

CAPITULO III

Evaluación de indicadores bacteriológicos del agua del lago

Maria Laura Gambero^{1,2}, Estefanía Pereyra^{1,2}, Mariana García¹, Daniela Mónica Lombardo¹, Susana Bettera¹

¹Lab. Microbiología de Alimentos, Depto. Microbiología e Inmunología, Facultad de Cs. Exactas, Fco.-Qcas. y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto.² CONICET
E-mail: mgambero@exa.unrc.edu.ar

Introducción

Las normativas vigentes referidas a los recursos hídricos utilizados con fines recreativos (cuerpos superficiales de agua que se usan principalmente para baño y actividades deportivas), contemplan la necesidad de conocer el estado sanitario de las mismas, considerando que el usuario es quien está en contacto primario con el recurso y puede estar sujeto a enfermedades de transmisión hídrica. Además, es precisamente en los asentamientos de máxima concentración poblacional e industrial donde surgen los mayores requerimientos de medios de esparcimiento no contaminados por parte de una población siempre creciente (Nadal *et al.*, 2012; López Sardi *et al.*, 2016).

Los microorganismos patógenos que se encuentran en el agua de uso recreacional pueden producir enfermedades gastrointestinales, respiratorias febriles agudas e infecciones en ojos y oídos. Los estudios en los que se monitorean aguas recreativas afectadas por descargas directas o difusas de efluentes cloacales y/o industriales, que pueden tener un alto riesgo de contaminación a través de bacterias patógenas y de metabolitos tóxicos (producto de floraciones algales en cuerpos de agua eutrofizados), son muy útiles para evaluar la calidad microbiológica del agua y su impacto ambiental. Las investigaciones epidemiológicas realizadas en estos ambientes son de vital importancia para evaluar el estado sanitario de las aguas de uso recreativo, aunque la interpretación de los niveles guías o normativas debe ser realizada a la luz de factores locales como las estaciones del año, comportamiento de la población, aspectos socioculturales, ambientales y técnicos (Nadal *et al.*, 2012).

En Argentina y en muchos otros países, los recuentos de bacterias aerobias totales, coliformes totales y termotolerantes han sido y siguen siendo empleados como indicadores del posible deterioro bacteriológico de las aguas. Sin embargo, estos grupos no tienen una clara relación con las enfermedades gastrointestinales asociadas al baño recreativo en agua dulce, por lo que el rol de *Escherichia coli* es ampliamente reconocido como marcador (índice e indicador) de contaminación fecal (Nadal *et al.*, 2012).

Por otro lado, se ha evaluado la presencia de *Pseudomonas* sp. y *Aeromonas* sp. en aguas naturales. *Pseudomonas aeruginosa* está ampliamente distribuida en la naturaleza y puede encontrarse en heces, suelo, agua y aguas residuales, como así también en plantas y animales. Esta especie ha sido vinculada a infecciones asociadas con exposición a agua recreacional, por lo tanto, ha sido

propuesta como indicador de calidad de las mismas (Toranzos *et al.*, 2007). Por otra parte, el género *Aeromonas* incluye varias especies que crecen en ambientes con baja cantidad de nutrientes. Algunos estudios han encontrado una significativa correlación entre la presencia de *Aeromonas* y el estado trófico de las aguas dulces. Se describieron diversas especies asociadas a infecciones en humanos, tal como *Aeromonas hydrophila*, entre otras y aquellas relacionadas a numerosas patologías de peces y anfibios como por ejemplo *Aeromonas salmonicida* (Arcos Pulido *et al.*, 2005; Toranzos *et al.*, 2007).

Evaluar la calidad bacteriológica de aguas superficiales permite implementar medidas correctivas en beneficio de brindar la disponibilidad de un recurso hídrico adecuado, que permita mejorar la calidad de vida y la salud pública de los habitantes de la ciudad. En este marco, el objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de indicadores bacteriológicos del agua en el lago Dalcar con el fin de describir las condiciones existentes para su uso recreativo.

