



7. RESULTADOS

7.1 Fase I.

Después de la preparación de la escala de MacFarland se procedió a tomar la absorbancia a una longitud de onda de 620 nm a cada una de los estándares obteniendo como resultado lo plasmado en la Tabla 3.

Tabla 3. Absorbancias de cada estándar de McFarland

Estándar McFarland	ABSORBANCIA
0	0
0,5	0,133
1	0,204
2	0,293
3	0,433
4	0,577
5	0,614
6	0,885
7	1,016
8	1,053
9	1,260
10	1,346

Con los datos obtenidos anteriormente se realizó una curva de calibración (Grafico 1.), con una representación lineal y presenta un coeficiente de correlación (R^2) igual a 0,9914 lo que determina que hay una relación directa entre los datos de cada eje

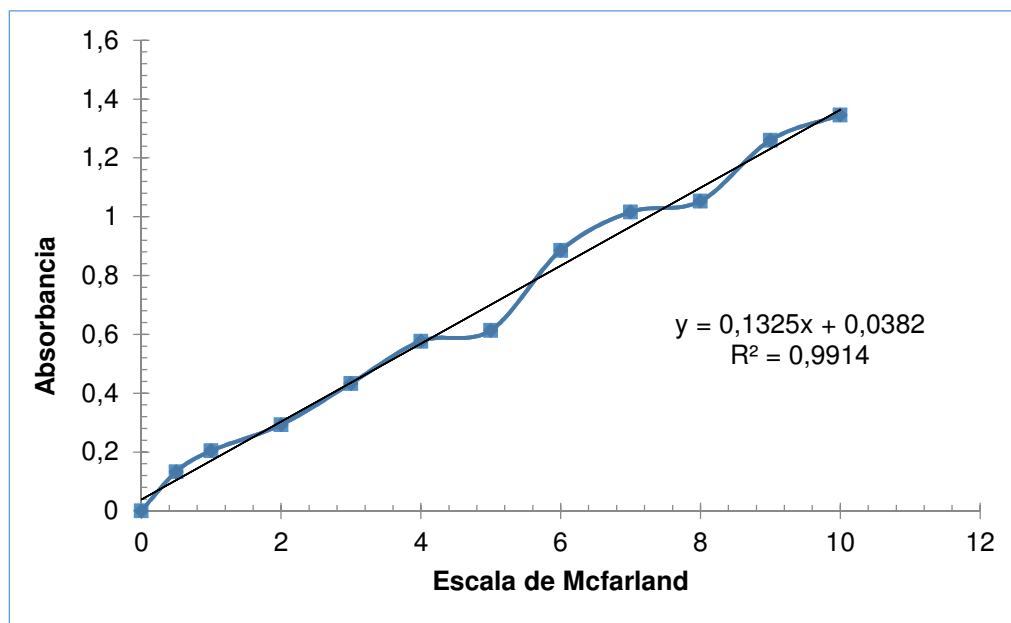


(absorbancia y estándar de MacFarland), siendo un método lineal por su valor $R^2 > 0,99$. Por otro lado la curva de calibración está definida por la ecuación de la forma

$$y = mx + b \quad (1)$$

donde, (b) es la ordenada al origen y (m) es la pendiente, esta ecuación nos permitió conocer la concentración en la cual se encuentra la bacteria y por consiguiente el volumen necesario para inocular el agua sintética con las dos concentraciones correspondientes (10^2 y 10^3).

Gráfico 1. Curva de calibración de la escala de McFarland



En la (Tabla 4.) se encuentran los datos correspondientes para determinar la concentración de *E. coli* basados en su absorbancia y en la ecuación de la recta.



Tabla 4. Datos para determinar la concentración de *E. coli*.

Ecuación de La recta	Y = 0,1325x + 0,0382
Pendiente (m)	0,1325
Ordenada al origen (b)	0.0382
Absorbancia de <i>E.coli</i> (Y)	1.845
Concentración de <i>E.coli</i>	X

Al despejar la Ec.1 se obtuvo la siguiente concentración de *E. coli* (X):

$$X = \frac{1.845 - 0,0382}{0.1325} = 13.64$$

El valor de X=13.64 es equivalente en la escala de McFarland a 40×10^8 UFC/mL. Para determinar cuál es el volumen inicial a inocular en el recipiente de 100 L se utilizó los datos de la Tabla 5.

Tabla 5. Datos para determinar el inoculo inicial para el agua sintética.

Ecuación	C1 x V1 = C2 x V2 (2)
Concentración inicial (C1)	40×10^8 UFC/mL
Volumen inicial (V1)	V1
Concentración final (C2)	10^2 y 10^3 UFC/mL
Volumen final (V2)	100 L de agua

Al despejar la Ec.2 se obtuvo el volumen inicial (V1) del inoculo para una concentración de 10^2 UFC/100 L:



$$V1 = \frac{10^2 \text{ UFC/mL} \times 100\text{-L}}{40 \times 10^8 \text{ UFC/mL}} \times \frac{10^6 \mu\text{l}}{1\text{-L}} = 2,5 \mu\text{l}$$

Para la concentración de 10^3 UFC/mL el volumen inicial es:

$$V1 = \frac{10^3 \text{ UFC/mL} \times 100\text{-L}}{40 \times 10^8 \text{ UFC/mL}} \times \frac{10^6 \mu\text{l}}{1\text{-L}} = 25 \mu\text{l}$$

Para estandarizar el inóculo del agua sintética a una concentración de 10^2 UFC/mL y de 10^3 UFC/mL en 100 L de agua, se necesitaron 2,5 y 25 μL de la bacteria respectivamente UFC/mL.

7.2 Fase II.

Se realizó la preparación del agua sintética basado en los parámetros determinados en la Tabla 2. Los cuales se ajustaron para el volumen final de 100 L obteniendo así las concentraciones específicas representadas en la Tabla 6.

Tabla 6. Concentración final de cada variable para 100 L de agua sintética.

VARIABLE	CONCENTRACIÓN FINAL
Turbiedad	12 gramos
Solidos Disueltos Totales (SDT)	10 gramos
<i>E. coli</i>	2,5 y 25 μL
Otro	67.37 mL



Los componentes se adicionaron en el siguiente orden: primero el tiosulfato de sodio para eliminar el cloro presente en el agua, luego el caolín para ajustar la variable de turbiedad, seguido de NaCl el cual evita la lisis temprana de la células y por último la concentración bacteriana de *E. coli* en concentración de 10^2 y 10^3 UFC/mL. Para los cuatro controles primero se tomó de agua de las llaves, otro solo con la adición de tiosulfato, luego agua con todos los componentes antes que pase por el filtro (agua sintética inicial) y agua que queda en el tanque después de haber alimentado cada filtro (concho).

Cada tipo de filtro (EKOFIL Y EKOFIL PLUS) tiene una tasa de filtración (1, 2 y 3h/L) la cual se tenia por duplicado, y se alimentaron con 7.5 L del agua sintetica preparada (Figura 6.).



Figura 7. Filtros de olla de cerámica EKOFIL Y EKOFIL PLUS.



7.3 Fase III.

Luego de tener agua filtrada en los doce sistemas de filtración, se recolectaron 200 mL de agua de cada filtro y se realizó por duplicado el método de filtración por membrana pasando 100 mL de cada filtro, al igual que los controles y la membrana del equipo de filtración se coloca en un medio Chromocult agar se dejó incubar por 24 horas a 35 °C se reportó el recuento para las colonias que presentaron un color azul violeta.

Con el control positivo donde se tomo agua sintética inicial (agua con tiosulfato más concentración bacteriana sin haber pasado por el filtro) se logró determinar la concentración inicial bacteriana de *E. coli*, expresada en unidades logarítmicas siendo 2,2 Log para 10^2 UFC/mL y de 3,1 Log para la concentración de 10^3 UFC/mL (Tabla 7.) lo cual es equivalente de 2 y 3 unidades logarítmicas.

