

# Análisis microbiológico del agua y legislación aplicable



**Ingrid Seró**

*Veterinaria en el GSP de Lleida. Graduada en la Doble Titulación de Veterinaria y Ciencia y Producción Animal.*

## LEGISLACIÓN ACTUAL

Es importante destacar que, en ganadería, no se dispone de una legislación específica en materia de calidad del agua. Así pues, la referencia principal se toma de la Directiva (UE) 2020/2184 relativa a la calidad del agua destinada a consumo humano. En España, la transposición de la directiva europea para la calidad microbiológica del agua se ha canalizado principalmente mediante el Real Decreto 3/2023.



Dicha normativa obliga a respetar los parámetros microbiológicos para los microorganismos detallados en su Anexo I Parte A, haciendo referencia explícita a métodos normalizados (normas UNE-EN ISO) para su análisis.

Tabla 1. Valores paramétricos de los parámetros microbiológicos.

Parámetro	Valor paramétrico	Unidad	Nota
<i>Escherichia coli</i>	0	UFC o NMP en 100 ml	
<i>Enterococo intestinal</i>	0	UFC o NMP en 100 ml	
<i>Clostridium perfringers</i> (incluidas las esporas)	0	UFC en 100 ml	1
<i>Legionella spp.</i>	100	UFC en 1 L	2 y 3

Ilustración 1. RD 3/2023. Parámetros microbiológicos del agua destinada a consumo humano.



Estos valores se deben tomar como una referencia indirecta en el ámbito ganadero ya que, a nivel de granja, en la mayoría de los casos es difícil alcanzar estos valores de ausencia, aunque, siempre se debe buscar este objetivo.

Existe normativa específica tanto para la especie porcina en el marco del Real Decreto 306/2020 de las normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas como para avicultura dentro del Real Decreto 637/2021 de ordenación de granjas avícolas que, aunque no detallan unos valores específicos para cada parámetro, remarcan la obligación de mantener un suministro permanente de agua fresca y limpia, lo que obliga indirectamente a realizar controles periódicos de calidad microbiológica del agua, entre otros.



## TOMA DE MUESTRAS DE AGUA PARA UN ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

La fiabilidad de los resultados dependerá de que la muestra sea representativa y se mantengan íntegras sus características microbiológicas, desde la toma hasta el análisis en el laboratorio.

En el marco europeo y español, la norma UNE-EN ISO 19458:2006 mencionada en el Real Decreto marco establece los principios y técnicas de muestreo de agua para análisis microbiológico, diferenciando procedimientos según el objetivo del muestreo y la localización del punto de toma (red de distribución, grifo, depósito, pozo, etc.).





Como aclaración, las normas ISO (*International Organization for Standardization*) son documentos técnicos comercializados por AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación) elaborados que establecen criterios, especificaciones y metodologías reconocidas internacionalmente para asegurar la calidad, seguridad y eficiencia de los métodos.

Una vez se obtiene la muestra, la UNE-EN ISO 5667-3:2024 detalla los requisitos para la conservación y manipulación de muestras de agua, especificando condiciones de transporte, tiempos máximos hasta el análisis y materiales adecuados para los recipientes.



Esta norma también es de aplicación indirecta en granjas, y es especialmente relevante para **garantizar la integridad microbiológica en sistemas de abastecimiento con mayor riesgo de contaminación ambiental** como sería el ambiente de una granja (bebederos, depósitos, etc.).

## Los principios básicos de la toma de muestras de agua para un análisis microbiológico incluyen:

- **Mantener condiciones de asepsia, en la medida la posible** (por ejemplo, mediante el uso de guantes estériles, tapones protectores y desinfección previa del punto de toma).
- **Reducir al mínimo el tiempo transcurrido entre la toma y el análisis:** se recomienda que el análisis se inicie antes de 24 horas, y preferiblemente antes de 6 horas tras la toma.
- **Mantener la cadena de frío** (aprox. 2-8 °C) durante todo el transporte para inhibir la multiplicación de microorganismos.

