

ESTUDIO DE LA SUPERVIVENCIA DE DISTINTOS PATÓGENOS EN AGUA TERMAL Y AGUA DE RIO

- 1) Conde Vendrell, M. Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
- 2) Gallardo, C. S. Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
- 3) Torres, M. Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
- 4) Rodríguez Míguez, L. Doctor en Medicina. Profesor titular de la Universidad de Vigo.
- 5) Araujo, P. Licenciado en Geología. Profesor titular interino de la Universidad de Vigo.
- 6) Rodríguez López, L. A. Doctor en Biología. Profesor titular interino de la Universidad de Vigo.

RESUMEN

Las aguas naturales (de río y aguas termales de fuentes o balnearios) sólo excepcionalmente son estériles, si bien los microorganismos que viven en ellas en concentraciones normales no producen patologías en humanos (Regueiro, 19). El problema radica en que los patógenos pueden aparecer en este tipo de agua por contaminaciones exógenas, tales como de aguas residuales o de materiales de desecho, y causar distintas enfermedades en humanos, como gastroenteritis o diversas infecciones. (Borrego y Figueras, 3).

En este trabajo se ha estudiado la capacidad de supervivencia de siete microorganismos patógenos, siendo éste un factor importante a tener en cuenta a la hora de evaluar la calidad y uso de estas aguas, pues si se interrumpe el foco de contaminación, al cabo de un tiempo prudencial el agua no presentará ya riesgos para los consumidores. (Craun, 4; Warbunton y Austin, 18).

Palabras clave: agua termal, agua de río, patógenos, supervivencia

RESUMEN

L'eau naturelle (de rivières et d'eau de source ou balnéaires) elles sont exceptionnellement stériles, mais

les microorganismes qui habitent là-bas à concentration normale ils ne sont pas dangereux pour les humains (Regueiro, 19). Le problème se trouve que les microorganismes pathogènes, peuvent apparaître dans ce type de l'eau pour contaminations externes, comme l'eau résiduelle ou de matériaux de déchets à cause du différents maladies qui apparaissent dans les humains, comme gastrite ou diverses infections (Borrego y Figueras, 3).

Dans ce travail on a étudié la capacité de survie de sept microorganismes pathogènes. La capacité de survie est un facteur important pour évaluer la qualité et l'usage de ces eaux, parce que si on arrête le point de contamination à la fin d'un temps prudent l'eau ne présente pas déjà risques pour les consommateurs (Craun, 4; Warbunton y Austin, 18).

Most clef: Eau thermal, eau de fleuve, pathogènes, survivance

SUMMARY

Natural waters (fresh waters and thermal waters of different sources) only exceptionally are sterile, even though its microorganisms, in normal concentrations, do not give pathologies in human (Regueiro, 19), although pathogens can appear in this type of water by exogenous pollutions, such as residual waters or waste materials, who cause different diseases in human, as gastroenteritis or various infections (Borrego y Figueras, 3).

In this work the survival capacity of seven bacterial pathogen have been studied, because of is an important factor for evaluating the quality and use of this waters, and when the pollution area is interrupted after variable time upon the microorganisms, water will not present already risks for the consumers (Craun, 4; Warbunton y Austin, 18).

Key words: Thermal water, fresh water, pathogens, survival

INTRODUCCIÓN

El agua termal puede estar embotellada en tal caso con temperatura ambiente (20°C) o ser consumida directamente. Las especies bacterianas aisladas en las aguas mineromedicinales son numerosas y muy variables, constituyendo su flora normal, aunque las fuentes termales sean consideradas como ecosistemas con condiciones extremas. Condiciones normales para el crecimiento de los microorganismos se consideran la temperatura ambiental o del cuerpo humano, la presión parcial de oxígeno en la atmósfera, la neutralidad del pH, y la abundancia de nutrientes, siendo consideradas condiciones extremas aquellas que se desvían sustancialmente de los términos considerados como normales (Regueiro. 19).

Los ambientes extremos presentan un efecto selectivo sobre los microorganismos. Así, la diversidad de especies disminuye con el incremento de la adversidad ambiental y cuanto mayor sea la severidad de un factor ambiental menor es el número de microorganismos que pueden crecer activamente en esas condiciones, aunque, en general, nunca se desarrollan microorganismos patógenos en aguas termales (Rheinheimer. 16).

Sin embargo, este tipo de agua puede sufrir contaminación microbiológica debido a infiltraciones subterráneas si existe algún río en sus proximidades, pues el agua de río pueden llegar hasta la fuente pudiendo influir notablemente en su población bacteriana y asimismo en su supervivencia (Craun. 4).

Una de las mayores fuentes de contaminación de las aguas mineromedicinales lo constituyen las aguas residuales que llevan como flora normal microorganismos fecales (Lippy; Waltrip. 11; Rheinheimer. 16).

La presencia de estos microorganismos patógenos en un agua de consumo es potencialmente peligrosa, puesto que, aún encontrándose en número reducido, si el consumidor se haya en un estado de deficiencia inmunológica las consecuencias pueden derivar a un cuadro clínico importante y por otro lado, si este número reducido incluye microorganismos productores de enterotoxinas, puede suponer un riesgo muy grande.

