

MICROBIOLOGIA Y MEDIO AMBIENTE

Los Microorganismos como Indicadores de Contaminación

VICTORIANO CAMPOS PARDO

Universidad Católica de Valparaíso
Instituto de Biología.
Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas.

RESUMEN

Se efectuó una revisión de los microorganismos utilizados como indicadores en contaminación de aguas. Se analiza el papel que éstos desempeñan en los sistemas acuáticos, la presencia de patógenos en aguas contaminadas, y las características ideales que debe presentar un buen indicador.

Finalmente se discuten los indicadores microbianos más utilizados, señalando las ventajas y desventajas de su aplicación.

El aumento exponencial de la población, su concentración en centros urbanos y el extraordinario desarrollo de las actividades del hombre, en relación a los recursos naturales, han afectado en forma alarmante los sistemas aire, tierra y agua.

Desde una perspectiva general, la contaminación incide en estos tres sistemas, como un todo, o sea, en el macrosistema Biósfera. Sin embargo, varía para cada uno de ellos según el tipo y grado de contaminación. El agua por constituir las tres cuartas partes de la Biósfera es el sistema más afectado, y desde el punto de vista microbiológico es de especial interés por ser un elemento esencial de consumo humano, por la posibilidad de supervivencia de los microorganismos en ella, y porque representa una de las vías más importantes de difusión de enfermedades.

La contaminación es un fenómeno complejo, que involucra mucho más que la simple presencia de microorganismos patógenos para el hombre, sin embargo el uso apropiado de un indicador, o una combinación de ellos permite detectar las primeras señales de ésta y tomar las medidas necesarias para proteger al hombre y al medio ambiente.

Microorganismos en el sistema acuático.

En un determinado cuerpo de agua, se pueden encontrar diferentes grupos de microorganismos, a) autóctonos, los que se encuentran en proporciones definidas, interactuando entre sí, con la biota y con los factores abióticos. Mantienen un cierto equilibrio, con predominio de las especies favorecidas por la suma de las condiciones ambientales idóneas para su desarrollo. Generalmente no significan riesgos de enfermedad para el hombre.

b) Alóctonos, presentes en aguas contaminadas y que de acuerdo a su densidad podrían significar un riesgo para el hombre, y un incremento del stress

SUMMARY

A revision of the microorganisms used as indicators of water pollution is given. The role of microorganisms in aquatic systems, the presence of pathogens in contaminated water and the ideal features of a good indicator of water quality are analyzed.

Finally, the most used microbial indicators are discussed, pointing out the advantages and disadvantages of their application.

para otras especies, alterando el equilibrio del medio. El efecto de stress sobre la diversidad de especies en poblaciones naturales es significativo, ya que estas disminuyen y el ecosistema se hace más inestable (1).

Los organismos patógenos en que el agua juega un importante rol de difusión, corresponden a especies de bacterias, virus, hongos, protozoos y helmintos, que se resumen en la Tabla I junto a las enfermedades que provocan.

No todos los organismos señalados en la Tabla I pueden encontrarse en un caso determinado de contaminación, pues su presencia depende de múltiples factores, tales como: geográficos, culturales, socio-económicos y sanitarios, o por otra parte de la habilidad de los microorganismos para sobrevivir a la predación, antibiosis, toxinas, fagos, naturaleza físico-química del agua, sedimentación, absorción, coagulación, radiación solar, etc. (2-11).

Las vías de transmisión de enfermedades pueden ser diversas. Algunas de ellas dependen de los diferentes usos que se hacen del agua (Fig. 1); a partir de la contaminación de ríos y lagos con aguas residuales y desechos sólidos, los microorganismos pueden llegar hasta el hombre, en el agua de bebida, en productos regados con aguas contaminadas, al aspirar aerosoles producidos por el uso cada vez más difundido del riego por aspersión (12); del baño con ingesta de agua, en ríos, lagos o mar contaminados con aguas residuales en grandes volúmenes y con altas densidades de patógenos; o del consumo de mariscos crudos, que crecen en zonas contaminadas, en especial bivalvos que realizan filtración y concentran los microorganismos.

Los Microorganismos: como Indicadores de la Calidad del Agua.

