

Indicadores bacterianos no habituales de la calidad de aguas naturales

Sara Ávila de Navia¹, Sandra Mónica Estupiñán Torres¹, Flor Helena Chavarro² y Diana Alejandra Acero²

1. Docentes Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Calle 28 N. 5 A 02 Bogotá, Colombia; sestupinan@unicolmayor.edu.co

2. Egresadas Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Calle 28 N. 5 A 02 Bogotá, Colombia

Recibido 14-II-2013 Corregido 9-IV-2013 Aceptado 1-V-2013

ABSTRACT

Unusual bacterial indicators of the quality of natural waters.

Aeromonas spp. and *Pseudomonas* spp. are present in water and have been proposed, as trophic status indicators are a public health hazard because they are opportunistic pathogens. Colombian legislation does not address these microbial genera as indicators of microbial water quality. This study seeks to enrich the information that supports the inclusion of *Aeromonas* spp. and *Pseudomonas* spp., as indicators in the Standards of the microbiological quality of water in Colombia. Eleven points were evaluated water sources Chicaque Natural Park in the rainy season (November 2010) and dry season (August 2011). We used the membrane filtration technique, and identification was performed using Crystal rapid biochemical tests. Were identified *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* and other Gram negative bacilli, in the two seasons. In rainy season found a lower count of *Pseudomonas* spp., while counts of *Aeromonas* spp. was higher in this same period. We suggest more studies continue to support its inclusion in the standards as indicators of the microbiological quality of water in Colombia.

KEY WORDS

Pseudomonas, *Aeromonas*, water quality, microorganisms, membrane filtration, microbiological quality

RESUMEN

Aeromonas spp. y *Pseudomonas* spp. están presentes en el agua y han sido propuestos como indicadores de su estado trófico, son un riesgo para la salud pública debido a que son patógenos oportunistas. La normativa colombiana no contempla a estos géneros microbianos como indicadores de la calidad microbiológica del agua. Este estudio busca enriquecer la información que sustente la inclusión de *Aeromonas* spp. y *Pseudomonas* spp., como indicadores en las Normas de la calidad microbiológica del agua en Colombia. Se evaluaron once puntos de las fuentes de agua del parque Natural Chicaque en época de lluvias (Noviembre del 2010) y época seca (Agosto del 2011). Se utilizó la técnica de filtración por membrana, y la identificación se realizó a través de pruebas bioquímicas rápidas Crystal. Se identificaron en las dos temporadas *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp., en particular *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas hydrophila* y otros Bacilos Gram Negativos. En época de lluvias se encontró un menor recuento de *Pseudomonas* spp., mientras que el recuento de *Aeromonas* spp. fue mayor en ésta misma época. Se sugiere continuar realizando más estudios que sustenten su inclusión como indicadores en las normas de la calidad microbiológica de agua en Colombia.

PALABRAS CLAVE

Pseudomonas, *Aeromonas*, calidad del agua, microorganismos, filtración por membrana, calidad microbiológica

Las normas establecidas mundialmente contemplan la importancia de la calidad del agua para el mejoramiento de las condiciones de salud pública y el desarrollo de un país. La Organización Mundial de la Salud define el Agua Potable como apta para el consumo humano y para todos los fines domésticos habituales, incluida la higiene personal (OMS, 1993). Colombia no es la excepción, es un país rico en aguas naturales con un sistema de parques

nacionales naturales considerados reservas hídricas de la nación, tiene una normatividad incluida en la legislación del Estado que establece la protección y conservación del agua de consumo humano (Ministerio de Salud, 1998).

Actualmente, en el territorio colombiano existen cerca de 12 602 320,7ha declaradas patrimonio natural nacional por su valor de reserva ecológica, hídrica, cultural e histórica y hacen parte del Sistema de Parques Nacionales

Naturales (SPNN) (Parques Naturales Nacionales de Colombia, 2010). Estos territorios son fábrica de agua para uso en actividades cotidianas, agropecuarias e industriales; el agua además sustenta y mantiene la estabilidad de la flora y fauna de los ecosistemas nutriéndolos y embelleciéndolos con sus espejos y cascadas, con paisajes que disfrutaban turistas y visitantes que además se benefician con la riqueza hídrica que abastece hoteles, cabañas, restaurantes y demás servicios que prestan los parques.