Cualquier agua contaminada por heces, aguas residuales, etc., y no depurada, es peligrosa. Asimismo, cuanto menor es el tiempo transcurrido entre el momento de la contaminación y el empleo del agua, es decir, cuanto más rápida sea la transmisión, mayor es el peligro de infección.

Las bacterias patógenas son productoras de dermatitis y problemas oculares (*Staphylococcus aureus*), síntomas gastrointestinales leves o severos (enterobacterias, *Enterococcus* y *Vibrio*), salmonelosis (*Salmonella*) y diversas infecciones (*Pseudomonas aeruginosa*) (Davis; Long; Donald; Ashbolt. 5).

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el tiempo de supervivencia de diferentes patógenos humanos capaces de producir enfermedades, a dos temperaturas diferentes (20°C y 43°C) y en dos tipos de agua (agua termal y agua de río) utilizando recuentos en placa con medio no selectivo, TSA (Agar Soja Tripton. Cultimed, España).

MATERIAL Y MÉTODOS

Bacterias utilizadas. Para este trabajo se han utilizado cepas de siete patógenos habituales en contaminaciones de aguas, aisladas de aguas termales contaminadas (ver tabla 1) por medio de la

Cepas bacterianas	Lugar del aislamiento	Fecha del aislamiento
<i>Escherichia coli</i> (Lev 22)	Fuente del Tinteiro (Ourense)	1997
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Psd 19)	Fuente del Tinteiro (Ourense)	1997
<i>Enterococcus faecium</i> (SB 12)	Fuente del Tinteiro (Ourense)	1997
<i>Citrobacter freundii</i> (SS 10)	Fuente del Tinteiro (Ourense)	1997
<i>Staphylococcus aureus</i> (CS 9)	Fuente del Tinteiro (Ourense)	1997
<i>Salmonella</i> (SS 2)	Fuente del Tinteiro (Ourense)	1997
<i>Vibrio</i> (TCBS 25)	Fuente del Tinteiro (Ourense)	1997

Tabla 1-. Cepas usadas en el experimento.

técnica de filtración por membrana, con membranas de 0.22µ (Albet, España) y medios selectivos (Levine, Salmonella-Shigella Agar, Pseudomonas Agar, Slatnens-Bartley Agar, Chapman-Stone Agar y TCBS Agar, Cultimed, España). Las cepas fueron cultivadas en agar soja-tripticaseína a 37°C durante 24 horas y fueron almacenadas en agar soja-tripticaseína a 4°C bajo aceite mineral y congeladas a -70°C con un 15% de glicerol.

La identificación de cada cepa aislada fue confirmada de acuerdo con el criterio bioquímico de Koneman (Koneman; Allen; Dowell; Janda; Sommers; Winn. 9) mediante las pruebas de Gram, Movilidad, Catalasa, O/F, reducción de Nitratos, pruebas del Rojo de Metilo y Voges-Proskauer, reacción del Indol, Oxidasa, KOH, utilización del Citrato, DNAasa, Arginina dihidrolasa, Lisina y Ornitina decarboxilasa, prueba de la Bilis-esculina, producción de ácido y gas de Glucosa, producción de ácido de Lactosa, Ramnosa, Sacarosa, Manitol, Manosa, Rafinosa, Melibiosa, Arabinosa, Inositol, Adonitol y Sorbitol.

Agua. Para crear el microcosmos se han esterilizado los dos tipos de aguas utilizadas, termal y de río, mediante filtros de celulosa de 0.22µ (Albet, España). Una vez esterilizadas, se transfirieron 15mL de cada tipo de agua a tubos de cristal esterilizados mediante autoclave.

Preparación del inóculo. Los patógenos se hicieron crecer en caldo nutritivo (TSB, Cultimed, España) a 37°C durante 8 horas. Las células en fase exponencial se lavaron por centrifugación (3.000 X g durante 15 minutos) y tras lavar 3 veces con solución salina estéril (0.9% [peso/volumen]), el pellet fue suspendido en solución salina, inoculado en caldo nutritivo fresco e incubado a 37°C durante 18 horas. La suspensión final fue inoculada en los tubos con agua de río y termal hasta obtener una densidad final aproximada de 10⁷ UFC/mL (por lectura en espectrofotómetro, λ= 610 nm). Posteriormente a la inoculación, cada cepa se incubó a 20°C y 43°C, temperatura ambiente y temperatura de surgencia en agua termal.

Supervivencia y recuento de los patógenos. Para determinar la supervivencia de los diferentes patógenos se utilizó el método de contaje directo en placa con el fin de determinar el período de tiempo que los patógenos son capaces de crecer y mantenerse viables en los dos tipos de aguas testadas (Alkan; Elliot; Evison. 1) (Allen. 2) (Davies; Dulbecco; Eisen; Ginsberg. 6) (Flint. 7) (García-Lara; Menon; Servais; Billen. 8) (Lim; Flint. 10)

(McCarthy. 12) (Mitchell; McAvoy. 13) (Munro; Colwell. 14) (Muñiz.; Jiménez; Toranzos. 15) (Thorsen; Enger; Norland; Hoff. 17). Durante el experimento, una vez inoculados los tubos, a intervalos de 2 a 10 días se realizaron diluciones seriadas y alícuotas de 0.1mL fueron sembradas directamente en el medio TSA, con el objeto de obtener un número de colonias entre 30-300 (número aproximado que se considera fiable). Todas las placas fueron incubadas a 37°C durante 24h.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados de los ensayos de supervivencia se muestran en las gráficas 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

