



Validación de los nuevos protocolos de análisis microbiológico de aguas mediante servicios intercolaborativos y servicios intercomparativos

J. Sanchis

Departamento de Control de Calidad, Laboratorios MICROKIT, S.L., Madrid

Durante 6 años se han ido comparando los resultados analíticos de los 70 participantes en las 24 ediciones del servicio intercomparativo SEILAGUA® que utilizaban los métodos derivados del Real Decreto 140/2003 de aguas de consumo humano, Real Decreto 1074/2002 de aguas de bebida envasadas y la Norma ISO 11731 sobre *Legionella pneumophila*, comparados con los resultados obtenidos por participantes que utilizaban los diversos protocolos MICROKIT® derivados de aquéllos (tanto en el método Presencia/Ausencia como en el de Filtración de membrana) para optimización en los análisis microbiológicos de aguas. La comparación engloba 14 parámetros microbiológicos y un total de 584 muestras intercomparadas.

Los resultados obtenidos y sus conclusiones son tan trascendentales, que deben hacer plantearse al lector si la validación que haya realizado de los métodos oficiales en sus instalaciones, justifica seguir con ellos de forma estricta, o bien si necesita implantar las mejoras que proponemos en dichos protocolos, convirtiendo así éstos en un método de referencia.

La conclusión más importante es que el método P/A utilizando los kits P/A de MICROKIT® obtiene una sensibilidad real del 100%, aunque se requiera confirmar las muestras presuntamente positivas porque la especificidad resulte sólo similar a la que obtienen estos laboratorios con el método oficial estricto. Sin embargo la sensibilidad media para todos los parámetros con los métodos oficiales es sólo del 80%, al obtenerse globalmente un 20% de falsos negativos.

Los parámetros más críticos son, por orden decreciente de importancia: *Clostridium perfringens*, con una eficiencia de sólo el 29%, *Legionella pneumophila*, con sólo un 54%, *Staphylococcus aureus*, con un 62%, *Vibrio cholerae*, con un 60%, *Pseudomonas aeruginosa*, con un 79%, *E.coli*, con sólo un 78% y Coliformes con un 80% de eficiencia.

Sin embargo, los Enterococos fecales obtienen en el método P/A MICROKIT® un 100% de eficiencia y en el método oficial, un 99% de eficiencia, lo que debe hacer replantearse la necesidad de implantar de rutina este indicador de contaminación fecal por encima del actual protagonismo de *E.coli* y demás coliformes, al resultar éstos dos mal detectados en nada menos que un 20-22% de las muestras intercomparadas, algo inaceptable en el parámetro más vital.

En los métodos de recuento, existen diferencias importantes de exactitud, precisión y rango inferior de cuantificación entre varios medios de cultivo: para coliformes y *E.coli*, el MUGPLUS Cfs. Agar MICROKIT® funciona mucho mejor y da mucho menos trabajo confirmativo que el Tergitol TTC; en *Clostridium perfringens* el TSC funciona mucho mejor que el m-CP; en *Staphylococcus aureus* el Mannitol Salt Agar funciona tan mejor que el Baird Parker, que llegamos al punto de invalidar a éste en análisis de aguas. También se observa que el medio YEA-cromogénico de MICROKIT® detecta sistemáticamente más aerobios que su homólogo Agar Nutriente al extracto de levadura (YEA), ya que el recuento de colonias rojas sobre medio color crema permite detectar las más pequeñas, que pasan desapercibidas en el medio oficial.

También apuntamos que las Compact-Dry-Plates® TC están obteniendo en los últimos SEILAGUA®, resultados equivalentes a los del YEA, con la ventaja de no tener que fundir medios, ni sufrir el punto crítico de la temperatura letal de adición del medio sobre la muestra.