El Parque Natural Chicaque, ubicado en el municipio de San Antonio del Tequendama está localizado a 30min de Bogotá, tiene aproximadamente 300ha, y se encuentran alturas entre los 2 100 y 2 720msnm, la temperatura oscila entre los 11°C y los 17°C" (Castro, 2010). En el parque nacen varias quebradas que abastecen las cabañas, la zona de camping y el refugio, por lo que estas fuentes de agua son de gran importancia para la población que interactúa con la reserva natural (Castro, 2010).

La Resolución 2115 del 22 de Junio del 2007, que señala características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano (Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2007), establece como bioindicadores a los coliformes totales y *Escherichia coli*, sin incluir a *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. que afectan el estado trófico de las aguas y algunas especies son patógenas. Países como España (Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, 1983) los incluyen en su normativa y los consideran indicadores esenciales de contaminación. Además *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. son considerados como microorganismos contaminantes de agua, según US-ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA, 2006) pero las normas, parámetros y leyes colombianas, no incluyen a estos agentes en el grupo de bioindicadores que evalúa la calidad del recurso natural.

Para establecer un indicador microbiológico se estudian los microorganismos presentes en las fuentes de agua ya que la microflora de cada ecosistema acuático difiere según las condiciones del medio (Pinilla, 1998); por ejemplo la normativa colombiana se ha acogido a las leyes internacionales en pro de la conservación y potabilización de las fuentes de agua para lo cual utiliza una concentración específica de cloro para su tratamiento, sin embargo no se tiene en cuenta microorganismos como la *Pseudomonas* spp. que posee una resistencia superior a estas concentraciones ya que su capa polisacárida forma una barrera física y química que protege a la bacteria de iones o moléculas como el cloro libre residual (APHA, 1995; Marchand, 2002).

En un medio acuático las *Pseudomonas* spp. producen bacteriocinas o piocinas que inhiben las comunidades de coliformes que son los microorganismos usados como indicadores de contaminación, por lo que "se puede afirmar que existen gérmenes que pueden encontrarse en el agua cuando no se detectan los coliformes mencionados en los indicadores de la norma. Lo que se debe a mayor capacidad de supervivencia de los microorganismos patógenos" (Marchand, 2002).

Lo anterior demuestra que hay ausencia en el agua de coliformes y por esta razón se considera apta para el consumo humano, sin embargo, se encuentran *Pseudomonas* spp; por lo que usar solamente coliformes como indicadores es insuficiente para garantizar el control de la calidad del agua.

Se han descrito diversas especies del género *Aeromonas* en el hombre que infectan heridas, y están asociadas a numerosas patologías de peces de interés en acuicultura, lo que provoca pérdidas económicas significativas. (Castro et al., 2002).

Este estudio evaluó la presencia de *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. en aguas naturales del parque Natural Chicaque para proponer estos microorganismos como bioindicadores, debido a la importancia que representa a la salud humana y animal, y en consideración a la afluencia de turistas que a diario visitan el parque, los cuales podrían desarrollar enfermedades infecciosas producidas por estos microorganismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de agua de once sitios ubicados dentro del área que comprende el Parque Natural Chicaque según los criterios para puntos de recolección de las muestras establecidos en la Resolución 0811 del 2008 (Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2008). En cada sitio se ubicó la coordenada geográfica en formato grados, minutos y segundos, mediante un sistema de posición geográfica (GPS) conectado al Sistema Geodésico Mundial (WGS84).

Las muestras se obtuvieron según la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2004) y la de grifos según la Norma Técnica Colombiana (NTC) 813 (ICONTEC, 2007). El muestreo se realizó en época de lluvia (Noviembre de 2010) y época seca (Agosto de 2011). Los puntos de toma de muestra fueron: (1) Nacedero de la parte alta de la portería, (2) Grifo del baño de la portería, (3) Estación de bombeo de la zona alta de camping, (4) Nacedero del afluente de la quebrada La Playa, (5) Grifo de la alberca de la zona de camping, (6) Bocatoma de la quebrada La Playa,

(7) Grifo de la cocina del refugio, (8) Intersección sendero de la cascada con la quebrada Chicaque, (9) Cascada, (10) Segundo afluente camino a la cascada, (11) Quebrada Chicaque parte baja.

Para el recuento de Unidades Formadoras de Colonia (UFC/100ml) se utilizó la técnica de filtración por membrana, el agar Cetrimide y selectivo *Pseudomonas-Aeromonas*. El aislamiento de Unidades Formadoras de Colonia se hizo con subcultivos en los mismos agares. Para los controles positivos se utilizaron cepas ATCC 27 853 para *Pseudomonas aeruginosa* y 7 966 para *Aeromonas hydrophila*, en los controles negativos se usó agua destilada estéril. La identificación de los microorganismos aislados se realizó con las pruebas bioquímicas rápidas BBL Crystal.