- **Documentar en la hoja de muestreo toda la información relevante:** fecha y hora, localización exacta, condiciones ambientales, origen del agua, estado de limpieza del punto de toma y cualquier incidencia que se observe (olor, color, estado visual de las instalaciones, etc).



## 1. FRECUENCIA DE MUESTREO



En **explotaciones porcinas**, no existe una frecuencia legal mínima específica para el agua de bebida de animales. Como referencia técnica, **se recomienda una frecuencia mínima semestral** (dos análisis al año), incrementando la frecuencia si se detectan problemas de calidad o tras modificaciones en el sistema de agua.



Sin embargo, **en avicultura**, el Real Decreto 637/2021 (normas básicas de ordenación de las granjas avícolas) establece en su Artículo 6 que, **cuando la fuente de agua no es la red municipal, se debe analizar al menos dos veces al año.**



Aún así, como recomendación técnica, sería ideal **realizar un análisis a la entrada de cada lote en engorde de pollos y mensual en reproductoras** (por el riesgo de transmisión vertical de patógenos).



## 2. SELECCIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO

La contaminación puede originarse en la fuente (pozo/red/superficial), almacenamiento (depósitos) o la distribución interna (tuberías, bebederos). La muestra ha de ser representativa del agua realmente consumida. Es por este motivo que, aunque el agua provenga de la red municipal, debe de realizarse análisis microbiológico del agua que realmente les llega a los animales.

Los puntos críticos recomendados son:

- **Fuente de agua.**
- **Depósitos y acumuladores:** por su riesgo de sedimentación y biofilm.
- **Puntos de tratamiento:** antes/después de la dosificación del tratamiento.

▸ **Final de línea/puntos de consumo:** representa la calidad del agua que beben los animales. Muestrear al final de la tubería y evitar la tetina/chupete, a no ser que la intención sea evaluar la contaminación de la misma.



En el caso de disponer de sistemas de nebulización como los *cooling* también es interesante descartar la presencia de *Legionella* spp. en mayor medida por el riesgo para los técnicos de granja.

### 3. PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRAS

El material empleado en la toma de muestras debe ser **estéril y libre de sustancias** que puedan interferir en los resultados del análisis microbiológico.

Se utilizan **botellas estériles de polipropileno** (medida estándar) con tapón precintado y impregnadas de tiosulfato de sodio. Este compuesto es imprescindible cuando el agua está clorada o tratada con oxidantes ya que neutraliza el desinfectante e impide que continúe eliminando bacterias durante el transporte al laboratorio.

Puede usarse también en aguas sin tratar, ya que no altera los resultados.

En el caso de los **grifos y bebederos**, para obtener una muestra que represente exactamente el estado del agua de la granja y evitar contaminaciones ambientales, se debería **desinfectar el grifo** (en la medida de lo posible), **purgar el sistema durante 2-3 minutos** para eliminar el agua estancada (a no ser que el objetivo sea evaluar el biofilm) y **llenar el bote** evitando el contacto con cualquier otro elemento que no sea el agua.



En otros puntos como los **depósitos y los pozos**, se debe acceder a una profundidad intermedia para evitar la contaminación tanto de la superficie como de los sedimentos. La muestra debe ir correctamente identificada al laboratorio con el código de identificación de la granja código REGA o Marca oficial), fecha de toma de muestra, punto de muestreo, nombre del responsable del muestreo y observaciones complementarias.