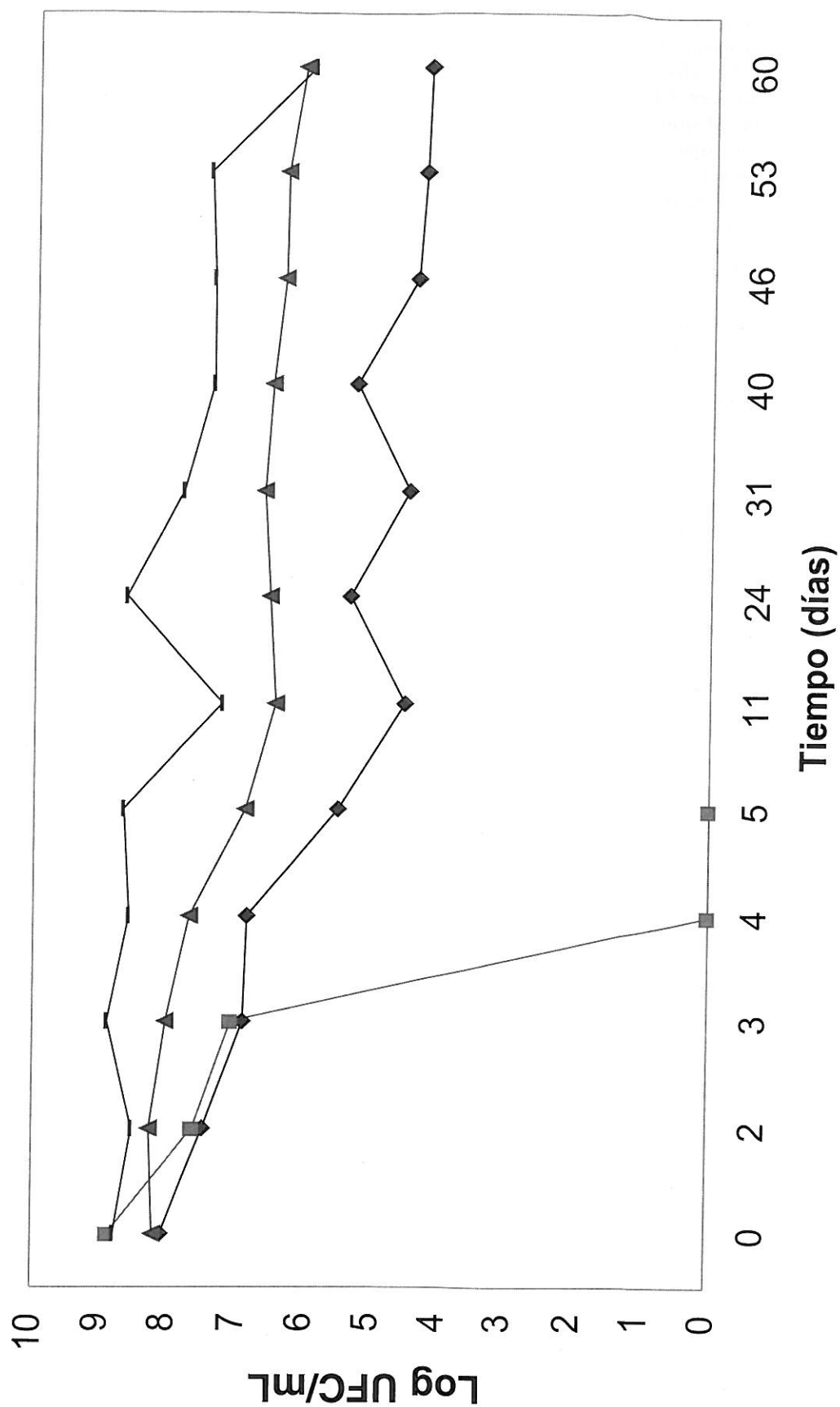
Estos resultados muestran que, a 20°C, el agua termal es capaz de mantener viables los siete patógenos estudiados, durante un período de tiempo más largo que el agua de río, mientras que a 43°C no existen diferencias importantes entre ellos, llegando a contaje cero a los pocos días, excepto *Salmonella* (SS 2), *Escherichia coli* (Lev 22) y *Pseudomonas aeruginosa* (Psd 19), que son capaces de sobrevivir durante más de 2 meses en agua de río mientras que en agua termal no sobrepasan la primera semana.

Existen diversos factores que van a disminuir la población bacteriana, como es la composición del agua, presencia de agentes tóxicos, predación y parasitismo, bacteriófagos, disminución de nutrientes y la temperatura a la que se mantengan los microorganismos. (Borrego; Figueras. 3)

La temperatura es un factor muy importante ya que en aguas termales, el agua suele emanar entre 40-50°C, cifras elevadas que pocas bacterias son capaces de soportar durante mucho tiempo a excepción de las termófilas, por lo cual si aparece una población muy alta o con presencia larga en el tiempo, cabría suponer que existe una contaminación continua de ese microorganismo en la fuente termal (Rheinheimer. 16).