RESULTADOS

El recuento de Unidades Formadoras de Colonia UFC/100ml del género *Pseudomonas* spp. es más alto en época seca que en época de lluvias (Cuadro 1).

En la época de lluvias el recuento de UFC/100ml del género *Aeromonas* spp. es bajo en seis de las once muestras

y en época seca el recuento es alto en tres de las once muestras (Cuadro 1)

Se aisló *Pseudomonas aeruginosa* de las muestras de aguas naturales del Parque Natural Chicaque en época de lluvias en seis sitios de los once analizados con un promedio de recuentos de 104,91UFC/100ml, valor que se considera bajo en comparación con el promedio de recuentos obtenido para la época seca de 245,6UFC/100ml, en los cuales *Pseudomonas aeruginosa* se aisló en cuatro muestras de las once analizadas. El libre acceso de la fauna del Parque a las fuentes de agua es una de las causas más evidentes de contaminación a lo que se le suma la deficiente educación ambiental de algunos turistas que dejan desechos durante el recorrido ecológico y acceden a las fuentes de agua con zapatos, ropa y envases plásticos donde han consumido alimentos.

Se aisló *Aeromonas hydrophila* de las muestras de aguas naturales del Parque Natural Chicaque en época de lluvias en siete sitios de los once analizados con un promedio de recuentos de 73UFC/100mL, número bajo en comparación con el promedio de recuentos obtenido para la época seca 136,36UFC/100 ml, en la cual se aisló en solo tres muestras de las once analizadas. El recuento mayor de

CUADRO 1
Recuento de UFC/100ml de *Pseudomonas* spp.y *Aeromonas* spp.en época de lluvia y época seca

Recuentos			
<i>Pseudomonas</i> spp.		<i>Aeromonas</i> spp.	
Época de lluvias uFC/100ml	Época seca uFC/100ml	Época de lluvias uFC/100ml	Época seca uFC/100ml
23	86	0	0
24	>300	0	>300
2	240	0	>300
1	256	20	>300
15	140	80	0
>300	>300	37	0
>300	>300	12	0
12	180	66	0
20	>300	88	0
19	>300	0	0
38	>300	>300	0

Cada fila es una muestra.

UFC/100ml para *Aeromonas hydrophila* en la época seca puede atribuirse al aumento de la temperatura del agua, similar al estudio en México donde “se obtuvo los mayores recuentos cuando la temperatura ambiente superó los 20°C (Castro et al., 2002)”.

Durante el muestreo se aislaron varias especies bacterianas que se muestran en el Cuadro 2.

DISCUSIÓN

La presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en aguas naturales del Parque Natural Chicaque sugiere posibles factores de contaminación fecal proveniente de heces animales o humanas en los sitios donde se aisló tanto para la época de lluvias como para la época seca; esta especie no se considera una bacteria autóctona del agua (Arcos, Ávila, Estupiñán & Gómez, 2005) y es altamente patógena causante de infecciones en membranas mucosas como ojos, nariz, boca, garganta (Marchand, 2002). La capacidad inhibitoria que posee las *Pseudomonas* spp. de las especies de coliformes descrita por (Marchand, 2002) representa

un gran riesgo a la salud ya que “es posible consumir agua con índice coliformes cero los cuales podrían estar inhibidos por *Pseudomonas* spp. (Marchand, 2002).”

La presencia de *Aeromonas hydrophila* en aguas naturales del Parque Natural Chicaque se debe a que son microorganismos “considerados autóctonos del medio acuático (Castro et al., 2002)”, sin embargo es un enteropatógeno que causa gastroenteritis, infecciones cutáneas y diseminadas, además tiene la capacidad de formar biofilms y de esta manera coloniza los sistemas de abastecimiento y las redes de distribución según lo descrito en un estudio realizado en México (Castro et al., 2002); lo cual explica el aislamiento de *Aeromonas hydrophila* en el Grifo de la alberca de la zona de camping, Grifo de la cocina del refugio, en la Estación de bombeo de la zona de camping y en el Grifo del baño de la portería donde el recuento fue incontable para la época seca.

La presencia de *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. en las muestras de agua analizadas de los sitios Grifo del baño de la portería, Estación de bombeo de la zona alta de camping, Grifo de la alberca de la zona de camping, Bocatoma de la quebrada la playa y Grifo de la cocina del refugio que

CUADRO 2

Especies de bacterias aisladas en época de lluvia y época seca.