La muestra debe enviarse lo más rápido posible y evitar congelarla, ya que destruiría bacterias vegetativas y alteraría los recuentos. **En 24h máximo esas muestras deben ser analizadas.**



# MICROROGANISMOS INDICADORES, SU ANÁLISIS LABORATORIAL Y VALORES PARAMÉTRICOS DE REFERENCIA



El análisis microbiológico del agua en explotaciones ganaderas tiene como objetivo **detectar, identificar y cuantificar microorganismos que pueden afectar la salud animal, la productividad** y, en algunos casos, **la seguridad alimentaria de los productos derivados.**



Este análisis define las características microbiológicas del agua que son el conjunto de parámetros que describen la presencia, concentración y viabilidad de microorganismos en el agua destinada al consumo animal. Su selección responde a criterios técnicos basados en el conocimiento epidemiológico y en la evidencia científica. En España, estos parámetros microbiológicos están definidos en el RD 3/2023 como ya se ha explicado en puntos anteriores.

En este punto de se debe definir el concepto de “**microorganismos indicadores**”.

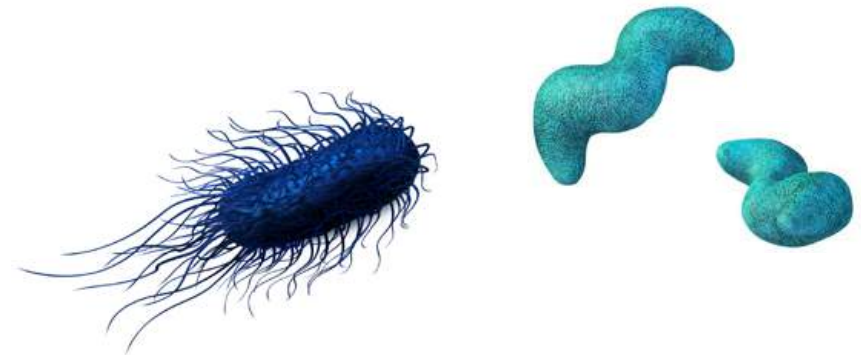


Estos son aquellos cuya presencia sugiere **contaminación fecal** y, por lo tanto, posible presencia de patógenos. Así pues, son los que ayudarán a determinar el estado de salud del agua.



No son necesariamente patógenos, pero **su presencia en el agua de consumo animal señala posibles deficiencias** en el tratamiento, almacenamiento o distribución, y en especial la existencia de contaminación fecal que podría implicar la presencia de patógenos.

La lógica detrás de su uso es que son más fáciles, rápidos y económicos de detectar que los patógenos específicos (*Salmonellas* spp., *Campylobacter* spp. etc.), y su presencia detección ya alerta sobre un posible riesgo potencial de contaminación por otros microorganismos.



Es decir, **detectar estos microorganismos es económico y ya nos da una idea de que la calidad del agua no es la que debería ser.**

En el contexto ganadero, los indicadores más empleados son:

- **Recuento de gérmenes totales** (22 °C y 37 °C).
- **Coliformes totales.**
- ***Escherichia coli.***
- ***Enterococos* intestinales.**
- ***Clostridium perfringens* (esporas).**

El análisis consiste en seguir las diferentes normas ISO como referente técnico internacional sobre los diferentes métodos de análisis microbiológico del agua.



La legislación española hace referencia específica a estas normas como métodos de análisis obligatorios para todos los laboratorios acreditados para este fin. Para los que no están acreditados, también sirve de guía con la finalidad de cumplir unos estándares internacionales.

Existe la **norma UNE-EN ISO 8199:2019** que es una guía general de cómo cuantificar microorganismos en medios de cultivo. El principio general de todas las metodologías de análisis microbiológico en aguas consiste en **inocular un volumen conocido de una muestra de agua en un medio de cultivo** (sólido) y después de una incubación a unas condiciones determinadas, el microorganismo se multiplica dando lugar a colonias visibles directamente en un medio sólido o cambios observables en las propiedades del medio líquido.

Para cada uno de los microorganismos indicadores se dispone de las siguientes normas ISO y unos valores o estándares de referencia que se describen en la legislación vigente.