Tabla 7. Concentración del control positivo de agua sintética inicial

AGUA SINTETICA INICIAL

CONCENTRACIÓN (UFC/mL)	MEDIANA	(LOG(10) UFC/mL)
10^2	160	2,2
10^3	1.195	3,1

En el caso del segundo control positivo el cual era agua con tiosulfato más concentración bacteriana siendo la última parte que queda en el tanque después de



haber alimentado cada filtro; se obtuvo una concentración de 2,4 Log y 3,0 Log para 10^2 y 10^3 UFC/mL respectivamente (Tabla 8.), lo que corresponde a la misma concentración del agua sintética inicial.

Tabla 8. Concentración del control positivo de agua sintética final

AGUA SINTETICA FINAL

CONCENTRACIÓN (UFC/mL)	(LOG(10) UFC/mL)
10^2	2,4
10^3	3,0

Se determinó la concentración removida bacteriana para los doce tipos de filtro también en unidades logarítmicas y divididas para 10^2 y 10^3 UFC/mL en la Tabla 9. Se puede observar que todos los filtros presentaron una remoción frente a *E. coli*, en el caso del modelo EKOFIL el que presentó mayor remoción fue el que tenía una tasa de filtración de 1 h/L, lo cual se aproxima una buena remoción teniendo en cuenta la concentración final (agua sin pasar por el filtro), en el modelo EKOFIL PLUS el filtro con tasa de filtración de 2 h/L fue el que presento una mejor remoción.



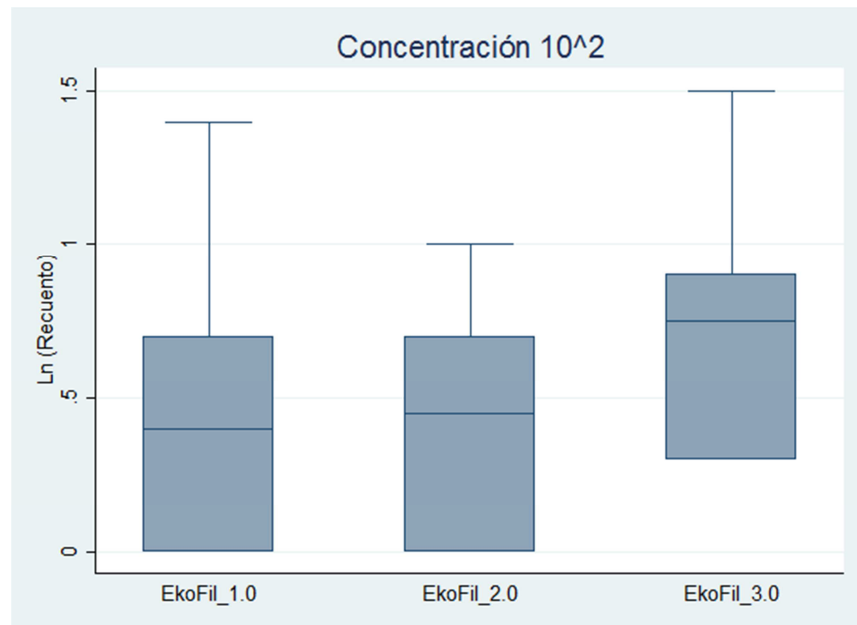
Tabla 9. Remoción bacteriana de *E. coli* en la calidad de agua de 10^2 UFC/mL.

10^2 <i>E.coli</i> (LOG(10) UFC/mL)			
Filtro	Mínimo-Máximo	Mediana (RIC)	Remoción Bacteriana
EKOFIL 1.0	0-1,4	0,4(0-0,7)	2,0
EKOFIL 2.0	0-1,0	0,5(0-0,7)	1,9
EKOFIL 3.0	0,3-1,5	0,7(0,3-0,9)	1,7
EKOFIL PLUS 1.0	0-1,3	0,6(0-0,9)	1,8
EKOFIL PLUS 2.0	0-1,1	0,2(0-0,7)	2,2
EKOFIL PLUS 3.0	0-1,0	0,5(0,3-0,8)	1,9

La representación gráfica en cuanto al sistema EKOFIL el cual posee baño de plata coloidal se muestra en la Gráfica 2 para la concentración de 10^2 , lo cual encontramos que en el EKOFIL 1.0 y 2.0 hubo una mejor remoción, ya que en EKOFIL 1.0 removió el 25 % y el 75% no removió, lo que muestra por encima de 1 log, y el mismo porcentaje para EKOFIL 2.0; por otro lado EKOFIL 3.0 no presentó remoción y se observa una dispersión de los datos.



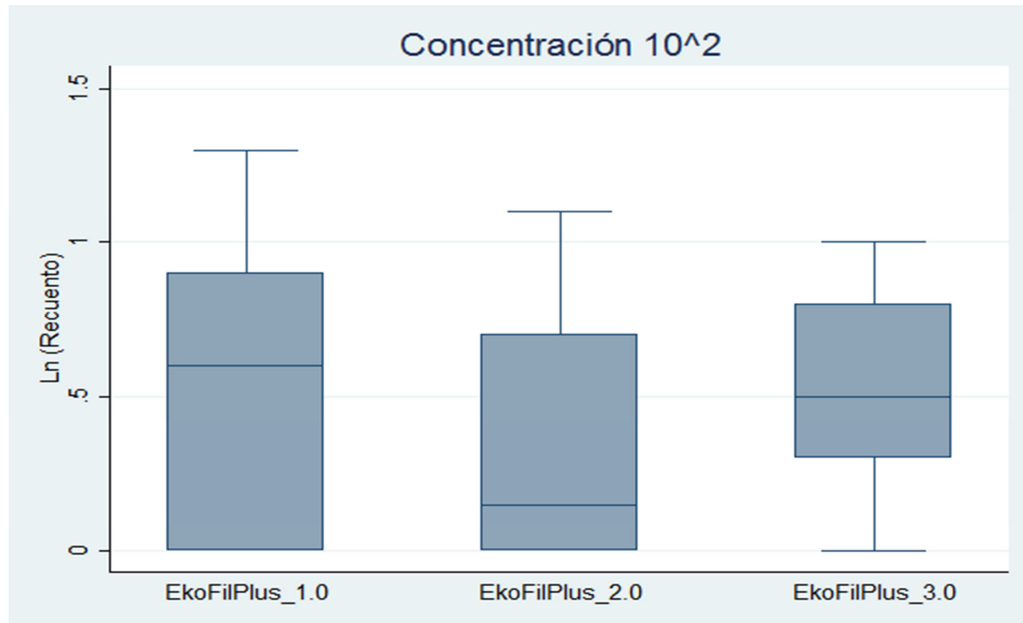
Gráfico 2. Recuentos de *E.coli* a la concentración de 10^2 UFC/mL en los filtros EKOFIL.



En cuanto al sistema EKOFIL PLUS el cual contiene una columna de carbón activado granular, se observó en la Gráfica 3. Entre más cercano al cero es remoción, se tiene en cuenta el cuartil 1 esta 0 ósea el 25% de los datos se encuentra en remoción, también se encuentra dispersión de los datos.



Gráfico 3. Recuentos de *E.coli* a la concentración de 10^2 UFC/mL en los filtros EKOFIL PLUS.



Por otro lado para la calidad de agua sintética con la concentración de 10^3 UFC/mL, se obtuvo como resultados la remoción de *E.coli* mayor para el filtro EKOFIL Y EKOFIL PLUS los con la tasa de filtración de 1h/L con respecto a las concentraciones iniciales (Tabla 10.) a diferencia del filtro EKOFIL PLUS 3.0 el cual presento una menor remoción, y particularmente este mismo filtro se evidencio la formación de biopelículas (Figura 8.) las cuales se observaron en el momento del lavado del recipiente.