Metodología

Muestreos

Se tomaron y analizaron 20 muestras de agua a partir de cinco puntos ubicados en sitios perimetrales del lago Dalcar. Los lugares de muestreo seleccionados fueron: club (1), presa o vertedero (2), centro (3), entrada (4) y muelle viejo (5) (ver Figura 1 del Capítulo II). La frecuencia de toma de muestras fue realizada de acuerdo a las épocas del año, durante los meses de febrero (verano), abril (otoño), agosto (invierno) y noviembre (primavera) de 2017. Las muestras fueron recolectadas en envases de vidrio de boca ancha estériles de 500 mL de capacidad y conservadas en frío (4-6 °C) hasta su traslado inmediato al laboratorio, de acuerdo a la metodología sugerida por APHA, AWWA, WEF (2012).

Análisis bacteriológicos

Se realizó el recuento de bacterias aerobias totales (RAT), coliformes totales (CT), coliformes termotolerantes (CTT) y de *Escherichia coli* (EC). Además, se investigó la presencia de *Ps. aeruginosa* y *Aeromonas* sp., según la metodología descrita en APHA, AWWA, WEF (2012), CAA (2012) y Manual Bergey's (2004). Para la cuantificación de RAT se usó la técnica de recuento en placa en agar Plate Count (APC), expresando el resultado en unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/mL). El recuento de CT, CTT y *E. coli* se realizó mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples ó de número más probable (NMP). Para CT y EC se utilizó el medio de cultivo caldo Mac Conkey, mientras que para CTT se usó caldo Lactosa-Bilis-Verde brillante al 2%. La identificación de EC se realizó mediante las siguientes pruebas bioquímicas: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskawer y Citrato (IMViC). Para la investigación de *Ps. aeruginosa* se utilizó caldo Asparagina y para *Aeromonas* el medio Indol, confirmando la presencia de ambas bacterias a partir de pruebas metabólicas (oxidasa, crecimiento a 42 °C, agar F para *Pseudomonas*, agar P para *Pseudomonas*, Indol, fermentación de glucosa, utilización de urea, presencia de la enzima fenilalanina deaminasa y crecimiento en agar Mac Conkey).

Resultados

Indicadores bacteriológicos

Los resultados obtenidos a partir de esta investigación describen las condiciones bacteriológicas del agua del lago Dalcázar durante el período de un año en cuatro épocas de muestreo, comenzando en verano, seguido de otoño, invierno y primavera. Este estudio permitió realizar un diagnóstico de la situación referida a la calidad microbiológica del mencionado recurso hídrico.

La Tabla 1 muestra los valores de los estadísticos más importantes de los distintos indicadores bacteriológicos (RAT, CT, CTT y EC) observados durante las cuatro épocas del año en todos los sitios de muestreo. Los resultados obtenidos muestran que los recuentos bacterianos más elevados se observaron en verano y otoño, en los cinco sitios de muestreo. Sin embargo, en algunos puntos (1 y 5, club y muelle viejo, respectivamente) se observaron altos recuentos de CT y CTT en invierno y primavera. En todos los sitios de muestreo los valores más elevados de RAT se observaron en la época de verano, seguido de otoño. El valor máximo fue de $2,6 \times 10^6$ ufc/mL en el sitio 3 (centro), mientras que los valores más bajos se observaron en invierno y primavera. Con respecto a CT, CTT y EC, los recuentos más altos se observaron en el sitio 4 (entrada) en otoño y fueron de $1,1 \times 10^5$ NMP/100 mL, $1,1 \times 10^5$ NMP/100 mL y $2,3 \times 10^3$ NMP/100mL, respectivamente. Se observó desarrollo de *Ps. aeruginosa* en todos los sitios de muestreo durante la época de verano, mientras que en otoño solamente se encontró en el sitio 2 (presa) (Figura 1). En contraste, *Aeromonas* sp. no se aisló en ninguno de los sitios de muestreo durante las cuatro épocas del año evaluadas.

