

Pruebas microbiológicas del filtro Sawyer 7/6B

Informe N° S05-03

Fecha 07 de noviembre de 2005

Resumen

La capacidad del filtro 7/6B Sawyer para eliminar los patógenos humanos *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, y la *Klebsiella terrigena* de aguas superficiales se llevó a cabo utilizando guía estándar de la USEPA (1986) y el Protocolo para Pruebas Microbiológicas de Purificadores de Agua. La Norma exige una reducción mínima de parásitos protozoarios (*Giardia* y *Cryptosporidium*) de 3 unidades de registro, o eliminación del 99,9% y un mínimo de 6 unidades de registro, o 99,9999% de reducción de bacteria (*Klebsiella*).

El filtro Sawyer 7/6B elimino más del 99,999% de parásitos protozoarios y más del 99,9999% de bacterias (tabla 1). Como tal, el sistema de filtro cumple con el estándar de la EPA para ambos, protozoarios y bacterias. Además, no se detectaron organismos patógenos que pasaran a través del filtro.

Table 1. Results of Sawyer 7/6B filter microbiological tests

	# detected Initial	# detected After filtration	Units	Reduction (%)	Reduction (log units)
Protozoan parasites					
<i>Giardia</i>	1.0E+06	0 ± 0	(cysts/100mL)	>99.999	>5
<i>Cryptosporidium</i>	1.0E+06	0 ± 0	(oocysts/100mL)	>99.999	>5
Bacteria					
<i>Klebsiella</i>	1.8E+07	0 ± 0	(cells/100mL)	>99.9999	>6

Introducción

Esta introducción ofrece una explicación de la prueba realizada sin el uso de terminología técnica innecesaria. Las secciones después de esta introducción tienen la intención de explicar los métodos, resultados y procedimientos de control de calidad a una audiencia profesional.

Una suspensión de cada organismo (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, y *Klebsiella terrigena*) fue preparada en agua corriente. Estas suspensiones se les hará la referencia de como pruebas de agua. Las pruebas de agua pasaron a través del filtro de agua de una manera similar a cómo se utilizarían por el consumidor (20 psi). La prueba de agua que paso a través del filtro Sawyer 7/6B fue recogida y pasada a través de un filtro de laboratorio adicional que captura todo tipo de células en una pequeña y redonda película de laboratorio. Como los parásitos protozoarios (*Giardia* y *Cryptosporidium*) son difíciles de cultivar, las películas de laboratorio fueron teñidas con un colorante fluorescente de ADN y observado por células resplandecientes bajo un microscopio fluorescente.

La bacteria (*Klebsiella terrigena*) crece fácilmente en placas que contengan un nutriente de origen solidificado (placas de nutrientes). Las películas de filtro de laboratorio fueron transferidas a una placa de nutrientes donde podrían crecer células en colonias visibles para el recuento.

Se evaluaron tres sistemas de filtro idénticos para cada organismo. Controles positivos y negativos se utilizaron para evaluar cualquier posible error de laboratorio.

Métodos

Organismos de ensayo: los organismos de prueba y sus fuentes se muestran a continuación.

Quistes de Giardia lamblia (Hiperión Research, LTD, Alberta, Canadá)

Cryptosporidium parvum oocitos (Hiperión Research, LTD, Alberta, Canadá)

Klebsiella terrigena (ATCC 33628)

Pruebas de agua y soluciones: prueba de agua: autoclave, temperatura de cuarto, agua del Riachuelo Cascabel (Missoula, MT), fue utilizada para la prueba de agua. Flujos del Riachuelo Cascabel salen de la zona del desierto de cascabel al norte de Missoula hasta su confluencia con el Rio Clark Fork en la ciudad de Missoula. Agua fue recogida cerca de la confluencia.

Muestras de esta agua fueron archivadas y están disponibles a petición. Esta agua es considerada un símbolo del agua normal utilizada por recreacionistas.

Solución salina amortiguada de fosfato (PBS): 0,05 M PBS solución amortiguadora a pH 7.0 utilizado para transferencias y disoluciones de células.

Condiciones/Enjuague de agua: agua estéril desionizada fue usada para acondicionar el agua y el enjuague de agua.

Preparación del organismo de prueba: protozoarios: Quistes de *Giardia* viva fueron comprados en solución a Hyperion Research, Ltd. Se verificó la concentración inicial de quiste (1.0×10^7 /ml) utilizando una cámara de recuento de Petroff-Hausser. Se agregaron

10 mL de la solución a 1L de prueba de agua para reducir la concentración de la prueba final a 1.0×10^7 quistes/L. Los ooquistes de *Cryptosporidium* se prepararon de la misma forma como los quistes de *Giardia*. La concentración de ooquistes en la solución comprada a Hyperion Research, LTD fue 1.0×10^7 . 10 mL de la solución fueron agregados a 1L de agua de prueba para lograr la concentración final de 1.0×10^7 oocitos/L.