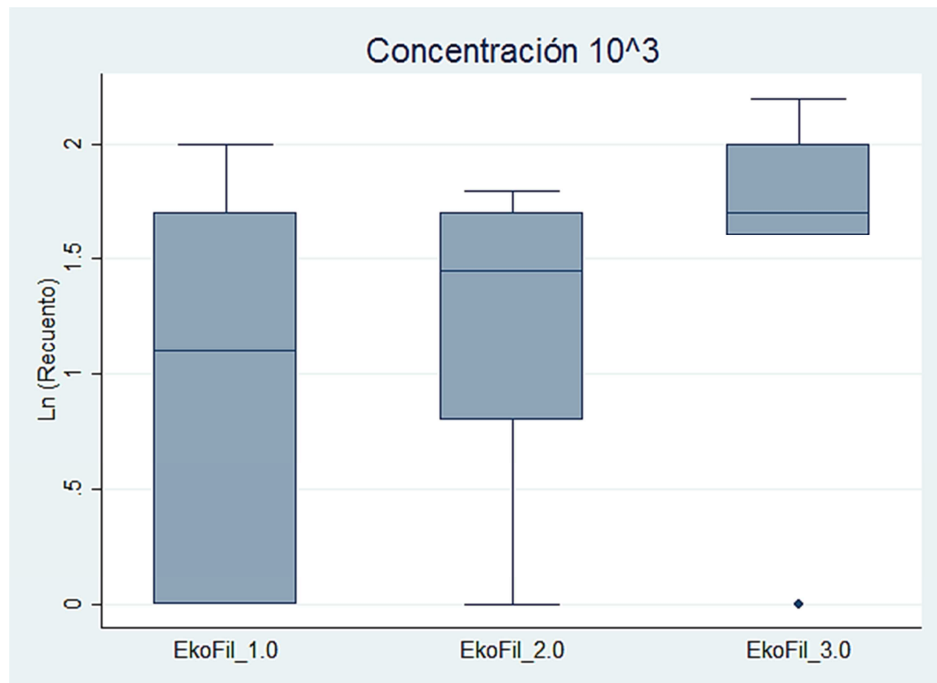
Tabla 10. Remoción bacteriana de *E.coli* en la calidad de agua de 10^3 UFC/mL.

10^3 <i>E.coli</i> (LOG(10) UFC/mL)			
Filtro	Mínimo-Máximo	Mediana (RIC)	Remoción Bacteriana
EKOFIL 1.0	0-2,0	1,1(0-1,7)	1,9
EKOFIL 2.0	0-1,8	1,5(0,8-1,7)	1,5
EKOFIL 3.0	0-2,2	1,7(1,6-1,0)	1,3
EKOFIL PLUS 1.0	0-2,2	0(0-1,1)	3,0
EKOFIL PLUS 2.0	0-1,8	1,3(0,8-1,6)	1,7
EKOFIL PLUS 3.0	0-2,2	1,6(0,8-1,8)	1,4

En el filtro EKOFIL 3.0 se encuentra muy alejado a la media lo que quiere decir que no presento remoción, además presenta un dato atípico; sin embargo, en EKOFIL 1.0 presentó una mayor remoción en comparación a los otros, se encuentra 75% no removió y el 25 % removió; en EKOFIL 2.0 se observa una dispersión de los datos y muy poco remoción (Gráfica 4).



Gráfico 4. Recuentos de *E.coli* a la concentración de 10^3 UFC/mL en los filtros EKOFIL.



El filtro EKOFIL PLUS 1.0 logró una remoción de *E.coli* en un 75% y un 25% no removió, a diferencia de los otros filtros que no presentaron remoción (Gráfica 5)



Gráfico 5. Recuentos de *E. coli* a la concentración de 10^3 UFC/mL en los filtros EKOFILPLUS.

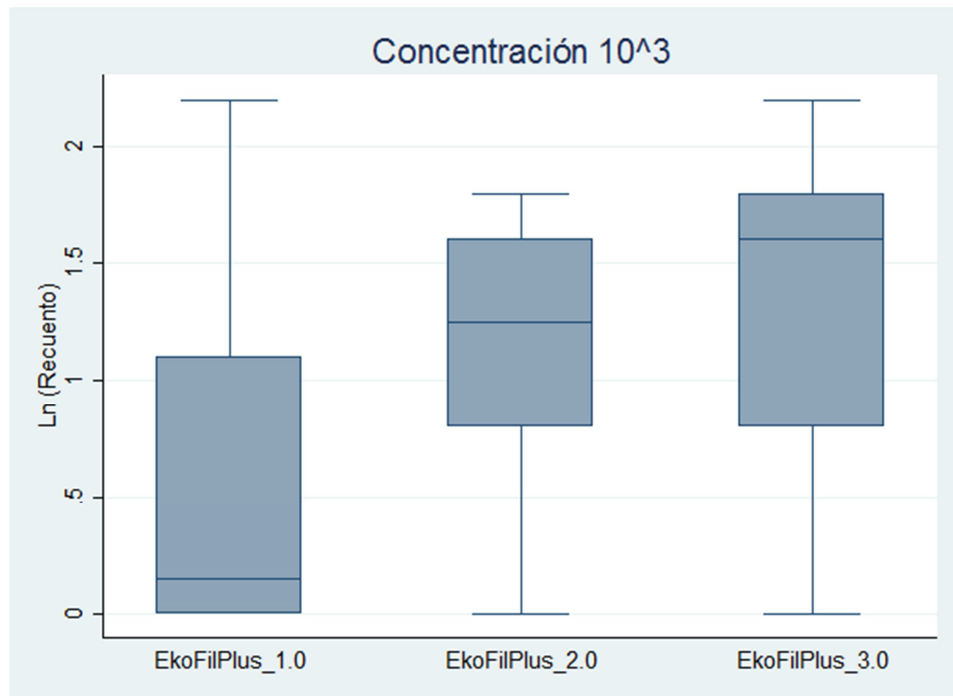


Figura 8. Biopelícula en EKOFIL PLUS 3.0



En el análisis estadístico donde se compararon los dos modelos o sistemas de filtro para, las dos calidades de aguas sintéticas 10^2 y 10^3 UFC/mL, se obtuvo que no hay diferencias significativas entre las medianas en cuanto a las tasas de filtración (1 h/L, 2 h/L, y 3 h/L), debido a que presentan valores $P > 0,05$ (Tabla 11.), por lo tanto se acepta la hipótesis nula “Los dos modelos de filtros caseros EKOFIL Y EKOFIL PLUS presentan una alta remoción de *Escherichia coli* cuando están en concentraciones bajas 10^2 y 10^3 en aguas sintéticas, usando filtración por membrana como método microbiológico”.

Tabla 11. Comparación de los modelos de filtración según ANOVA para la concentración de 10^2 y 10^3 UFC/mL

Concentración de 10^2	
Filtro	Probabilidad
EKOFIL	0.1883
EKOFIL PLUS	0.5332

Concentración de 10^3	
EKOFIL	0.1850
EKOFIL PLUS	0.1706



8. DISCUSIÓN

8.1 Fase I: Estandarización de las aguas sintéticas e inóculo

Se han desarrollado y consensado varios protocolos normalizados para la comprobación en laboratorio de técnicas para reducir la carga microbiana del agua. Existen normas y directrices reconocidas internacionalmente para la realización de este tipo de ensayos, como, el protocolo EPA que establece los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para simular un agua contaminada (26), el cual fue utilizado como base para la elaboración del agua sintética. (36). Estudios realizados por Rivera S., Sanabria J, Florez L. (2011) (30) establecen un protocolo de lavado celular con el fin de llevar a *E. coli* a una fase estacionaria y purificarla, debido a que en esta fase el número de células no varía. Estos protocolos, cuyo alcance está limitado a la eficiencia microbiológica, proporcionan una orientación general y recomendaciones para la realización de ensayos científicamente creíbles.