Cabe mencionar que los valores que se detallan en el RD 3/2023 no son, en la mayoría de los casos, aplicables en granja, sirven como referencia técnica para establecer criterios y metodologías, ya que las regulaciones sectoriales – Real Decreto 637/2021 para explotaciones avícolas y Real Decreto 306/2020 para explotaciones porcinas – no incluyen parámetros microbiológicos obligatorios concretos.

En ausencia de estos valores normativos específicos, **los profesionales de los distintos sectores deben apoyarse en guías y manuales técnicos.** Así mismo, los microorganismos indicadores más relevantes son:



- ▶ **Recuento de gérmenes totales o microorganismos cultivables** (22 °C y 37 °C): se consideran microorganismos cultivables todas las bacterias aerobias, levaduras y mohos capaces de formar colonias en un medio específico bajo unas condiciones de ensayo determinadas.



- ▶ **Análisis laboratorial- ISO 6222:1999:** consiste en sembrar en profundidad 1ml de la muestra en 15ml de medio nutritivo fundido. Se cuentan todas las colonias visibles en el medio, expresando el resultado en unidades formadoras de colonias (ufc) por mililitro de muestra.

- ▶ **Valor de referencia:** en el RD 3/2023 establece el valor paramétrico de máximo 100 ufc en 1 ml de muestra de agua para el recuento de colonias a 22°C. El recuento a 37°C no dispone de un valor paramétrico en el Real Decreto mencionado. Este es un indicador específico de microorganismos mesófilos, más relacionados con patógenos de origen animal. Un valor aceptable a esta temperatura sería de hasta 20 ufc en 1 ml de muestra analizada.

▷ ***Escherichia coli***: bacteria Gram-negativa de la familia *Enterobacteriaceae* anaerobio facultativo que crece a 37°C.

▷ **Análisis laboratorial- ISO 9308-1:2014**: utiliza la filtración por membrana sobre un medio cromogénico que permite diferenciar simultáneamente *E. coli* (colonias de color azul) y otras bacterias coliformes (colonias rojas o rosas) en una única placa. Los resultados se expresan como ufc por 100 mL de muestra filtrada. La suma de *E.coli* con el resto de coliformes representan el parámetro de Coliformes totales.



▷ **Valor de referencia**: la legislación española establece como característica microbiológica fundamental la ausencia de *E. coli* en 100 mL de muestra de agua destinada a consumo humano y, en consecuencia, aplicable a la ganadería.

La *E.coli* se encuentra dentro del grupo del parámetro Coliformes totales, que agrupa a especies bacterianas que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, Gram-negativas aerobias o anaerobias facultativas, oxidasa negativa, no esporulados y que son fermentadoras de lactosa con producción de gas a 37°C (*Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*). El estándar establecido por el Real Decreto 3/2023 para humana es la ausencia en 100 ml.

- ▶ **Enterococos intestinales** bacterias Gram-positivas que forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal.
  - ▶ **Análisis laboratorial- ISO 7899-2:2000:** consiste en filtrar un volumen de muestra sobre un medio de agar Slanetz y Bartley modificado, que contiene suplementos selectivos para favorecer el crecimiento de Enterococos y su diferenciación de otras bacterias. las colonias típicas aparecen convexas, lisas y de color rojo, rosa o marrón. Los resultados se expresan como unidades formadoras de colonias (ufc) por el volumen de muestra analizado. Para confirmación, la membrana se transfiere a otro medio específico y las colonias que presentan color marrón oscuro o negro, con o sin halo, se consideran Enterococos intestinales confirmados.