Bacteria: *Klebsiella terrigena* de cultivos madre fueron rayadas en placas TSA (Trypticase Soy agar) e incubadas a 35 °C para verificar su pureza. Un matraz de 200 mL de Caldo Soya Trypticase (TSB) fue inoculado con células la noche antes del examen y las células cultivadas a una fase estacionaria. Las células fueron contadas en una cámara Petroff-Hausser y a continuación, 1L de prueba de agua fue inoculada a una densidad de aproximadamente 2.0×10^8 células/L para alcanzar una densidad final de 2.0×10^7 células/100mL.

Prueba de reducción microbiana: Protocolo de pruebas: 100mL de una solución de ensayo contenido un determinado microorganismo fueron retirados de cada una de tres unidades idénticas del filtro Sawyer 7/6B. Entre las pruebas, cada sistema de filtro fue enjuagado con 1 L de agua de enjuague. Los filtros fueron purgados con aire después de cada prueba para asegurar que la mayor parte de los 100mL de agua de prueba habían pasado a través de ellos. El método de ensayo se resume en la figura 1.

Dispositivo de presurización: La presión del aire fue regulada con un regulador de aire NorLab (modelo HPS270-125-590-4f, Norco Inc. Boise, ID). Una botella de vacío resistente Nalgene (modelo DS2126, Nalge Nunc, Rochester, NY) se utilizó como cámara de presión. Agua acondicionada fue forzada a través de los filtros a 40 psi. Las pruebas de agua fueron forzadas a través de los filtros a 20 psi. El regulador de gas fue utilizado para mantener presión en la cámara para las pruebas. El agua añadida a la cámara fue forzada a través de los filtros abriendo una abrazadera terminal al final terminal del aparato.

1) Prueba de agua que contiene microorganismos se vierte en la botella al vacío.

2) la botella es presurizada a psi 20.

3) Presión en el recipiente es lanzada, permitiendo que el agua de prueba pase por el filtro a 20 psi.

4) Organismos en el agua filtrada se detectan Microscópicamente (protozoos) o por incubación bajo las condiciones de crecimiento adecuado (bacterias).

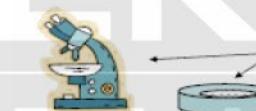


Figure 1



Determinación de la eficacia: protozoarios fueron recogidos en 0,2 µm filtros negros (Osmonics 11021) y teñidos con 4', 6'-diamidino - 2- phenylindole hydrochloride (DAPI) para un conteo microscopio utilizando un microscopio Zeiss epifluorescent. Para los controles positivos el número promedio de células en veinte campos de vista fue utilizado para calcular el número de las células. Para detectar quistes y ooquistes en las muestras de prueba, el microscopio se enfocó en el papel de filtro y toda la zona del papel de filtro se examinó. Todos los quistes y ooquistes detectados, fueron grabados y fotografiados.

Las bacterias en 100mL de agua efluente se concentraron por filtración en un 0.2µm filtro de policarbonato 0.2µm e incubados como se describió anteriormente. Los filtros fueron puestos en placas de TSA e incubados durante 48 horas antes del recuento. Se evaluaron tres filtros por cada organismo de prueba y el error estándar de +/- uno reportado.

Control de calidad: una unidad fue probada por triplicado. Pruebas por triplicado permitieron variación en el rendimiento del sistema de filtro para diferenciarse de la variación de replicas de laboratorio.

Pruebas de agua sin filtrar fueron utilizadas para demostrar que los organismos eran detectables. Pruebas de agua sin células añadidas fueron sacadas a través de cada unidad como un control negativo.

Seguridad: Todos los organismos utilizados en esta prueba fueron potencialmente patógenos. Los analistas usaron guantes y transfirieron materias infecciosas bajo condiciones asépticas en una capucha de flujo laminar. Las superficies fueron limpiadas con desinfectante antes y después de cada uso. En cada pausa del procedimiento se utilizaron luces ultravioletas para desinfectar el cuarto.

Resultados y conclusiones

Resultados de la prueba: La tabla 4 muestra los números de cada tipo de organismo que se detectaron después de pasar la solución de prueba a través del sistema de filtro de agua indicado. El tamaño aproximado del organismo examinado también es entregado como referencia. Los resultados de eficacia se resumen en la tabla 1. El filtro Sawyer 7/6B reduce *Giardia*, *Cryptosporidium*, y *Klebsiella* a niveles por debajo de los niveles de detección.

Table 4. Results of microbiological tests

	Giardia (cells/100mL)	Cryptosporidium (cells/100mL)	Klebsiella (cells/100mL)
Sawyer 7/6B unit 1	0	0	0
Sawyer 7/6B unit 2	0	0	0
Sawyer 7/6B unit 3	0	0	0
Negative control	0	0	0
Plate/Filter Count	1.0E+06	1.0E+06	1.8E+00
Organism Size (µm)	10-12	5-7	2-4