Tabla 1. Estadísticos de los indicadores bacteriológicos evaluados

INDICADOR BACTERIOLÓGICO	ÉPOCA DEL AÑO											
	VERANO			OTOÑO			INVIERNO			PRIMAVERA		
	m	Máx.	Mín.	m	Máx.	Mín.	m	Máx.	Mín.	m	Máx.	Mín.
RAT (ufc/mL)	2x10 ⁶	3x10 ⁶	9x10 ⁵	2x10 ⁴	8x10 ⁴	2x10 ³	674	1x10 ³	430	678	2x10 ³	300
CT (NMP/100 mL)	3x10 ³	9x10 ³	230	2x10 ⁴	1x10 ⁵	9	138	480	0	196	480	4
CTT (NMP/100 mL)	8	40	0	2x10 ⁴	1x10 ⁵	9	0	0	0	142	480	0
EC (NMP/100 mL)	12	40	0	468	2x10 ³	0	7	28	0	14	30	0

Nota: RAT: bacterias aerobias totales, CT: coliformes totales, CTT: coliformes termotolerantes y EC: *Escherichia coli*. m: recuento promedio; Máx: recuento máximo; Mín: recuento mínimo

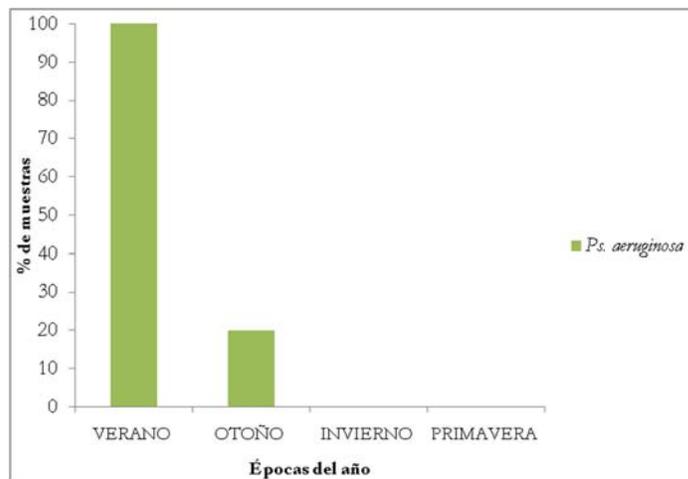


Figura 1. Porcentaje de muestras con presencia de *Pseudomonas aeruginosa* durante la época de muestreo.

Indicadores de contaminación fecal

La OMS (Organización Mundial de la Salud) en las “Pautas para la seguridad de aguas recreativas” (2003), describe que los dos componentes principales requeridos para evaluar la contaminación fecal de las aguas de recreación son: la evidencia del grado de influencia de contaminación fecal y el recuento de bacterias indicadoras fecales. Teniendo en cuenta lo sugerido por estas guías, en esta investigación se evaluaron y analizaron los siguientes indicadores: coliformes termotolerantes (CTT) y *Escherichia coli* (EC). La Figura 2 muestra la distribución espacial y temporal de las densidades de ambos indicadores. Los resultados revelaron que en el sitio 5 (muelle viejo), durante las cuatro épocas del año muestreadas, se encontraron valores significativos de estos indicadores. Este resultado muestra que en este sitio puntual podría existir un aporte permanente de una fuente de contaminación fecal.