La realización de pruebas de determinación de la eficiencia microbiológica de las técnicas de tratamiento del agua y los consiguientes requisitos de calidad del agua se ha basado históricamente en la reducción de la concentración de bacterias del grupo de las coliformes. Actualmente, la OMS recomienda específicamente el uso de *E. coli*, por ser el miembro del grupo más representativo de la contaminación fecal en el agua de consumo (16). Por lo tanto, los indicadores microbiológicos son utilizados como alternativa para determinar la potabilidad del agua, los más usados son las bacterias coliformes ya que se presentan en grandes cantidades, lo que las hace más fáciles de detectar en una muestra de agua (28). El género *E. coli* en Colombia, según el Decreto 1575 de 2007 del Ministerio de Protección Social, es un bioindicador obligatorio en el Sistema para la Protección y Control de la Calidad



del Agua para Consumo Humano (5); así mismo los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento similar a los patógenos en cuanto a concentración en las aguas y reacción frente a factores ambientales, pero son más fáciles, rápidos y económicos de identificar (37), dichas características cumplidas por *E. coli*.

Con el fin de conocer la concentración en la que se encuentra el microorganismo y así controlar este parametro, se realiza el metodo de turbidimetria, el cual en el campo de la microbiologia permite el seguimiento del crecimiento microbiano de una manera rápida, a bajo costo y no destructiva (38). Entre los métodos turbidimétricos se encuentran los patrones de turbidez McFarland, empleados para estimar el número aproximado de bacterias en una suspensión líquida, con base en una comparación visual de turbiedad (39). Es así que manteniendo entornos controlados en laboratorio es posible predecir el comportamiento de los microorganismos mediante la generación de modelos matemáticos que permitan interpolar las respuestas microbianas (40).

Por consiguiente la ecuación de la recta obtenida con la curva de calibración de los diferentes estándares fue posible calcular la concentración del microorganismo en después del lavado celular lo cual tenía concentración desconocida. Para ello se requiere efectuar la medida de la señal correspondiente (absorbancia) y despejar el valor de la concentración en la ecuación de la recta.

Por otra parte, la cantidad de 7,5 L de agua sintética con la cual se alimentaron los filtros fue escogida según la OMS debido a que es la cantidad necesaria de agua que una persona necesita para el consumo diario, sin embargo en total las personas deberían contar con al menos 20 L de agua segura por día para satisfacer sus necesidades básicas de consumo e higiene personal (41).



8.2 Fase II: Operación de los filtros

Los filtros utilizados en este estudio trabajan por la acción de gravedad por lo tanto no requiere de electricidad, ni de especialistas para operarlo, ni mucho menos recargas con sustancias especiales, lo cual logra ser una alternativa para mejorar la calidad del agua. Estos están elaborados con arcilla porosa y carbón activado a base de cascarilla de coco en el caso de EKOFIL PLUS, ambos tratados con un baño especial de plata coloidal.

El proceso de purificación y potabilización del agua en estos filtros comprende básicamente tres etapas:

- Microfiltración para la retención de elementos y organismos patógenos contaminantes.
- Eliminación de microorganismos dañinos por la acción germicida de la plata coloidal impregnada tanto en la cerámica filtrante como en el carbón activado.
- Filtración en una columna de carbón activado para la eliminación y remoción total de microorganismos y elementos tóxicos de tamaños nanométricos (millonésimas de milímetro) que contaminan el agua para consumo humano (42).

La plata coloidal presente en los dos modelos de filtración actúa alterando la función mesozonal de la célula. La mesozona es una parte de la barrera de la célula que es responsable de su respiración; aunque no sabemos específicamente la concentración de plata coloidal en el filtro al momento de su elaboración, se

42



conoce que es necesaria una concentración de 0,50 µg/mL para la inhibición y 2.02 µg/mL para la inactivación en el caso puntual de *E. coli* (43).

Los filtros de EKOFIL PLUS lograron en general una mejor remoción del microorganismo y esto puede ser atribuido a la presencia de la columna con carbón activado.

El carbón activado tiene muchas propiedades las cuales provee mejoras simultáneas a la calidad del agua, actúa como agente reductor, atrapa en sus paredes los contaminantes orgánicos, tales como el cloro, ozono y peróxido de hidrógeno a través de reacciones químicas (44). Aunque las propiedades finales dependen de la materia prima que se utiliza para su elaboración, por ejemplo, el carbón activado a partir de cáscara de coco presenta una mayor densidad y una distribución de tamaño más estrecha, el mismo que le genera la capacidad de adsorción de moléculas pequeñas como adsorción de gases (45). Asimismo, el carbón activado por si solo proporciona una multitud de sitios reactivos en sus poros y superficie para la unión de compuestos disueltos, en los cuales no solo se unen los compuestos orgánicos disueltos no problemáticos, sino que también contaminantes peligrosos; por lo tanto estos pueden ocupar lugares en las superficies de carbón y con ello excluir los contaminantes de interés que se desea eliminar. Sin embargo, este problema es mitigado utilizando el carbón activado acompañado en otros procesos unitarios como los filtros de arena o de cerámica que actúan como tratamiento anterior antes que los compuestos problemáticos disueltos se encuentre con el carbón (46).

Un factor importante a tener en cuenta en este estudio fue su duración; ya que se realizó durante un período de cinco semanas, donde la vida útil recomendada de los filtros es típicamente entre uno y dos años. Esto significa que las implicaciones



de los resultados de este estudio pueden, de hecho, no ser aplicables a los filtros de cerámica que se usan en los hogares durante largos períodos de tiempo. Sin embargo, Lantagne et al. (2001) (43) realizó un estudio de cinco semanas y media durante el cual llenó los filtros en un intento de simular el uso normal y como resultados demostraron que la efectividad de eliminación de bacterias de los filtros fluctuaba con el tiempo, pero no había una tendencia general a la baja. Van Halem et al. (2009) (47) también realizó experimentos a largo plazo con filtros de cerámica que simulaban el uso normal, y encontró que la eficiencia de remoción de los filtros con y sin plata fue consistente durante las 13 semanas de estudio. Los resultados de estos estudios proporcionan una indicación positiva de que los filtros utilizados podrán proporcionar desinfección por períodos de tiempo más prolongados que los evaluados en este estudio.

Por ende, en los ensayos de larga duración, el volumen mínimo adecuado para la verificación en laboratorio ha de ser al menos 20 litros al día, los cuales son considerados el volumen mínimo de agua potable que necesita un hogar para el consumo diario; sin embargo si los sistemas de filtración están ideados para tratar volúmenes de agua menores de 20 litros por operación, como es el caso de los filtros REPLACOL se recomienda realizar varias pruebas de exposición con estos volúmenes de agua más pequeños, con objeto de documentar la capacidad para tratar un total de 20 litros de agua al día (16).



8.3 Fase III: Aplicación de la técnica filtración por membrana

La filtración por membrana combinada con los medios de cultivo cromogénicos y fluorogénicos constituyen una buena alternativa para un análisis rápido y confiable (48). De esta manera este tipo de medios de cultivo, ya sean sólidos o líquidos para detectar la actividad enzimática de coliformes totales y *E. coli* proporciona una mayor sensibilidad y rapidez en la estimación de la contaminación microbiana en agua potable respecto a los métodos clásicos.