Época de lluvias	Época seca
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>
<i>Chryseomonas luteola</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Pseudomonas putida</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Burkholderia cepacia</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

Cada fila es una muestra.

representan para el estudio los sitios de reservorio, almacenamiento y distribución, comprueba la deficiente protección física de los reservorios, la inadecuada limpieza y desinfección de las redes de distribución que permite la acumulación de sedimentos y la proliferación microbiana similar a lo descrito en el estudio realizado en Lima- Perú. (Marchand, 2002)

Es fundamental la inclusión de *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas* spp. como indicadores para el análisis microbiológico de la calidad del agua en Colombia, ya que al ser estas bacterias patógenas oportunistas, tienen un gran impacto en la salud pública.

CONCLUSIONES

Se aislaron *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. en las aguas naturales del Parque Natural Chicaque. Los resultados obtenidos, junto con los reportados por otros autores, confirman la necesidad de incluir estos microorganismos como indicadores microbiológicos en la Normativa para la calidad del agua en Colombia con el fin de minimizar los riesgos sanitarios para la población.

REFERENCIAS

- APHA. (1995). Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 th Edition. Recuperado de www.umass.edu/tei/mwwp/Acrobat/sm9010-40intro.PDF
- Arcos, M., Ávila, S., Estupiñán, S. & Gómez, A. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 4, 69-79.
- Boletín Oficial del Estado. (1983). Orden de 27 de Julio de 1983, por la que se establecen los métodos oficiales de análisis microbiológicos de aguas potables de consumo público. B.O.E núm. 193, 13/8/1983. Agencia estatal Boletín oficial del estado. Madrid, España. Recuperado de www.boe.es/aeboe/consultas/bases_datos/doc.php?id=BOE-A-1983-21936
- Castro A. (2010). Naturaleza virgen a 2.200 metros. Blog. Información Parque Natural Chicaque. Recuperado de <http://m.alejandra-castro.over-blog.com/article-informacion-parque-natural-chicaque--37413998.html>.
- Castro, G., Aguilera, M., Giono, S., Hernández, C., Rodríguez, M., Lara, F., Aparicio, G. & Figueras, M. (2002). El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 22, 206-216.
- EPA. Office of Water. (2006). *Aeromonas: Human Health Criteria Document*. Recuperado de <http://yosemite.epa.gov/water/owrcatalog.nsf/e673c95b11602f2385256ae1007279fe/a2dc5aa92c903422852571730046a862!OpenDocument>
- ICONTEC. (2007). Norma técnica colombiana 813. Normas oficiales para la calidad del agua en Colombia. Numeral 2. Definiciones. Recuperado de <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacg/e/normas2/Norma-Col.pdf>
- Marchand, E. (2002). Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en lima metropolitana. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/marchand_p_e/tesis_completo.pdf
- Ministerio de la protección social, Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial.(2007). RESOLUCIÓN 2115 DEL 22 DE JUNIO DEL 2007. Características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Capítulo 1. Art. 1. Recuperado de http://cra.gov.co/apc-aa/files/37383832666265633962316339623934/resolucion_2115_07.pdf
- Ministerio de Salud. (1998). DECRETO 475 DEL 10 DE MARZO DE 1998. (Normas técnicas de calidad del agua potable, marzo 10, 1998).. Bogotá, Colombia. Recuperado de [www.cra.gov.co/normas_clasificadas.shtml?s=c&m=b&cmd\[101\]=c-1-27Normas%20de%20Calidad%20de%20Agua%27](http://www.cra.gov.co/normas_clasificadas.shtml?s=c&m=b&cmd[101]=c-1-27Normas%20de%20Calidad%20de%20Agua%27)
- Organización Mundial de La Salud. (1993). Ginebra Directrices para la calidad del agua potable. Vol. 1: Recomendaciones. Segunda edición. Recuperado de www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq2v1/en/
- Organización Mundial de La Salud. (2004). Guías para la calidad del agua potable. Vol. 1: Recomendaciones. 2004. Tercera edición. Recuperado de http://www.bvsde.paho.org/CDGDWQ/Biblioteca/GuiasGDW/GDWQ%20OMS%20en%20Esp/gdwq0506_Final%20Spanish.pdf
- Parques Nacionales de Colombia. (2010). Recuperado de www.parquesnacionales.gov.co/PNN/portel/libreria/php/decide.php?patron=0
- Pinilla, G. (1998). Indicadores biológicos en ecosistemas acuáticos continentales de Colombia. Bogotá – Colombia: Editorial Universidad Jorge Tadeo Lozano.