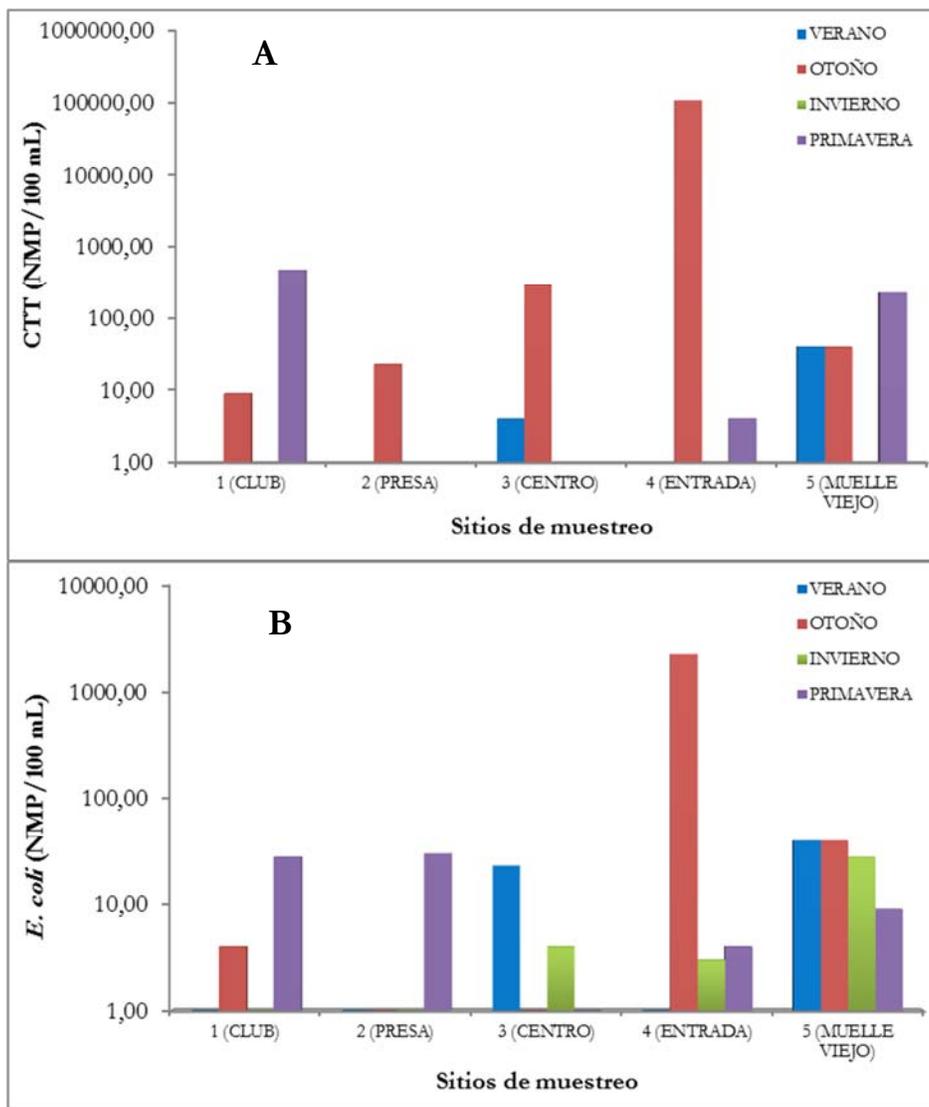


Figura 2. Distribución espacial y temporal de indicadores de contaminación fecal. **A:** CTT y **B:** *E. coli*.

Actualmente, en nuestro país no se cuenta con información epidemiológica que permita establecer correlaciones entre densidades de microorganismos patógenos y/o microorganismos indicadores y efectos sobre la salud de los individuos que utilizan el agua con fines recreativos. Por lo tanto, la elección de los parámetros microbiológicos de calidad y el establecimiento de niveles guía se basan en información proveniente de otros países y que fueron tomadas para la elaboración de las “Directrices sanitarias para uso seguro de aguas recreativas” por el Ministerio de Salud (Resolución Ministerial 125/2016).

En base a estas directrices, se analizaron los resultados obtenidos en este estudio teniendo en cuenta como valor guía el recuento de *E. coli* de 293 NMP/100 mL para aguas de uso recreativo moderadamente frecuente (Tabla 2).

El sitio 4 (entrada) presentó un recuento de *E. coli* superior al límite establecido por esta normativa, solamente en la época de otoño. Mientras que en los otros sitios, los recuentos obtenidos fueron menores al límite en todas las épocas de muestreo (rango de 0 a 40 NMP/100 mL).

Tabla 2. Límites de confianza superiores provisorios (LCS) correspondientes a muestras aisladas*

INDICADOR	Tasa de Gastroenteritis aceptable cada 1000 individuos	Media geométrica de la densidad del indicador (MGI) [colonias/100 mL]	LÍMITE DE CONFIANZA SUPERIOR PROVISORIO PARA UNA MUESTRA AISLADA [COLONIAS/100 mL]			
			LCS (75%) Uso altamente frecuente	LCS (82%) Uso moderadamente frecuente	LCS (90%) Uso escasamente frecuente	LCS (95%) Uso infrecuente
Enterococos	8	33	61	77	107	150
<i>Escherichia coli</i>	8	126	135	293	410	573

*Tomada de “Directrices sanitarias para uso seguro de aguas recreativas, Ministerio de Salud de Presidencia de la Nación (2017)

Discusión

A pesar de que el lago Dalcar es uno de los patrimonios más significativos que tiene la ciudad de Río Cuarto y que desempeña un importante rol social, existen pocos estudios integrales que evalúen la gestión ambiental de este espacio en relación al uso recreativo y la calidad del agua, factor primordial para garantizar la protección de la salud de los usuarios. En la bibliografía se encuentran estudios realizados por Novoa *et al.* (2006) y Mancini *et al.* (2012), quienes evaluaron la composición algal, parámetros bacteriológicos, el dinamismo del estado ambiental y diferentes aspectos de la ictiofauna, además de otras comunidades (ver Capítulo I).