En el caso de los volúmenes añadidos del microorganismo al agua sintética deben tener concentraciones conocidas antes de luego someter el agua al proceso de filtración. Tanto el agua de alimentación inicial (inoculada) como el agua tratada (filtrada o concho) con el fin de determinar las concentraciones de microorganismos y la eficacia de reducción de la carga microbiana (16), lo que a prueba la importancia de los controles utilizados en este estudio.

En cuanto, a los valores de remoción en el agua luego de la filtración no cumplieron con el criterio recomendado por la normatividad colombiana en cuanto a este indicador microbiológico en alguno de los sistemas de filtración y no se presentó una tendencia clara, debido a que los filtros que tienen el valor agregado de la columna de carbón activado (EKOFILPLUS) no incrementó notoriamente el rendimiento de remoción en este microorganismo; como por ejemplo, en el filtro EKOFIL PLUS 2.0 logró una alta remoción de *E. coli*, en cambio el filtro EKOFILPLUS 1.0 presentó menor remoción para la concentración de 10^2 en ambos casos, lo cual resulta difícil explicar, pero debe tenerse en cuenta.



En base a lo anterior, puntualmente para los filtros de modelo EKOFILPLUS que lograron una remoción baja, coincide con un estudio donde los autores mencionan que el carbón activado granular presenta comúnmente una capacidad de eliminación decimal de 0.5–1.1 log para *E. coli*, mientras que las remociones suelen ser mayores para quistes de *Cryptosporidium parvum* (1.1–2.7 log) y para *Giardia lamblia* (2.0 log) (49).

Una posible explicación del comportamiento entre los filtros EKOFILPLUS con concentración de 10^3 UFC/mL del microorganismo, es que con el paso de los días se fue desarrollando una biopelícula que pudo modificar el mecanismo de remoción del *E. coli*. Así, al principio de los experimentos la columna de carbón activado granular removió principalmente por adsorción, pero al transcurrir el tiempo los microorganismos empezaron a competir con los contaminantes por sitios de adhesión debido a, que el carbón activado granular es un excelente soporte microbiano, lo que es atribuido a su superficie irregular y a su elevada porosidad, dándole numerosos sitios para que los microorganismos se adhieran (50).

Aunque, se ha comprobado que la plata inhibe el crecimiento de biopelícula en el filtro y el recipiente (51), un estudio donde se analizaron 600 L de agua filtrada, observaron que los filtros alcanzaban una reducción logarítmica de hasta 5 Log, pero a partir de esa cantidad su eficiencia decayó hasta 1 Log, lo cual atribuyeron ese decaimiento en la eficiencia del filtro, a la formación de una biopelícula por fuera del filtro, debido a la elevada concentración de *E. coli* utilizada en los ensayos ($E+05$ UFC/ml), una concentración mucho mayor de la que se podría encontrar en aguas altamente contaminadas (52); así mismo, un estudio realizado por Pérez & *et al* 2016 (36), lograron una eliminación total de la bacteria *E. coli* alcanzando



eficiencias del 100 % (reducción de 5 unidades logarítmicas) con sistemas de filtros caseros.

Por otra parte, la reducción de bacterias para los filtros de cerámica es aproximadamente entre 2 a 6 log, pero esto puede variar debido a el tamaño de poro, velocidad de flujo, el medio de filtro y la inclusión de la potenciación con plata u otros agentes químicos (9).

Por lo anteriormente mencionado, el efecto de la porosidad es muy importante, a causa, de que es la base para eliminar partículas a nivel de tamaño micro con procesos físicos como obstrucciones, inercia y adsorción (53). Por consiguiente, hay varios estudios entre ellos, el hallazgo de Hagan *et al* 2008 (54) que informaron que los filtros de cerámica menos porosos pueden eliminar microorganismos de manera eficiente. En otras palabras los microorganismos dependiendo de su tamaño, se bloquean dentro de los poros, lo que evita que fluya a través del elemento cerámico (55). No obstante, Bulta A & Geremew 2019 (56) al evaluar tres filtros de cerámica con porosidad diferente, no encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en cuanto a la eliminación de coliformes totales y *E. coli* en el agua filtrada.

Del mismo modo, el alto porcentaje de porosidad en los filtros de cerámica permite que el agua fluya más rápido; siendo este, un posible factor atribuido a las bajas remociones del microorganismo que no logro determinarse, ya que, no hubo diferencias significativas entre cada una de las tasas de filtración; lo que coincide en cuanto a esta variable en un estudio realizado por Vega 2013 (57), donde uno de los filtros presentaba una tasa de filtración baja de 0.33 L/h, y el otro tenía una tasa de 1,33 L/h, pero no se evidencio que la tasa de filtración tuviera



ningún impacto sobre la eliminación bacteriana de los filtros. Es por estas razones que es necesario investigar cómo cambia la tasa de filtración en el transcurso del tiempo debido a, que si la tasa de filtración disminuye el filtro no provee cantidad suficiente de agua y pierde su efectividad; además de asumir periódicamente el lavado el filtro con cepillo lo que logra rejuvenecer la tasa de filtración y aumentar su vida útil (58).

En lo que concierna a la plata en los filtro, es posible que se filtre en el agua a medida que fluye a través de ella pueda proporcionar una desinfección adicional en el recipiente. Por consiguiente la plata coloidal con la que es impregnado el filtro por dentro y por fuera actúa durante la filtración, pero resulta más eficiente durante el tiempo de almacenamiento en el recipiente. La plata residual sigue actuando incluso después de la filtración, lo que vuelve mucho más efectivo al tratamiento (52). Este efecto a largo plazo es debido a que la plata lixivia con el filtrado, permitiendo un mayor tiempo de contacto con el agua filtrada, eliminando cualquier microorganismo que haya escapado a la filtración o que se pueda encontrar en el receptáculo de almacenamiento (59).

Con relación a lo anterior, la razón para la mejora de los valores de reducción logarítmica después del almacenamiento durante la noche puede ser atribuida en gran medida al Ag residual en el filtrado. Por lo tanto la eficacia de Ag como desinfectante depende de la dosis y el tiempo de contacto con el microorganismo indicador en el agua, tanto durante la filtración como durante el posterior almacenamiento (60). En este estudio, no se evaluó el efecto del almacenamiento o de los tiempos de contacto como variable, los cuales fueron cortos aproximadamente de 3 a 4 horas, debido a que se esperaba que todos los 12 filtros



terminaran su filtración y se procedía a recoger la muestra del agua. De este modo, se puede argumentar que los filtros de alto flujo como los que presentan la tasa de filtración de 3L/h proporcionan un tiempo de contacto más corto tanto en la cerámica como en el recipiente, aunque va ligado a la frecuencia con que este último se vacíe y a su vez presentan una porosidad más alta, sin embargo, los filtros de cerámica con una porosidad relativamente baja (1 L/h) tienen una buena eficiencia para eliminar de fuentes de agua contaminadas, las bacterias (61).



9. CONCLUSIONES

Aunque los filtros presentaron remoción de *E. coli* en el agua luego de la filtración, no alcanza a cumplir con el criterio permisible recomendado por la normatividad colombiana en cuanto a este indicador microbiológico en alguno de los sistemas de filtración y no se presentó una tendencia clara.

Es difícil comparar la eficiencia de la remoción de los microorganismos, aun bajo condiciones de laboratorio controlado, debido a, que se debe abordar una metodología más amplia para analizar otras variables de suma importancia como turbiedad, tamaño del poro, velocidad de flujo, entre otras que pueden influir en dicha remoción.

Para las dos calidades de aguas tratadas evaluadas (10^2 y 10^3 UFC/mL) no hubo diferencias estadísticas significativas para la remoción de *E. coli* en comparación a las tasas de filtración. Sin embargo los filtros de EKOFIL PLUS lograron en general una mejor remoción del microorganismo y esto puede ser atribuido a la presencia de la columna con carbón activado.