Se puede definir como indicador a un microorganismo determinado que permita señalarnos un

riesgo potencial de adquirir una enfermedad. La utilización de indicadores en este sentido, ha significado un gran avance en relación a la solución de problemas en Salud Pública (13). Sin embargo, su utilización es aún limitada con referencia a la "salud" del medio ambiente.

En la práctica no es posible determinar todos los microorganismos patógenos, presentes en un cuerpo de agua contaminada, ya que su diversidad es variable, y su baja densidad en muchos casos dificulta su detección, por lo cual la utilización de indicadores es ventajosa. Así las pruebas para detectar indicadores microbiológicos deben efectuarse en tiempos razonablemente cortos y sin grandes complicaciones técnicas, y en este sentido se ha realizado un gran esfuerzo científico para simplificarlas y reducir los tiempos de determinación, lo que es de gran importancia para los controles sanitarios.

Las características que debería cumplir un microorganismo indicador ideal, de acuerdo a Metcalf (14), serían las siguientes:

- a) No encontrarse en el agua contaminada.
- b) Estar presente en el agua contaminada y en relación a los patógenos.
- c) Ser más abundante que los patógenos y su expresión guardar relación con el grado de contaminación.
- d) Sobrevivir más tiempo en el agua que los patógenos.
- e) No multiplicarse en el agua.
- f) Ser detectado en el menor tiempo posible, con técnicas simples y con un alto grado de exactitud.
- g) En lo posible empleando criterios microbiológicos comunes y tener aplicación universal para diferentes tipos de aguas.

Un indicador que reúna estas condiciones aún no ha sido descubierto, pero se han propuesto y utilizado diferentes microorganismos que pueden presentar ventajas o desventajas de acuerdo al estudio que se pretenda realizar (Tabla 2).

Históricamente la primera relación entre epidemia y la utilización de agua de bebida contaminada se atribuye a Snow, durante una epidemia en Londres en el año 1854 (15).

Debido al hecho que la contaminación del agua es producida por las excretas del hombre y animales de sangre caliente, el primer paso consistió en caracterizar la microflora asociada a las materias fecales.

Los primeros estudios se remontan a 1885 en que Escherich la caracteriza, determinando los géneros bacterianos clasificados hoy como *Escherichia* y *Enterobacter*, que se incluyen junto a otros entre los organismos denominados coliformes. Estos, con técnicas relativamente simples (16) empleando tubos múltiples o filtros de membrana, pueden ser determinados en un tiempo reducido.

Posteriormente los trabajos de Eikman (17), permiten diferenciar los coliformes de origen humano o de animales de sangre caliente por su crecimiento a $44,5 \pm 0,2^\circ \text{C}$, además de sus características específicas.

Indicadores más Utilizados, sus Ventajas y Desventajas.

El grupo de microorganismos denominados coliformes ha sido utilizado como indicador desde fines del siglo pasado, debido a que se encuentran en altas densidades en excretas humanas y en las de animales de sangre caliente.

Los indicadores microbianos más empleados han sido: coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Streptococcus faecalis*. Sin embargo se han propuesto otros como: *Pseudomona aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Aeromona hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Candida albicans*, fagos y virus. Algunos de estos han sido utilizados eventualmente como indicadores y otros con fines específicos de investigación.

La experiencia en el uso de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* como indicadores, ha permitido establecer criterios, guías y estándares, de acuerdo al número de estos en el agua contaminada y en relación a datos epidemiológicos. Sin embargo los estándares establecidos suelen diferir entre países y aún entre estados en un mismo país.

La determinación de coliformes totales es de gran utilidad para aguas de bebida, pero no tiene la misma importancia en los sistemas naturales, por la presencia de coliformes autóctonos. Los coliformes fecales, un grupo más definido, son indicadores más específicos de contaminación fecal que los primeros, aunque también pueden presentar inconvenientes como por ejemplo: multiplicación en aguas, donde existen elevadas concentraciones de materia orgánica.