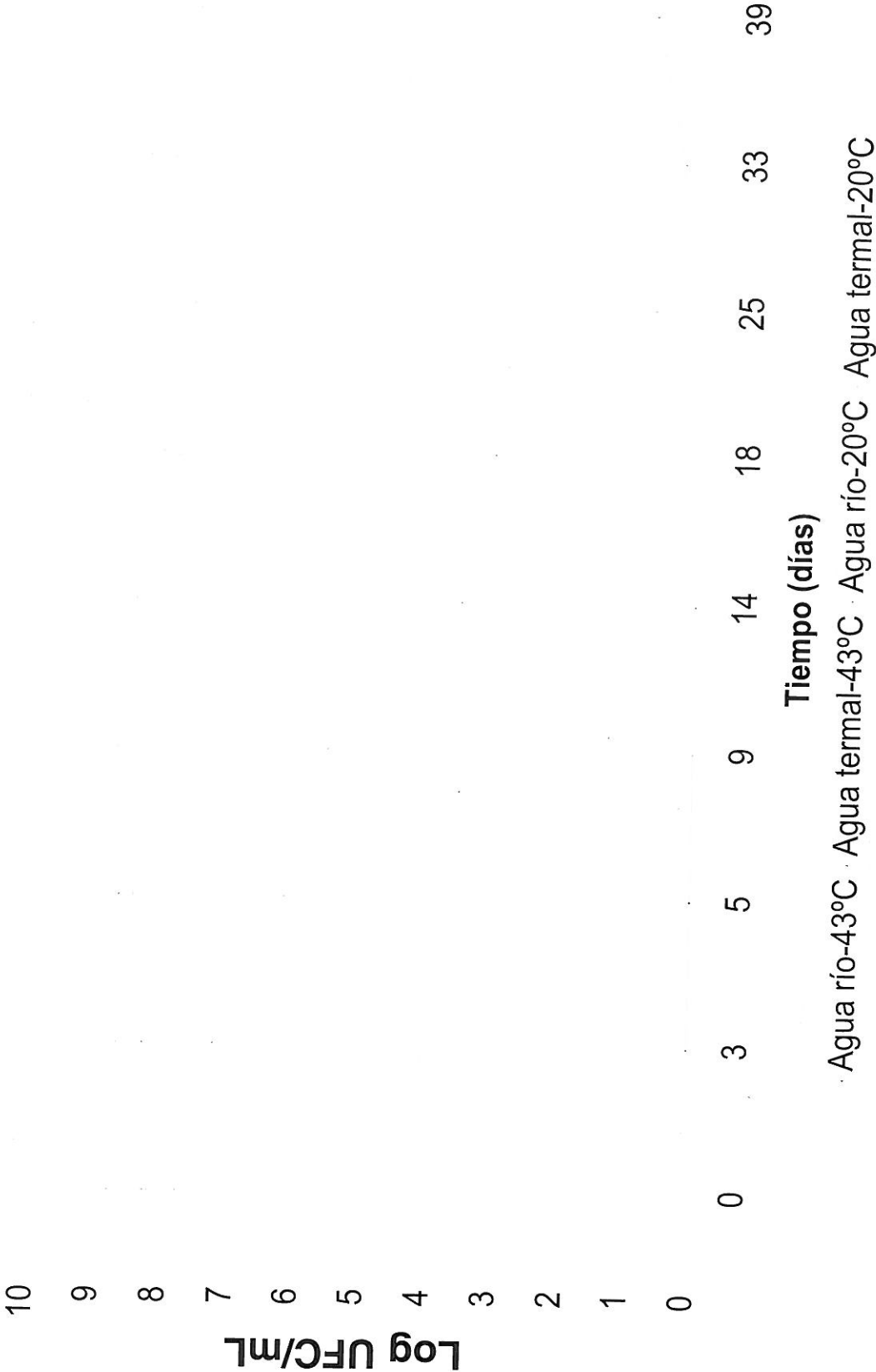
La bibliografía sugiere que el agua termal es un medio estéril debido a sus características específicas (alta temperatura y rica concentración mineral), de modo que inhibe la colonización por contaminantes bacterianos (Regueiro. 19). Los resultados obtenidos confirman que el agua termal es un medio apto para la supervivencia de patógenos para humanos durante largos períodos de tiempo a temperatura ambiente, aunque no constituye un ambiente propicio para su desarrollo y colonización.

