

Evolución del crecimiento bacteriano en aguas envasadas

J. SAN MARTIN. *Catedrática de Hidrología Médica*. Madrid

Introducción

Esta comunicación es parte de un trabajo en el que hemos pretendido estudiar la evolución que sufren las bacterias de aguas minerales envasadas. Para ello se ha seguido la evolución, durante varios meses, analizándose periódicamente las aguas y observando la variación del crecimiento de las bacterias contenidas en el agua y la posibles diferencias entre los distintos medios de conservación (frío, calor, luz, oscuridad) y de embotellado (vidrio, plástico), y combinados.

Material y métodos

Las muestras de agua fueron tomadas de las embotelladas recientemente en unos casos y, en otros, de las aguas embotelladas que se encuentran en el mercado.

En todos los casos se trata de aguas minerales de débil mineralización que se consumen, ordinariamente, como de mesa.

En las aguas embotelladas recientemente se ha realizado el estudio del crecimiento a lo largo del tiempo, desde el momento del embotellado y, en las adquiridas en el mercado, se estudia la posible influencia en el desarrollo de los microorganismos de las distintas formas de conservación y envasado.

En ambos grupos se hicieron determinaciones del **grado bacteriológico de contaminación** y el **estudio del desarrollo de microorganismos aerobios** para conocer las bacterias existentes en las aguas, utilizando los métodos habituales de estudio.

Grado bacteriológico de contaminación

Se ha llevado a cabo en ambos grupos:

— Estudio cuantitativo de **bacterias coliformes** cultivadas en caldo lactosado (Difco), incubados en estufa a 37° C durante 24 - 48 horas.

— Estudio cuantitativo de **coliformes fecales** cultivados en medio LEVINE (Difco) en placas de Petri a 37° C, durante 24 - 48 horas.

— Estudio cuantitativo de **enterococos**, practicada la siembra en medio azida-sódica EVA Broth (Difco), en estufa a 37° C durante 48 horas.

— Estudio cuantitativo de **bacterias sulfitorreductoras** por siembra en medio WILSON-BLAIR y llevado a estufa a 37° C durante 92 horas.

La lectura de los resultados se llevó a cabo con lupa de 10 aumentos.

Cultivo de aerobios

Las siembras se realizaron en ambos grupos, en placas de Petri de 10 cm de diámetro sobre agar nutriente, incubadas en estufa a 37° C.

En el estudio sobre el desarrollo de los gérmenes se hizo también la incubación a 20° C.

Las lecturas se llevaron a cabo con lupa a las 24, 48 y 72 horas y a la semana de la siembra, utilizando una lupa de cuatro aumentos.

De las muestras recientemente embotelladas se practicaron siembras en el momento de la recogida, cada hora en las cinco primeras horas, a las 24, 48 y 72 horas y a la semana del embotellado.

En el grupo en el que se intenta ver diferencias en la forma de conservación y envasado se ha practicado la determinación de gérmenes aerobios cada semana.

Resultados

En el análisis bacteriológico para conocer el **grado de contaminación** se observó en algunos tubos, crecimiento de colonias típicas de coliformes, pero la prueba de confirmación en tubos de fermentación en caldo lactosado, dieron falsas reacciones.

En el resto de los gérmenes investigados (coliformes fecales, enterococos y clostridium) el resultado fue negativo en todos los casos.

Por lo que respecta al **cultivo de aerobios** en el grupo de siembra inmediata al embotellado, hemos observado un aumento del crecimiento de colonias del 300 % de las 24 a las 48 horas y de un 10.000 % de las leídas a las 72 horas con respecto a las 48 horas, y de un 100 % de las de siete días respecto a las leídas a las 72 horas.

Podemos afirmar que las bacterias de las aguas estudiadas que crecen a 20° C tienen el máximo desarrollo a las 72 horas cultivadas en agar nutriente.

En las incubadas a 37° C se observa también un aumento importante del número de colonias habiéndose también podido comprobar que en el caso del crecimiento a 20° C, tienen un período de latencia prácticamente nulo, mientras que las que crecen a 37° C su período de latencia es aproximadamente de 72 horas.

La interpretación de este hecho puede ser que la temperatura a la cual se desarrollan estas bacterias en el manantial está más próxima a 20° que a 37° C. Además, el crecimiento global del número de colonias es mayor en el caso de los cultivos a 20° C que en los de 37° C.

Por lo que respecta a las variaciones en el crecimiento bacteriano en los distintos medios de conservación (temperatura y luz) y de envasado (vidrio, plástico) podemos señalar que no hemos encontrado diferencia apreciable en el número de colonias en las distintas circunstancias, si bien, puede apreciarse una coloración verdosa que cubre las placas que corresponden al agua de las botellas conservadas a 20° C y en la oscuridad, tanto en las de vidrio como en las de plástico.

Se han estudiado las colonias bacterianas y han podido ser identificadas como especies de los géneros *Achromobacter* y *Flavobacterium*, levaduras saprofitas del tipo *Saccharomyces* y algún hongo perteneciente a los géneros *penicillium* y *Aspergillus* también saprofita, que se encuentran muy frecuentemente en el medio ambiente, suelo y agua. Entre la abundante flora bacteriana existen *pseudomonas fluorescens*, correspondientes a las colonias amarillo verdosas que aparecen en las placas con agua de las botellas conservadas en la oscuridad a 20° C.

Todas las especies encontradas son saprofitas y propias del agua estudiada, como hemos podido comprobar en la constancia de aparición en los distintos análisis practicados.

Para terminar tenemos que señalar que las aguas mineromedicinales no tienen que cumplir las normas dadas para las aguas potables, en relación con los gérmenes aerobios que le sean propios, aunque en ningún caso se admite la existencia de gérmenes patógenos o de contaminación.

RESULTADOS EN LAS PLACAS

Placa 1a:

1. *Achromobacter liquefaciens* (colonias blanco-hueso).
2. *Chromobacterium aurescens* (colonias amarillas).
3. Levaduras tipo *Saccharomyces* (colonias amarillas y rosas).
4. *Nocardia* ssp. (colonias amarillo y oro).

Placa 2a:

1. Levaduras tipo *saccharomyces*.

Placa 3a:

1. Levaduras tipo *Saccharomyces* (colonias amarillas y rosas).
2. *Nocardia* ssp. (colonias amarillo oro).
3. *Achromobacter liquefaciens* (colonias blanco-hueso).

Placa 4a:

1. Levaduras tipo *saccharomyces* (colonias amarillas).
2. *Bacillus subtilis* (colonias blancas).

Placa 1b:

1. Levaduras tipo *Saccharomyces* (colonias amarillas y rosas).
2. *Nocardia* ssp. (bacterias amarillo-oro).
3. *Penicillium* y *aspergillus*.
4. *Achromobacter liquefaciens* (colonias blanco-hueso).

Placa 2b:

1. *Pseudomonas fluorescens* (colonias amarillo-verdosas).

Placa 3b:

1. Levaduras tipo *saccharomyces* (colonias amarillas y rosas).
3. *Penicillium* y *Aspergillus*.

Placa 4b:

1. *Penicillium* y *Aspergillus* (colonias blancas).
2. Levaduras tipo *Saccharomyces* (colonias amarillas y rosas).
3. *Achromobacter liquefaciens* (colonias blanco-hueso).