Por otra parte condiciones específicas pueden causar disminución en los valores de coliformes en relación a otros microorganismos. Se ha encontrado mayor sobrevivencia de algunos virus y bacterias patógenas que de coliformes fecales y establecido la relación entre coliformes fecales y *Salmonella* spp (18), no así con virus. No obstante, todas estas relaciones deben considerarse con cautela. (19)

Investigadores, en especial europeos, han preferido emplear como indicador *Escherichia coli*, que es más específico, a pesar que requiere pruebas adicionales para su determinación, es relativamente sensible a la cloración y tiene problemas de sobrevivencia en medios naturales. (9)

Algunos autores han encontrado sobrevivencias similares en *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., (20-21), mientras otros encuentran mayor sobrevivencia para *Salmonella* spp. (22)

Los estreptococos fecales, *Streptococcus faecalis* y *Streptococcus faecium* que se encuentran en las heces, también son muy útiles como indicadores de contaminación fecal, y permiten a través de la relación entre coliformes fecales y estreptococos fecales, definir si el origen de ésta es humana o animal. El número de estreptococos fecales en animales de sangre caliente es mucho mayor que el de coliformes fecales; esta relación es inversa en el hombre. *Streptococcus faecalis* y *Streptococcus faecium* presentan el

inconveniente de que han sido aislados de aguas contaminadas con residuos fecales de animales inferiores, y se han encontrado biotipos de *Streptococcus faecalis* asociados a vegetales e insectos. (23)

Entre las bacterias anaerobias, *Clostridium perfringens*, está usualmente presente en el colon del hombre y animales de sangre caliente. Clostridios y otras bacterias esporuladas sobreviven mejor en el medio ambiente, pero la resuspensión de esporas del sedimento puede alterar la relación de este organismo y la fuente de contaminación. Los anaerobios tanto *Clostridium* como *Bifidobacterium*, antes que puedan ser utilizados ampliamente como indicadores, requieren mejores métodos para su aislamiento e identificación.

Microorganismos como: *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Candida albicans* y fagos que han sido seriamente considerados como indicadores de calidad de aguas recreacionales, presentan el inconveniente de ser poco frecuentes en heces humanas de individuos normales. Por otra parte, *P. aeruginosa* y *A. hydrophila* son considerados organismos acuáticos y pueden estar presente en el agua sin tener relación con contaminación.

Los microorganismos señalados como indicadores en la Tabla 2: *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Candida albicans*, *Bifidobacterium*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophyla*, *Vibrio parahaemolyticus*, esterofagos y virus, pueden ofrecer algunas ventajas en casos muy específicos.

Por su sobrevivencia, y porque una sola partícula puede originar una enfermedad, sería de gran utilidad contar con un indicador viral, sin embargo, sería necesario simplificar las técnicas, que por su complejidad y costo son hoy impracticables como procedimientos de rutina.

TABLA 1

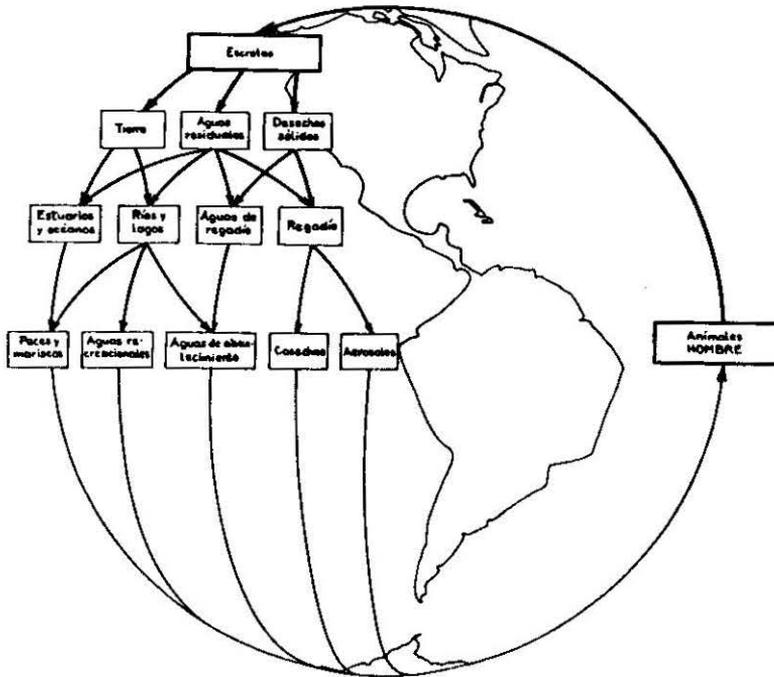
Bacterias, Virus, Protozoos y Helmintos, patógenos para el hombre, encontrados en aguas contaminadas