Escherichia coli Lev 22

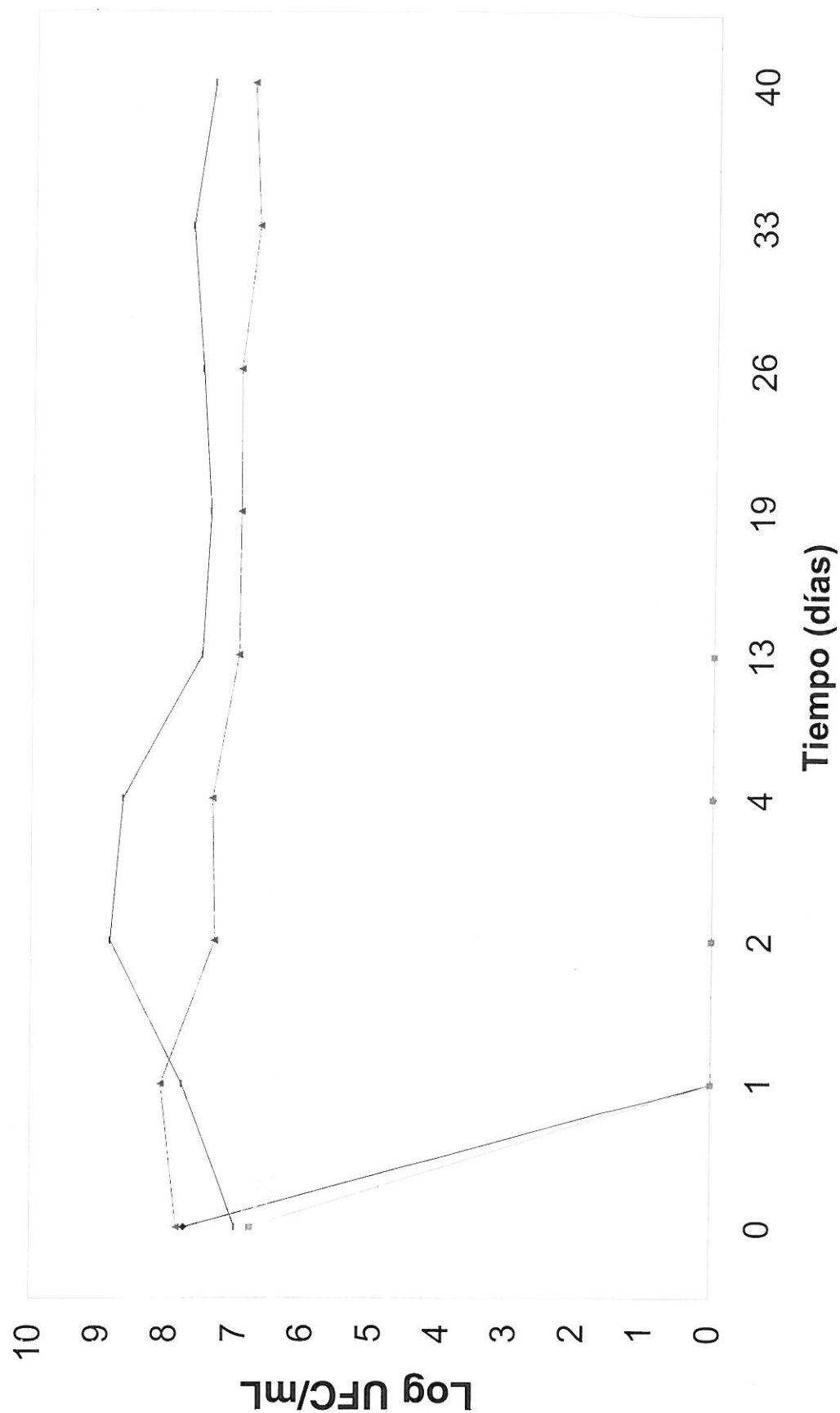


—♦— Agua río-43°C —■— Agua termal-43°C —▲— Agua río-20°C —×— Agua termal-20°C

Enterococcus faecium SB 12