10. RECOMENDACIONES

Los filtros de cerámica son una opción para el tratamiento de agua a nivel domiciliario eficiente en la remoción de bacterias y virus. Sin embargo, es necesario realizar estudios en campo para determinar cómo se comportan los filtros de con agua con concentraciones de microorganismos reales.

También se recomienda analizar la cantidad y la forma en la que se añade la plata coloidal al filtro, para inhibir la presencia de biopelícula.

La bibliografía recomienda cubrir anualmente el filtro con la solución de plata coloidal para asegurar la inactivación total de agentes patógenos.

Se debe realizar limpieza de la olla de cerámica, esta puede realizarse con cepillo para eliminar la materia orgánica o los sólidos incrustados en los poros, lo que ayuda a que se reinicie la tasa de filtración. La periodicidad del lavado puede variar con la turbiedad o concentración de microorganismos de las muestras que se traten con el filtro.

Es posible que la tasa de filtración de los filtros disminuya con el tiempo, debido a los tratamientos de aguas turbias que saturan los poros de la cerámica; para lo cual se propone una limpieza periódica con un cepillo de dientes, dentro y fuera del filtro; lo cual renovará la tasa de filtración nuevamente



11. BIBLIOGRAFÍA

1. Ghebreyesus TA. 2100 millones de personas carecen de agua potable en el hogar y más del doble no disponen de saneamiento seguro [Internet]. GINEBRA; 2017. p. 1–5. Available from: <http://www.who.int/es/news-room/detail/12-07-2017-2-1-billion-people-lack-safe-drinking-water-at-home-more-than-twice-as-many-lack-safe-sanitation>
2. Organización Mundial de la Salud. Agua potable salubre y saneamiento básico en pro de la salud [Internet]. Available from: http://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/. Consultado el 12 de Julio del 2017.
3. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades diarreicas [Internet]. 2017. Available from: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
4. Gaviria U, A. Davila CE. Correa LE. Burgos B. Giron SL. Análisis de Situación de Salud (ASIS) Colombia, 2016. Minist Salud y Protección Soc [Internet]. 2016;1–163. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf>
5. Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente V y DT. Resolución numero 2115 - 2007 Limites Máximos Permisibles para la Calidad de Agua de Consumo Humano. Resolución Numer 2115 - 2007. 2007;23.
6. UNICEF. El agua potable y el saneamiento básico en los planes de



desarrollo. III. El agua potable y el saneamiento básico en los planes de desarrollo Capítulo. 2006.

7. Rojas R. Planes de seguridad del agua (PSA) [Internet]. Organización panamericana de la salud. 2006. Available from: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_4_fig.pdf
8. OMS. Guías para la calidad del agua potable. Vol. 23, Primer apéndice a la tercera edición Volumen 1 Recomendaciones. 2006.
9. Organización Mundial de la Salud. 7 - Aspectos microbiológicos [Internet]. p. 139–83. Available from: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_7_fig.pdf. Consultado el 17 de Juio del 2017.
10. Gómez OG. Enfermedad diarreica aguda por Escherichia coli enteropatógenas en Colombia. Infectología al día. 2014;31:577–86.
11. OMS U. Progresos en materia de agua potable y saneamiento: informe de actualización 2017. 2017. 1-118 p.
12. Fewtrell L, Kaufmann RB, Kay D, Enanoria W, Haller L, Colford JM. Water, sanitation, and hygiene interventions to reduce diarrhoea in less developed countries: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis [Internet]. 2005;5(1):42–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15620560>
13. Reyes, pinto dy. Determinantes sociales de la mortalidad por enfermedad diarreica aguda en los menores de 5 años en colombia. 2015.



14. Ministerio de la Protección Social y Universidad de Antioquia FN de SP. Analisis de la situación de salud en colombia 2002-2007 [Internet]. Igarss 2014. 2010. 1-5 p. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/Documentos y Publicaciones/ASIS-Tomo VI--Análisis de desigualdades e inequidades.pdf>
15. Lopez Delgado L, Schiffer A. Manual de Requerimientos Mínimos para Intervenciones en Agua, Saneamiento e Higiene en Emergencias. Agencia Es. española; 2012. 191 p.
16. OMS. Evaluación de métodos para el tratamiento doméstico del agua: metas sanitarias y especificaciones de eficiencia microbiológica [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2012. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79186/1/9789243548227_spa.pdf
17. Pérez-Vidal A, Diaz-Gómez J, Castellanos-Rozo J, Usaquen-Perilla OL. Estudio comparativo de dos sistemas de filtración casera para el tratamiento de agua para consumo humano. Water Res. 2016;98:176–82.
18. Menocal L, Caraballo Y. Importancia de la vigilancia sanitaria de los parásitos en la calidad del agua, según su uso. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2014;52(2):197–209.
19. Suárez-Güemes MF, Tavera FJ. Patogenia microbiana: Conceptos básicos en la interacción hospedero-microorganismo. Universidad Nacional Autónoma México [Internet]. 2006; Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2006/vm064e.pdf>. Consultado el 12 de Julio del 2017.
20. UNICEF. Diarrhoea: Why children are still dying and what can be done. New



York; 2009.

21. Ibarra Peñaranda E. Análisis de Filtros Caseros como Técnica de Potabilización del Agua en el Sector Rural. universidad nacional abierta y a distancia; 2016.
22. Sobsey MD. Managing Water in the Home: Accelerated Health Gains from Improved Water Supply. World Health [Internet]. 2004;8(11):1–83. Available from: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/who/sobs.pdf>. Consultado el 12 de Julio del 2017.
23. Organizacion Panamericana de la Salud. Guía para el mejoramiento de la calidad del agua a nivel casero. 2005.
24. OMS. Guías para la calidad del agua de consumo humano. Cuarta edición que incorpora la primera agenda [Internet]. 2012. Available from: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/es/. Consultado el 12 de Julio del 2017.
25. Filtro de arcilla EKOFIL [Internet]. Available from: <http://filtroekofil.com/>. Consultado el 12 de Julio del 2017.
26. United States Environmental Protection Agency. Guide standard and protocol for testing microbial water purifiers. Edición 22 del 2012.
27. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic Escherichia coli. Nat Rev Microbiol. 2004;2(2):123–40.
28. Ríos-Tobón S, Agudelo-Cadavid RM, Gutiérrez-Builes LA. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano.



Revista Fac Nac Salud Pública [Internet]. 2017;35(2):236–47. Available from: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/fnsp/article/view/26353>

29. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Standard, Edición 22 del 2012.
30. Rivera Sanchez, SP: Estandarización de un método microbiológico para cuantificación de *salmonella sp* y *shigella sp*. y validez de dos métodos de cuantificación, empleados en el diagnostico de salmonella sp., presente en aguas artificiales tratadas mediante el proceso de desinfección foto-fetón. Universidad del Valle; 2011.
31. Wegelin M, Canonica S, Mechsner K, Fleischmann T, Pesaro F, Metzler A. Solar Water Disinfection: Scope of the Process and Analysis of Radiation Experiments. J Water Supply Res Technol Aqua [Internet]. 1994;43(3):154–69. Available from: http://www.researchgate.net/profile/Thomas_Fleischmann/publication/224046872_Solar_water_disinfection_Scope_of_the_process_and_analysis_of_radiation_experiments/links/0046353353288c2114000000.pdf
32. Josset S, Keller N, Lett M-C, Ledoux MJ, Keller V. Numeration methods for targeting photoactive materials in the UV-A photocatalytic removal of microorganisms. Chem Soc Rev. 2008;37(4):744–55.
33. Carrillo E, Lozano A. Validación del metodo de detección de coliformes totales y fecales en agua potable utilizando agar chromocult [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana. 2008. Available from: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis203.pdf>