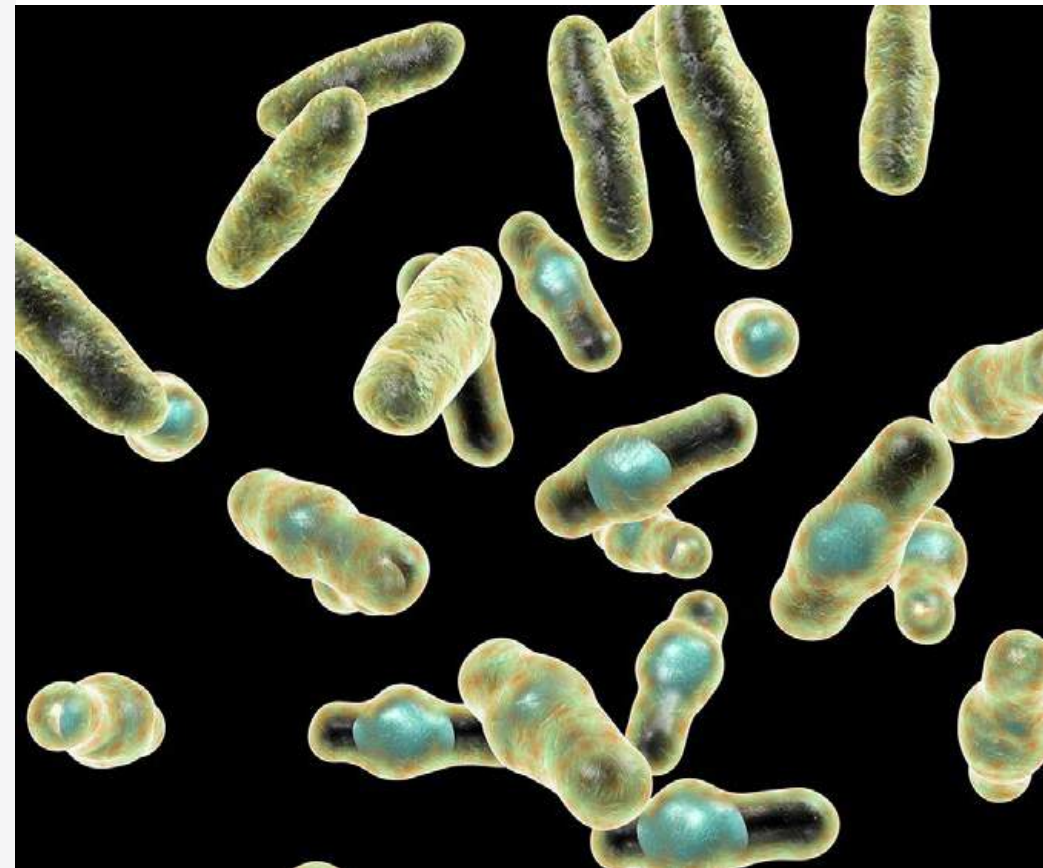
- ▶ **Valor de referencia:** el Real Decreto 3/2023 establece que debe haber ausencia en agua en 100 ml de muestra.



▷ ***Clostridium perfringens***: bacteria anaeróbica Gram-positiva indicadora que existe en el intestino tanto en forma de esporas como en celular vegetativas.

▷ **Análisis laboratorial- ISO 14189:2013**: también utiliza la filtración por membrana pero posteriormente se aplica sobre un medio específico (*Tryptose Sulfite Cycloserine* o TSC), que permite distinguir las colonias características de color negro/grisáceo debido a la reducción del sulfito. Los resultados también se expresan como ufc por 100 mL de muestra filtrada.

▷ **Valor de referencia**: el establecido por la normativa española, al igual que los coliformes es de ausencia en 100 ml de muestra.



Aunque estos sean los microorganismos indicadores más utilizados en los análisis microbiológicos de aguas, se pueden analizar microorganismos complementarios según interés que vaya más allá de saber la salud general del agua, por ejemplo, en un caso clínico en concreto porque se sospecha de que el agua es una vía de transmisión de un patógeno o como medida de control interno.

Sería el caso, de otras bacterias como *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp., *Pseudomonas*, *Klebsiella*, entre otras, además de hongos, virus, algas, parásitos y protozoos.