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos del análisis bacteriológico del agua del lago Dalcar. Los altos valores hallados durante verano y otoño muestran que estas épocas

serían las de mayor riesgo para la salud humana, los cuales estarían vinculados principalmente a la presencia de *Ps. aeruginosa* y a los indicadores fecales (coliformes termotolerantes y *E. coli*). La carga de coliformes suele ser mas frecuente en estas épocas por el ingreso de agua provenientes de escorrentías posteriores a las precipitaciones estivales (Kostyla *et al.*, 2015; Gambero *et al.*, 2017). Por lo tanto los resultados obtenidos en este estudio estarían vinculados a los escurrimientos superficiales provenientes del perilago, donde suele observarse una importante cantidad de animales domésticos en especial perros. Cabe destacar que *Aeromonas* sp. no fue aislada en ningún sitio durante las distintas épocas de muestreo, resultado alentador en relación a la alta diversidad de peces presentes en el lago, ya que dentro de este género bacteriano existen especies patógenas de los mismos que han sido detectadas anteriormente en el agua del lago Dalcar (Mancini *et al.*, 2000).

Por otra parte, los recuentos significativos de *E. coli* y coliformes termotolerantes observados en las cuatro épocas del año en el sitio 5 (muelle viejo) demostraría que existe un aporte constante al lago Dalcar de alguna fuente contaminante de origen fecal. Sin embargo, en ninguno de los casos los valores estuvieron por encima de la normativa vigente, a excepción del sitio 4 (entrada) durante la estación de otoño donde se observaron recuentos superiores.

Las aguas de uso recreativo son definidas por el Código Alimentario Argentino (CAA) como “aquellas que hallándose en tramos de cursos o en riberas de playas fluviales, marinas, lagunares, de embalse o en lugares adyacentes, se las emplea o usa para fines turísticos, deportivos, recreación y esparcimiento público”. También son descriptas por la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación (SRHN, 2003) como aquellos cuerpos superficiales de agua que se utilizan principalmente para baño y actividades deportivas. A su vez, la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2003), clasifica el uso recreativo de contacto en dos tipos diferentes: a) aguas de contacto primario o directo, que comprende aquellos usos o actividades recreativas en los que el cuerpo humano es sumergido en su totalidad (natación, buceo, *ski* acuático) lo que implica un riesgo de ingestión involuntaria de agua; y b) aguas de contacto secundario o indirecto, relacionadas con las actividades deportivas en las que se tiene sólo un contacto accidental con el agua. Para el análisis de los resultados obtenidos en este estudio, se categorizó al lago Dalcar dentro del uso recreativo secundario o indirecto, ya que se trata de un recurso hídrico en el que se practica pesca durante todo el año y se utilizaría a futuro para la realización de deportes náuticos. Este tipo de uso recreacional presenta un riesgo moderado a bajo en cuanto a la exposición frente a agentes patógenos debido a la posibilidad de ingesta involuntaria de una cantidad significativa de agua por parte de los usuarios (WHO, 2000). Por lo tanto, se requiere del diseño de un sistema de gestión y monitoreo adecuado para la evaluación de la calidad bacteriológica del lago Dalcar.

La falta de estudios integrales y de monitoreo continuos en relación a la calidad del agua en el lago Dalcar, genera la necesidad de producir información en pos de preservar el ecosistema y aportar a la gestión de este espacio de importancia social y cultural para la ciudad de Río Cuarto. La integración de estos resultados al análisis completo de la calidad ecológica del lago es el principal aporte de este capítulo, ya que posibilita detectar la necesidad de trabajar en un plan de gestión para orientar al manejo de este recurso tanpreciado.