34. Rivera SPR, Flórez LJ, Sanabria J aneth. Standardization of a quantification method for Salmonella spp . and Shigella spp . in specific liquid media Colombia Médica. 2010;41:60–70.
35. Roa Mon. Determinación de escherichia coli y coliformes totales en agua por el método de filtración por membrana en agar chromocult [internet]. 2007. Available from: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Coliformes+totales+y+E.+c+oli+en+Agua+Filtración+por+Membrana.pdf/5414795c-370e-48ef-9818-ec54a0f01174>
36. Pérez-Vidal A, Díaz-Gómez J, Salamanca-Rojas KL, Rojas-Torres LY. Evaluación del tratamiento de agua para consumo humano mediante filtros Lifestraw® y Olla Cerámica. (Spanish). Eval Drink Treat by Lifestraw® Ceram filters [Internet]. 2016;18(2):275–89.
37. Iván R, Novelo M, San L, Cedillo P. Modelación del tiempo de conservación de muestras biológicas de agua. 2010;26(4):327–35.
38. Cosios CVB. Desarrollo de un método para recuento de Listeria monocytogenes utilizando turbidimetría. Universidad Técnica de Ambato; 2017.
39. García, Lynne Shore, Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2010.
40. Vargas MRR. Variabilidad de la inactivación microbiana y de la fase de latencia de los microorganismos supervivientes a un proceso de acidificación. Universidad Complutense de Madrid; 2016.



41. OMS. Emerging issues in water and infectious disease. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud. 2003.
42. Energías Renovables y Aguas de Colombia SAS [Internet]. Available from: <http://eneraguas.com/purificacion-agua/ekofil/como-funciona/>; Consultado el 15 de Abril del 2019.
43. Lantagne DS. Investigación del filtro de barro impregnado con plata coloidal promovido por Ceramistas Por La Paz . Reporte 1 : Efectividad intrínseca. 2001.
44. Bravo K. Moreira A. Garzón R. Eficiencia del carbón activado procedente del residuo agroindustrial de coco (*cocos nucifera*) para remoción de contaminantes en aguatutor. universidad de cuenca - ecuador 2017.
45. Steffanía B, Tito C, Gabriela E, Veletanga L. Obtención de carbón activado a partir de la cáscara de coco "*Cocos Nucífera L.*" Universidad de Cuenca Facultad; 2018.
46. Chipile DI. Carbón activo granular, en la mejora de la calidad del agua potable. Universidad Privada del Norte; 2017.
47. Halem D Van, Laan H Van Der, Heijman SGJ, Dijk JC Van, Amy GL. Assessing the sustainability of the silver-impregnated ceramic pot filter for low-cost household drinking water treatment. Phys Chem Earth [Internet]. 2009;34(1–2):36–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pce.2008.01.005>
48. Larrea-murrell JA, Rojas-badía MM, Romeu-álvarez B, Heydrich-pérez MRM. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad



de las aguas : revisión de la literatura. 2013;44(3):24–34.

49. Hijnen WAM, Suylen GMH, Bahlman JA, Brouwer-hanzens A, Medema GJ. GAC adsorption filters as barriers for viruses , bacteria and protozoan (oo)cysts in water treatment. Water Res [Internet]. 2010;44(4):1224–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.10.011>
50. R. Aragón-Monter, J. Ramírez-Godínez, C. Coronel-Olivares, C. Lucho-Constantino GV-R. Uso de Carbón Activado Granular (CAG) en un biofiltro para el tratamiento de efluentes acuícolas. México; 2013.
51. Potters for Peace. Best Practice Recommendations for Local Manufacturing of Ceramic Pot Filters for Household Water Treatment. The Cerami. 2011. 1(1), 187.
52. Enríquez PCB. Evaluación de la eficacia microbiológica de filtros de agua de cerámica negra producidos en pifo-ecuador. Universidad de las Américas; 2018.
53. Rayner J, Zhang H, Schubert J, Lennon P, Lantagne D, Oyanedel-craver V. Laboratory Investigation into the E ff ect of Silver Application on the Bacterial Removal E ffi cacy of Filter Material for Use on Locally Produced Ceramic Water Filters for Household Drinking Water Treatment. ACS Sustain Chem Eng Reduct. 2013;
54. By W, Hagan J, Harley N, Pointing D, Sampson M, Soam V, et al. Ceramic Water Filter Handbook. In: Resource Development International - Cambodia. 2008.
55. Doulton. Doulton Water Filter Ceramic Candle & Cartridge Technologies.



2009.

56. Bulta AL, Micheal GAW. Evaluation of the efficiency of ceramic filters for water treatment in Kambata Tabaro zone , southern Ethiopia. Environ Syst Res [Internet]. 2019;1–15. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40068-018-0129-6>
57. Vega HAS. Evaluación sistema de filtración en múltiples etapas FiME en tanques plásticos [Internet]. Universidad de Manizales; 2013. Available from: http://ridum.umanizales.edu.co:8080/jspui/bitstream/6789/151/1/402_Vega_Serrano_Haimar_Ariel_2013_Documento.pdf
58. Henao M. Evaluacion de la efectividad del filtro a base de arcilla y plata coloidal en la potabilizacion de agua, medida por pruebas fisicoquimicas y microbiológicas. Universidad Tecnológica de Pereira; 2010.
59. Peace. P for. Best Practice Recommendations for Local Manufacturing of Ceramic Pot Filters for Household Water Treatment. 2011.
60. Laan H Van Der, Halem D Van, Smeets PWMH, Soppe AIA. Bacteria and virus removal effectiveness of ceramic pot filters with different silver applications in a long term experiment [Internet]. Vol. 51, Water Research. Elsevier Ltd; 2014. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.11.010>
61. Clasen T, Schmidt W, Rabie T, Roberts I, Cairncross S. Interventions to improve water quality for preventing diarrhoea: systematic review and meta-analysis. Br Med J. 2007;(March):1–10.



ANEXOS

Anexo 1. Protocolo para la estandarización del inóculo

METODOLOGÍA PARA LA REACTIVACIÓN Y LAVADO CELULAR CON CEPAS CERTIFICADAS DE *Escherichia coli*

PROPÓSITO: Realizar pruebas experimentales de reactivación bacteriana y lavado celular, con la cepa ATTC de *Escherichia coli* (25922).

ALCANCE: Es aplicado para ajustar las concentraciones adecuadas de la bacteria *E. coli*, por lo cual comienza desde la reactivación de la cepa de trabajo hasta el lavado celular.

RESPONSABLE: Cualquier profesional con un conocimiento aceptable de las técnicas microbiológicas de siembra y conteo en placa, Biólogos, Bacteriólogos, Microbiólogos o personal entrenado.

MATERIALES:

1. Equipos

- Balanza
- Nevera
- Incubadora 36 digital 65 lts – lab companion
- Congelador 20, 40
- Autoclave



- Espectrofotómetro visible GENESYS™ 20, Thermo Scientific.
- Centrífuga clínica **IEC** serie 428-20211
- Vórtex de mesa **SG 23 SCHOTT-Gerate GmbH D65719 Nr864519** (graduado a 2200 rpm aprox.).
- Plancha de agitación magnética **VARIOMAG Poly 15 H+P Labortechnik AG**. Ref E8001101 (graduada a 700 rpm).
- Plancha agitadora de mesa **CORNING Stirrer/hotplate** modelo PG-32 (graduada en el numero 4).

2. Reactivos y soluciones

- Peptona bacteriológica (Oxoid)
- Medio Levine Eosin methylene blue agar (BBL)
- Caldo Nutritivo (Merck)
- Agar nutritivo (Oxoid)

3. Otros Implementos

- Micro pipetas de volumen fijo:

Transferpet – BRAND 100 µl, serie: 09Z6160

exactitud -0,08 %, coefic. Variación 0,06 %.