Estos últimos de gran relevancia ya que su importancia radica como **vehículo de transmisión de otros microorganismos.**



Básicamente, no se suelen analizar porque en la mayoría no existe un procedimiento laboratorial estándar y no suelen ser tan económicos como los microorganismos indicadores.



Todos estos mencionados, no disponen de una parte legal en cuanto a valores de referencia, sin embargo, **su presencia indicaría que se tendría que revisar los métodos de tratamiento de agua y la higiene de todo el sistema de almacenamiento y distribución de agua.**

## LA COMPLEJIDAD DEL ANÁLISIS DE PATÓGENOS

- **Limitaciones del análisis de rutina:** No se suelen buscar patógenos específicos de forma habitual debido a su alto coste, falta de estándares claros y protocolos laboriosos.
- **Microorganismos indicadores:** Se utilizan como señal de alerta; si aparecen, indican un riesgo potencial de presencia de otros patógenos como virus, protozoos o parásitos.
- **Referencia normativa:** Al no existir una normativa específica para ganadería, se extrapolan los valores de consumo humano, aunque son difíciles de cumplir en entorno de granja.

## PROTOCOLO ESPECÍFICO PARA *CAMPYLOBACTER*

- **Relevancia:** Es un patógeno zoonótico de gran importancia, especialmente en el sector avícola.
- **Metodología según la muestra:** El protocolo varía dependiendo de si el agua es clara o turbia, utilizando filtración o inoculación directa.
- **Proceso de incubación:** Requiere el uso de caldos específicos (Bolton y Preston) y una incubación prolongada en microaerofilia a 37°C y 44°C (aprox. 44 horas cada una) para observar colonias gris brillantes.

## PROTOCOLO ESPECÍFICO PARA SALMONELLA

- **Fases de enriquecimiento:** Comienza con un pre-enriquecimiento en agua de peptona tamponada (18h a 36°C) para ayudar a las bacterias a recuperarse y crecer.
- **Selección y aislamiento:** Se realiza un enriquecimiento selectivo (caldo Rappa) con antibióticos para inhibir otra microbiota, seguido de una incubación a 41.5°C.
- **Confirmación visual:** El proceso termina tras 3 días con la siembra en medios cromogénicos donde se buscan colonias características (negras o rosas según el medio).



## CONCLUSIONES Y MENSAJES FINALES

**Fiabilidad:** La correcta toma de muestras es el paso más crítico para asegurar que los resultados del laboratorio sean fiables (“grabar a fuego”).

**El agua como vehículo:** No se debe perder de vista que el ambiente de granja es favorable para los patógenos y el agua es su principal vía de transmisión.

**Objetivo de potabilidad:** A pesar de las dificultades, el objetivo debe ser acercarse lo máximo posible a los valores de potabilización para proteger la salud animal.

Indicadores como *E. coli* y *Enterococcus* alertan sobre contaminación fecal y fallos en la bioseguridad, mientras que los gérmenes totales reflejan la higiene del sistema y la presencia de biofilms.

▸ Los análisis de patógenos específicos como *Salmonella* o *Campylobacter* son complejos y costosos, requiriendo protocolos de varios días y medios de cultivo selectivos. Por ello, es vital mantener programas de monitoreo continuo con muestreos representativos en depósitos y bebederos. La fiabilidad de los resultados depende de una correcta toma de muestras bajo condiciones de asepsia y el mantenimiento de la cadena de frío. **Factores como el calor estival favorecen la proliferación bacteriana, haciendo necesario intensificar los controles en verano.**

Finalmente, el agua debe considerarse un vehículo crítico de transmisión de enfermedades que impacta directamente en la productividad animal.

**¡Muchas gracias!**



**Grupo de Comunicación Agrinews S.L.**

*Avinguda de Jaume Recoder, 17, 08301 Mataró,  
Barcelona (España)*

*[info@grupoagrinews.com](mailto:info@grupoagrinews.com)*

*Tel: +34 93 115 44 15*