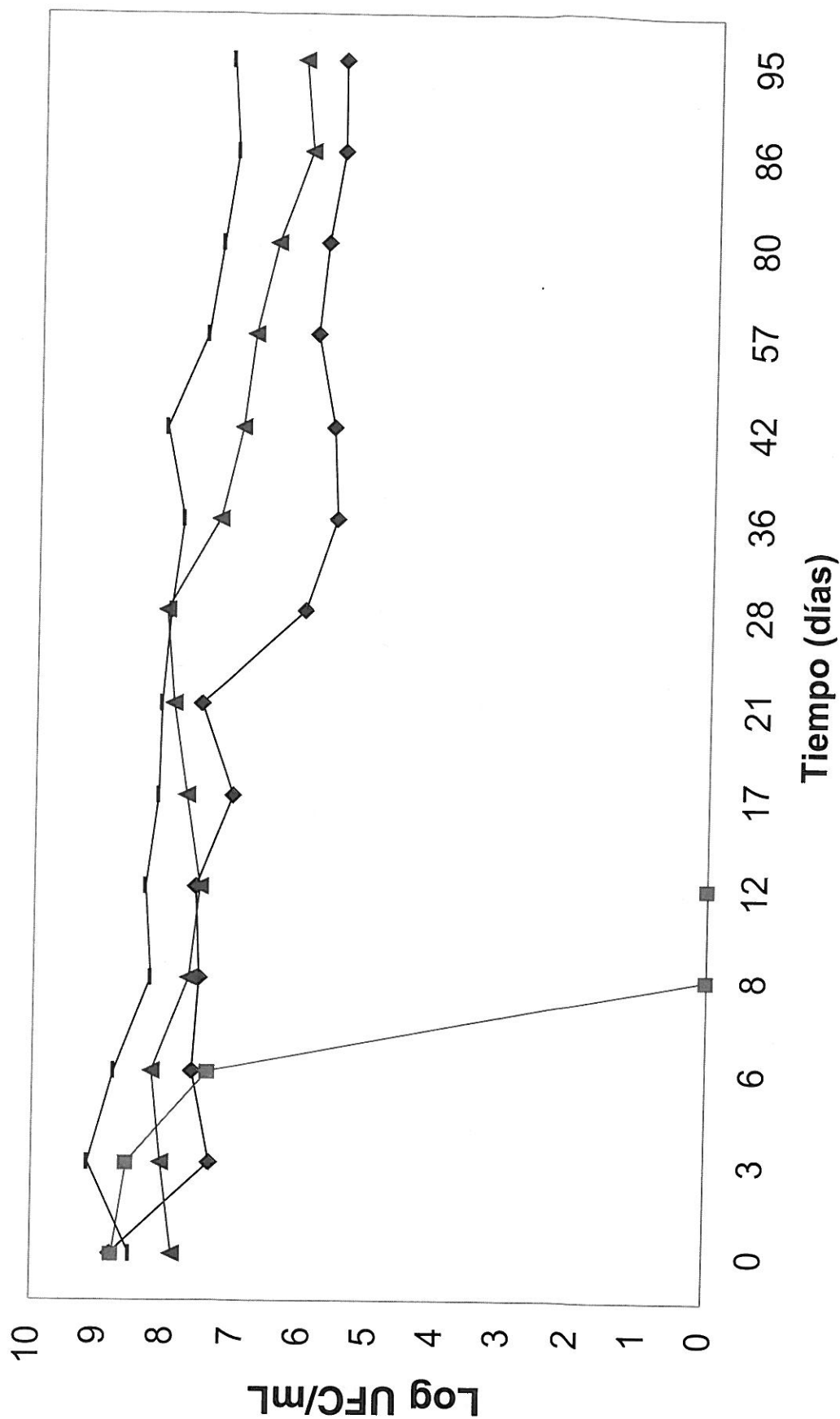


Citrobacter freundii SS 10



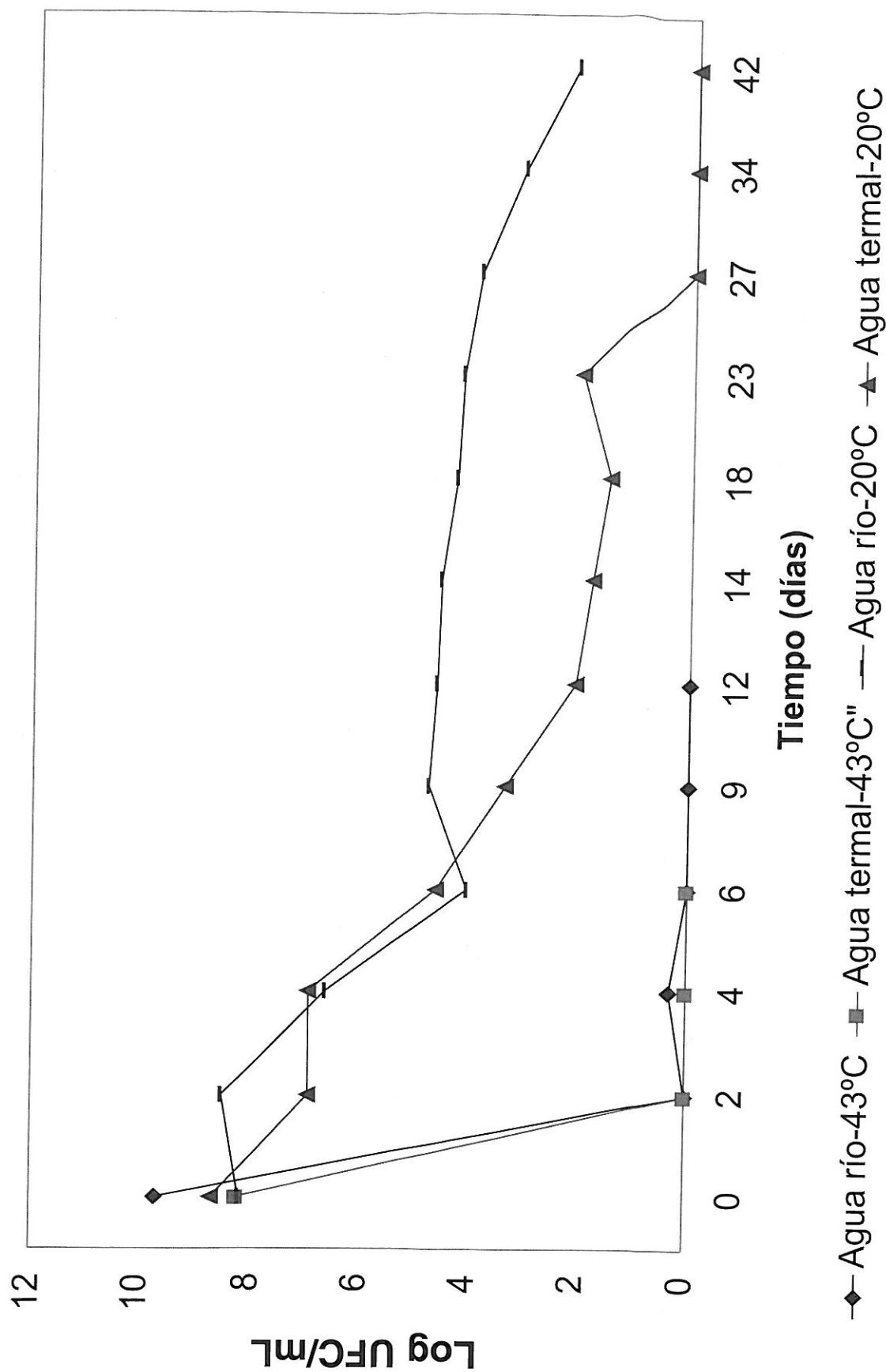
→ Agua río-43°C ■ Agua termal-43°C ▲ Agua río-20°C – Agua termal-20°C