Transferpet – BRAND 1000 µl, serie 11Y7237

exactitud 0,17 %, coefic. Variación 0,12 %

- Micro pipeta de volumen variable:

BOECO 100 µl – 1000 µl, Cat No BOE 9211100, serial no CU50604

- Pipetas de vidrio de 5mL y 10mL



- Probetas de 50 mL y 100 mL **Pyrex ASTM No 3046**
- Probeta de 250 mL **KIMAX USA TD**
- Cajas de Petri
- Tubos de ensayo de 10ml con tapa
- Celdas para espectrofotometría
- Agitadores magnéticos pequeños
- Agua peptonada al 0,1 %, estéril.
- Agua Milli-Q (bidestilada, desionizada, estéril).
- Tubos de ensayo tapa rosca de 125x10 mm.
- Frascos de 1000 mL.
- Probetas de 1000 mL.
- Pipeteador.
- Puntas para pipetas de 1000 uL y 100 uL.
- Tubos de ensayo para pruebas bioquímicas.

MATERIAL BIOLÓGICO

Cultivo puro de *Escherichia coli* ATCC 25922 preservada en glicerol al 30%.

PROCEDIMIENTO:

1. Reactivación de la cepa bacteriana:

1.1 Primera siembra

- Saque las cepas de *E. coli* preservadas de congelación y agite durante 10 s.



- Destape el vial con las cepas de *E. coli* y pase 100 uL de la suspensión a un frasco con 150 mL de Caldo Nutriente (Merk). Incube a 35 °C por 18 horas.

2. Reactivación de la cepa bacteriana: Segunda siembra

- 2.1 Saque el cultivo de incubación y agite por 10 s.
- 2.2 Pase 100 ul de cada cultivo a cada uno de los tubos de centrifuga tapados, previamente preparados con 10 mL de Caldo Nutriente (Merck). Incube a 35 °C por 18 horas.

3. Lavado celular

- 3.1 Saque el cultivo de incubación y centrifugue a 3000 rpm durante 10 min.
- 3.2 Extraiga cuidadosamente el sobrenadante con una pipeta de 10 mL (intente tocar solo la superficie a medida que aspira el contenido), hasta dejar el pellet en 2 mL de líquido.
- 3.3 Resuspenda el pellet agitando en el vórtex y afore a 10 mL con agua Peptonada bidestilada - milli-Q al 0.1 %.
- 3.4 Centrifugue de nuevo a 3000 rpm durante 10 min.
- 3.5 Repita dos veces más los puntos 3.2, 3.3 y 3.4 para cada uno de los tubos de centrifuga.
- 3.6 Vuelva a extraer el sobrenadante, esta vez dejando el pellet celular en 2 mL de líquido.
- 3.7 Resuspenda el pellet de cada tubo agitando 10 s.
- 3.8 Con el estándar de McFarland escala # 0.5, ajuste, la concentración inicial a 1.5×10^8 UFC/mL⁻¹



3.9 Proceda a ajustar las concentraciones requeridas para 100 L de agua.

REFERENCIAS:

1. FAO. 12. La garantía de la calidad en el laboratorio microbiológico de control de los alimentos. *Manuales para el control de la calidad de los alimentos*. Roma: FAO, Alimentación y Nutrición 14/12; 1992:58-60; 70-2.
2. ISO/TS 11133-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of cultura media. Part 2. Practical guidelines on performance testing of cultura media. Brussels: Cen; 2002.



Anexo 2. Protocolo para la realización del método filtración por membrana

METODOLOGÍA PARA LA REALIZACIÓN DEL MÉTODO FILTRACION POR MEMBRANA PARA LA DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli* EN AGUAS

OBJETIVO: Determinar si el agua a ensayar contiene microorganismos contaminantes mediante la técnica filtración por membrana.

ALCANCE: Interpretar análisis microbiológicos de aguas y reportar la cantidad de bacterias contaminantes (coliformes totales y fecales) en 100 mL de muestra de agua, va desde la toma hasta el informe de resultado.

RESPONSABLE: Profesional con un conocimiento aceptable de las técnicas microbiológicas de siembra y conteo en placa, Biólogos, Bacteriólogos, Microbiólogos.

MATERIALES

- Micro pipetas de volumen fijo:
- Tranferpet – BRAND 10ul, serie: 09Z52348
- **Transferpet – BRAND 100 µl**, serie: 09Z6160
- Exactitud -0,08 %, coefic. Variación 0,06 %.
- **Transferpet – BRAND 1000 µl**, serie 11Y7237
- Exactitud 0,17 %, coefic. Variación 0,12 %
- Micro pipeta de volumen variable:
- **BOECO 100 µl – 1000 µl**, Cat No BOE 9211100, serial no CU50604.
- Cajas de Petri.



- Equipo de filtración estéril CM LAB de 3 embudos de filtración.
- Membrana de filtración estéril. **Membrana MF-Millipore**, ésteres mezclados de celulosa, hidrófila; 0,45 μm , 47 mm blanca.
- Pinzas.
- Bomba de vacío 12 Cfm 2 Etapas 110/220v **Marca** Aitcool.
- Medio de cultivo Chromocult de (Merk).
- Tubos de dilución 10 mL.
- Frascos con agua destilada.

PROCEDIMIENTO

Selección del tamaño de la muestra

1. El agua potable se analiza filtrando 100 mL de acuerdo a los protocolos descritos en el estándar métodos y el IDEAM. Cuando se filtren menos de 20 mL (diluidos o no), se añadirán alrededor de 10 mL de agua de dilución estéril al embudo antes de la filtración.

Filtración de la muestra

- 1.1. Colocar con pinzas estériles un filtro de membrana estéril (con la trama hacia arriba) sobre la placa porosa del receptáculo.
- 1.2. Situar con cuidado la unidad de embudo correspondiente sobre el receptáculo y fijarla.
- 1.3. Garantizar un vacío parcial para realizar la filtración.
- 1.4. Filtrar la muestra.



- 1.5. Posteriormente, desbloquear y quitar el embudo.
- 1.6. Inmediatamente, quitar el filtro de membrana con unas pinzas estériles.
- 1.7. Colocar el filtro en el medio seleccionado con un movimiento de rotación para evitar que quede aire atrapado.
- 1.8. Realizar el mismo procedimiento para los duplicados.
- 1.9. Invertir la placa e incubar durante 20-22 horas a 35 ± 0.5 °C
- 1.10. Al comienzo de cada serie de filtraciones, utilizar unidades de filtración.

2. Recuento

2.1 Las colonias típicas de coliformes fecales tienen un color azul violeta. Recontar las colonias, con ayuda de una lupa estereoscópica binocular de campo amplio y bajos aumentos (10-15 aumentos) o de otro instrumento óptico. Las colonias de coliformes no fecales son de tonos rojos y las no coliformes turquesa y amarillas cremosas.

2.2 Cálculo de la densidad de coliformes fecales. Calcular la densidad a partir de las colonias de muestra que producen recuentos en la filtración por membrana dentro de los límites deseados de 20 – 60 colonias de coliformes fecales Aplicar la siguiente ecuación: Colonias de coliformes/ 100 ml = N° de colonias típicas x 100/Mililitro muestra filtrada.

2.3 Reportar en términos de densidad de coliformes fecales por 100 mL si hay menos de 20 colonias se reporta el número de bacterias encontradas. Pero si el numero excede a 80 colonias se registra como TNTC (Too numerous to count).

3. RESULTADOS



Reportar los resultados obtenidos en unidades formadoras de colonias (UFC)/100 ml de muestra para *E. coli*.

4. REFERENCIA

- Institute of Hydrology Meteorology and Environmental Studies. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, IDEAM. 2017;



ARTÍCULO