Enfermedad	Agente
BACTERIAS	
Disenteria	<i>Shigella spp.</i>
Cólera	<i>Vibrio cholerae</i>
Diarreas y gastroenteritis	<i>Campylobacter fetus</i> <i>E. coli</i> enteropatógeno <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Fiebre tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
Fiebres paratifoideas	<i>Salmonella spp.</i>
Leptospirosis	<i>Leptospira sp.</i>
Tularemia	<i>Francisella tularensis</i>
Enfermedad de legionarios	<i>Legionella pneumophila</i>
VIRUS	
Gastroenteritis	Virus tipo Norwalk
Hepatitis infecciosa, Poliomiélitis, Cuadros respiratorios varios, etc.	<i>Enterovirus (Polio, Coxsackie, Echo, Hepatitis A. etc.)</i> <i>Adenovirus Reovirus</i>
PROTOZOOS Y HELMINTOS	
Disenteria amebiana	<i>Entamoeba histolytica</i>
Disenteria	<i>Balantidium coli</i>
Giardiasis	<i>Giardia lamblia</i>
Ascariasis	<i>Ascaris lumbricoides</i>
Dracontiasis	<i>Dracunculus medianensis</i>
Enterobiasis	<i>Enterobius vermicularis</i>
Capilariasis hepática	<i>Capillaria hepática</i>
Hidatidosis	<i>Echinococcus granulosus</i>
Esquistosomiasis	<i>Schistosoma sp.</i>
Tricuriasis	<i>Trichuris trichiura</i>

TABLA 2 INDICADORES MICROBIANOS Y SU POSIBLE USO

INDICADOR Y/O PATOGENO	U S O					
	Aguas de bebida	Efluentes	Aguas de piscina	Aguas recreacionales	Aguas de crecimiento de mariscos	Agua de regadío
Coliformes totales	X					
Coliformes fecales	X	X	X	X	X	X
<i>Escherichia coli</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Streptococcus faecalis</i>		X		X	X	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		X	X	X		
<i>Clostridium perfringens</i>	X			X	X	
<i>Bifidobacterium spp</i>				X	X	
<i>Salmonella spp</i>					X	X
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>					X	
<i>Candida albicans</i>		X	X	X	X	X
Bacteriófagos	X	X		X	X	
Virus	X	X	X	X	X	

FIG. Nº1 - VIAS DE CONTAMINACION MICROBIANA ENTRE EL HOMBRE Y EL MEDIO.



BIBLIOGRAFIA

H.T. ODUM. (1971). Environment. Power and Society, Wiley, New York.

A.F. CARLUCCI and D. PRAMER. (1959) Appl. Microbiol. 7, 388

- (1960) Appl. Microbiol. 8, 251.

- (1960) Appl. Microbiol. 8, 254.

P.R. BURKHOLDER, L.M. BURKHOLDER and L.P. ALDOVAR. (1960) Bot. mar 2, 149.

N. MARTINEZ, C. CASILLAS, L.V. RODRIGUEZ, I. RODRIGUEZ and L. TORRES. (1966) Bot. mar. 9,

N. MARTINEZ, L.V. RODRIGUEZ and C. CASILLAS, (1964) Antimicrob. Agents and Chemother. 68.

J.M. SIEBURTH. (1968) Advances in Microbiology of the Sea, I, 63.

R. MITCHELL. (1968). Water Research, Pergamon Pres, 2 535.

H.P. SAVAGE and N.B. HANES. (1971). Jour. WPCF, 43 Nº 5, 854.

M.A. FAUST, A.E. AOTAKY and M.T. HARGODON. (1975). Appl. Microbiol. 30, 800.

C.A. SORBER et al Jour. (1976) . Water Poll. Control Fed., 48, 2367

S.M. MORRISON. (1978). Jour Food. Product. 41, 304.

T.G. METCALF. (1978). Water Pollution Microbiology Vol. 2 Wiley, New York.

Report on the cholera outbreak in the parish of St. James, Westminster, U.K. During the autumn of 1954. (Churhill, London 1955). Snow on the cholera/Hafner.

Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, 14th ed., American Public Health Assoc., Washington, D.C. p. 922 - 937 (1977).

C.FIJKMAN, (1904) Zentr. Bakteriöl, Parasitenk. Abst. orig. 1, 27, 742

K. GRUNNET, A.S. GURDSTRUP y G.J. BONDE (1970) Revue Internationale d'Océanographie Médicale, 17, 165-177.

G.I. BONDE. (1977). Advances in Aquatic Microbiology. Academic Press Vol. 1

D.O. MITCHELL and M.I. STARKZYK. (1975). Can. J. Microbiol. 21, 1420

G.T. ORLOB. (1956). Sewage Indust. Waste. 28, 1147

L.W. SLANETZ and C.H. BARTLEY. (1965). Health Lab. Sci. 2, 142.

E.E. GELDREICH, B.A. KENNER and P.W. KABLER. (1964). Appl. Microbiol. 12, 63.

ACCION ANTIFUNGICA DE ALLIUM SATIVUM

WALDO LAZO

Departamento de Ciencias Ecológicas
Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas
Universidad de Chile.

RESUMEN

Se presenta una breve revisión sobre las propiedades medicinales de *A. sativum*, que abarca desde aquellas conocidas desde hace mucho tiempo a otras descubiertas recientemente.

Las propiedades curativas de *A. sativum* se conocen desde la antigüedad: ya Plinio en su "Historia Naturalis" recomendaba la ingestión de bulbos de *A. sativum* como tratamiento para la consunción, desórdenes gastrointestinales y tumores. Hipócrates lo prescribió como agente curativo para los tumores del útero. Y así, en épocas posteriores se lo siguió usando en el tratamiento de enfermedades de etiología tan diversa que su enumeración llega a producir desconcierto. Entre ellas: hipertensión, lepra, artritis, diabetes, disentería, cáncer, arterioesclerosis, ascariasis, tuberculosis, tiña, pie de atleta, adenopatías de origen no determinado, prevención de cristalurias y urolitiasis por fosfatos y oxalatos cálcicos, etc.

Pero solamente en 1944 Cavallito y Bayley comunicaron el aislamiento de la alicina ("alil-tiosulfínico alil ester") que es el principal activo contra bacterias y hongos. El principio de la alicina es la aliina (S-alil L-cisteína sulfoxido) que es biológicamente inactiva, inodora y termoestable. Al macerar los bulbos de *A. sativum* se libera una enzima, la alinasa, que actúa sobre la aliina y la transforma en alicina. Como este último compuesto es poco estable, para el estudio de sus propiedades biológicas debe usarse preparados recientes de él (y tal vez esta ha sido una de las causas que ha dificultado hasta ahora su empleo en medicina) o bien resignarse a comer bulbos frescos de *A. sativum*, lo cual generalmente es resistido por los enfermos y por los médicos que, por razones muy comprensibles prefieren no recetarlos a sus pacientes. A pesar de esto, especialmente en los últimos 25 años se han acumulado evidencias muy significativas sobre la acción de *A. sativum* en diversas patologías: Weisberger y Pensky en 1957 demostraron que la alicina inhibía el desarrollo de tumores en lauchas, Kroening confirmó este hallazgo en 1964. Según Lewis (1977) diversos médicos han comunicado la curación de pacientes cancerosos tratados con *A. sativum*. En nuestro país un médico nos informó de la curación de un niño canceroso debido a la ingestión en dosis terapéuticas de bulbos de *A. sativum*. Al parecer el mismo tratamiento habría curado también dos casos del Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (AIDS). Augusti en 1977 demostró el efecto hipocolesterolemico de los bulbos de esta

SUMMARY

A brief review of the medicinal properties of *A. sativum* that encloses those that have been known for a long time and the ones that have recently discovered is presented.

planta. En China y Japón la han usado durante siglos y aun actualmente para tratar la hipertensión arterial. En Japón es reconocida, incluso, por la Farmacopea Japonesa.

A principios de este siglo Mc Duffie en Nueva York y W.C. Minchin en Dublín señalaron que la administración de *A. sativum* constituía el mejor tratamiento para la tuberculosis pulmonar. Durante la Segunda guerra mundial se evitó el desarrollo de procesos sépticos en las heridas que los médicos británicos trataron con extractos de bulbos de *A. sativum*.