Conclusiones

- Los valores más elevados de los distintos indicadores bacteriológicos se observaron durante verano y otoño.
- El agua del lago Dalcar presenta una contaminación fecal de tipo puntual en el sitio 5 (muelle), por lo que resulta indispensable analizar la/s fuentes contaminantes.
- En general, los recuentos de *E. coli* no superaron los límites guías establecidos por la normativa vigente. Por lo tanto, el lago Dalcar podría utilizarse para recreación, aunque se debería evaluar su uso durante la época de otoño ya que se encontraron valores superiores al límite establecido en el sitio 4 (entrada).
- La ausencia de *Aeromonas* sp., presente en años anteriores, resulta un signo positivo para la salud del ecosistema.
- Con los resultados obtenidos en esta investigación, es necesario y recomendable inventariar las principales fuentes de contaminación puntual y/o dispersa, con el objetivo de tomar las medidas correctivas correspondientes y evaluar en el corto plazo si existe una mejora de la calidad luego de la implementación del nuevo aporte de agua a través de la bomba instalada en febrero de 2018.

Referencias

- APHA, AWWA, WEF (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation). (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd Edition. Part 9000: Microbiological examination. Editores: Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D. y Clesceri, L.S. USA.
- Arcos Pulido, M. P., Ávila de Navia, S. L., Estupiñán Torres, S. M. y Gómez Prieto, A. C. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. Nova – Publicación científica. Vol. 3 (4). Pág. 69 – 79.
- Brenner, D. J., Krieg, N. R. y Staley, J. R. (2004). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2: The Proteobacteria. Part B: The Gamma proteobacteria. Ed. Springer Science & Business Media. ISBN-13: 978-0387950402. ISBN-10: 0387950400.
- C.A.A. (Código Alimentario Argentino). (2012). Capítulo XII: Bebidas hídricas, agua y agua gasificada (última consulta: septiembre de 2017).
- Directrices sanitarias para uso seguro de aguas recreativas. Módulo II: Directrices sanitarias para enteropatógenos y microorganismos oportunistas en agua ambiente (Resolución Ministerial 125/2016). Departamento de Salud Ambiental, Dirección Nacional de Determinantes de la Salud, Subsecretaría de Relaciones Institucionales.
- Gambero, L., Blarasin, M., Bettera, S. y Giuliano Albo, J. (2017). Genetic diversity of *Escherichia coli* isolates from surface water and groundwater in a rural environment. Journal Water and Health. 15 (5): 757 - 765. DOI: 10.2166/wh.2017.281.

- Kostyla, C., Bain, R., Cronk, R. y Bartram, J. (2015). Seasonal variation of fecal contamination in drinking water sources in developing countries: A systematic review. *Science of the Total Environment*, 514: 333 - 343.
- López Sardi, E. M., García, B., Reynoso, Y., González, P. y Larroudé, V. (2016). Calidad del agua para usos recreativos desde las perspectivas de la seguridad e higiene laboral y la salud pública. Estudio de caso. IX Congreso Argentino de Ingeniería Industrial - COINI 2016. Trabajos y posters ISBN 978-987-1896-74-5. Editorial Universitaria de la Universidad Nacional U.T.N. Argentina.
- Nadal, F., Ruiz, M., Rodríguez, M. I., Halac, S. y Olivera, P. (2012). Evaluación de la calidad del agua para uso recreativo del Embalse san Roque, Córdoba, Argentina. <http://www.ina.gov.ar/pdf/CIRSA-Evaluacion-valoracion-de-la-calidad-de-agua-del-Embalse-SanRoque-para-uso-recreativo-2012.pdf>.
- Novoa, M., Luque, M. L., Lombardo, D. y Martínez de Fabricius, A. (2006). Estudio ficológico de lagos urbanos artificiales del sur de la provincia de Córdoba. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 41 (3-4): 203 - 231.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2003). Guidelines for safe recreational water environments. Volumen 1: Coastal and freshwaters.
- Toranzos, G. A., Mcfeters, G. A., Borrego, J. J. y Savill, M. (2007). Detection of microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters. En: Hurst, C., Garland, J., Mills, A., Crawford, R., Lipson, D., Stetzenbach, L. editors. *Water microbiology in public health. Manual of Environmental Microbiology*, 3th edition. Pág. 249 - 264. Washington, DC.