De los compuestos químicos que se han aislado de esta especie se ha demostrado que la alicina es responsable de la acción bactericida, fungicida, hipotensora y al parecer también de la acción antineoplásica; la alistatina I y la alistatina II han mostrado gran efectividad contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus spp*; el disulfuro y el trisulfuro de dialilo causan la acción insecticida de esta planta.

Pero es su acción antimicótica la que nos interesa especialmente. Digamos al respecto que tanto el ungüento de extracto de *A. sativum* como el extracto acuoso-alcohólico se han usado exitosamente en el tratamiento de las dermatofitosis.

Yamada y Azuma en 1977 comunicaron la inhibición total del desarrollo, a los tres días de cultivo, de los siguientes hongos mediante las concentraciones de alicina que se indican:

<i>Candida albicans</i>	6.25 ug/ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	12.5 ug/ml
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1.57 ug/ml
<i>T. rubrum</i>	1.57 ug/ml
<i>T. ferrugineum</i>	0.79 ug/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1.57 ug/ml
<i>Microsporium gypseum</i>	1.57 ug/ml
<i>Epidermophyton floccosum</i>	1.57 ug/ml

En nuestros ensayos hemos usado 3 cepas de *A. fumigatus*, dos de ellas provenientes de pacientes con aspergiloma pulmonar y otra de una paciente leucémica y con aspergilosis pulmonar. Empleamos trozos de bulbos frescos de *A. sativum* preparados comerciales de polvo de bulbos o bien extractos acuosos de este. Obtuvimos la inhibición total del desarrollo de *A. fumigatus* en caldo de carne glucosado

ARTICULOS BREVES

a las siguientes concentraciones y a las 48 horas de incubación:

A. sativum en polvo	1:400
extracto acuoso de bulbos	1:1000 al 1:3000 (según el extracto)

Al añadir yoduro de potasio se duplica la acción antifúngica in vitro de los extractos.

Caporaso y col. comunicaron que tras la ingestión de 25 ml de extracto de *A. sativum* se detectó actividad antimicótica en el suero no diluido de pacientes, media hora y una hora después de la ingestión. Entre los hongos cuyo desarrollo se inhibió estaban *Candida albicans*, *G. guillermondii*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*. No se detectó actividad antifúngica en la orina de estos pacientes a ninguna hora después de la administración oral del extracto.

BIBLIOGRAFIA

- AUGUSTI K.T. (1977). Hypocholesterolaemic effect of garlic *Allium sativum* Linn. Indian J. Exp. Biol. 15 : 489-490.
- BOLTON S., G. NULL y W.M. TROETEL. (1982). The medical uses of garlic fact and fiction. Am. Pharmacy. NS22 (8): 40-43.
- CAVALLITO, C.J. y J.H. BAILEY. (1944). Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. J. Am. Chem. Soc. 66: 1950-1951.
- CAPORASO N, S.M. SMITH, R.H.K. ENG. (1983). Antifungal activity in human urine and serum after ingestion of garlic (*Allium sativum*). Antimicrob. Agents Chemother. 23(5):700-702
- KROENING K. (1964). Garlic as an inhibitor for spontaneous tumors in mice. Acta Unio Intern. Contra Cancrum 20 (3): 855-856.
- LEWIS W.H., M.P.F. ELVIN-LEWIS. (1977). Medical Botany. N. York. 515 pp.
- SHARMA V.D., M.S. SETHI, A. KUMAR, J.R. BAROTRA. (1977). Antibacterial property of *Allium sativum* Linn. in vivo and in vitro studies. Indian J. Exp. Biol. 15 : 466-468
- WEISBERGER A.S., J. PENSKY (1957). Tumor-inhibiting effects derived from an active principle of garlic (*Allium sativum*) Science 126: 1112-1114.
- YAMADA Y, K. AZUMA (1977). Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicin. Antimicrob. Agents Chemother. 11 (4) : 743-749

AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi agradecimiento al Dr. Luis Ferrada U. por las facilidades de laboratorio que me concedió para desarrollar la parte experimental de este trabajo.