Pseudomonas aeruginosa Psd 19

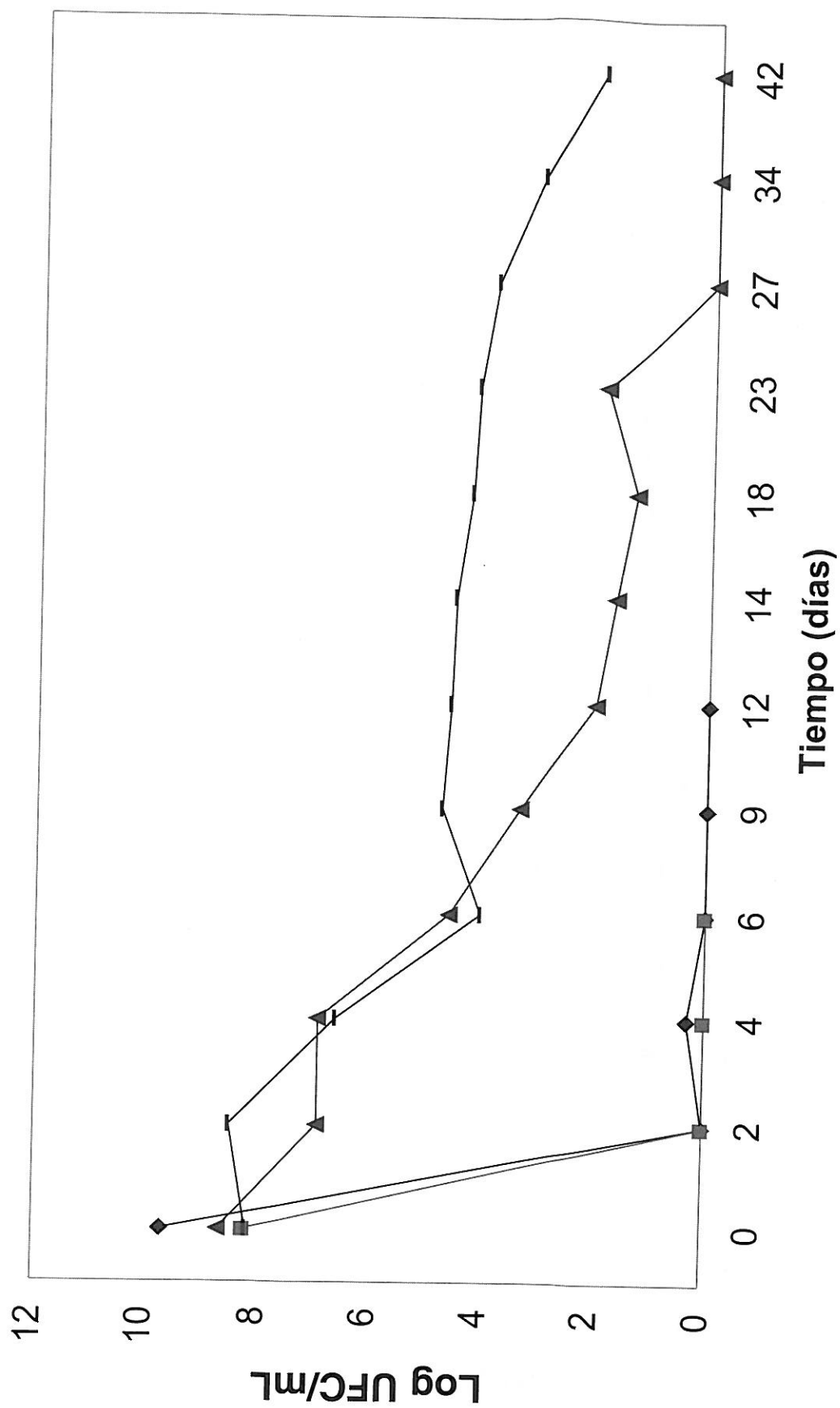


◆ Fresh water-43°C ■ Agua termal-43°C ▲ Agua río-20°C — Agua termal-20°C

Staphylococcus aureus CS 9

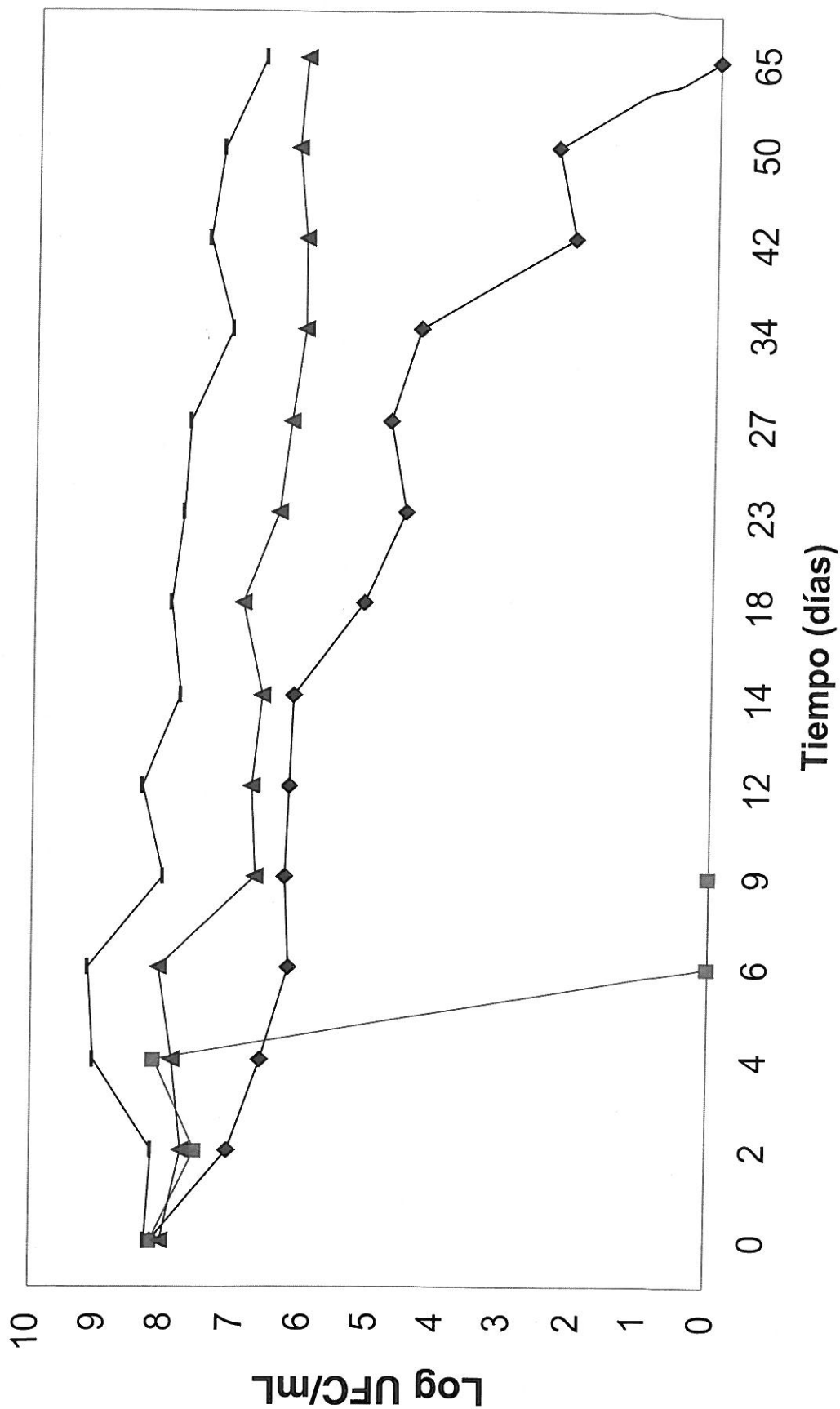


Staphylococcus aureus CS 9



◆ Agua río-43°C ■ Agua termal-43°C ▲ Agua río-20°C ▲ Agua termal-20°C

Salmonella SS 2



—◆— Agua río-43°C —■— Agua termal-43°C —▲— Agua río-20°C —×— Agua termal-20°C

BIBLIOGRAFÍA

1. Alkan, U.; Elliot, D. J.; Evison, L. M. (1995). Survival of enteric bacteria in relation to simulated solar radiation and other environmental factors in marine waters. **Wat. Res.** 29, No. 9, pp. 2081.
2. Allen, Dawn (1982). **Bacteria Associated with freshwater fish farming, with emphasis on the fish pathogen, *Aeromonas salmonicida***. University of Maryland, 227 pp.
3. Borrego, Juan J.; Figueras, M. José. 1997. Microbiological quality of natural waters. **Microbiología SEM** 13, pp. 413-426.
4. Craun, G.F. (1979). Waterborne diseases: a status report emphasizing outbreaks in ground water systems. **Ground Water** 17: 185-191.
5. Davies, Cheryl M.; Long, Julian A.; Donald, Margaret; Ashbolt, Nicholas. (1995). Survival of Fecal Microorganism in Marine and Freshwater Sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, 1888-1896.
6. Davis, Bernard.; Dulbecco, Renato; Eisen, Herman; Ginsberg, Harold. (1996). **Tratado de Microbiología**. Masson S. A. 24, pp. 516.
7. Flint, K.P. (1987). The long-term survival of *Escherichia coli* in river water. **J. Appl. Bacteriol.** Vol. 63, no. 3, pp. 261-270.
8. García-Lara, Jorge; Menon, Patricia; Servais, Pierre; Billen, Gilles. (1991). Mortality of Fecal Bacteria in Seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, 885-888.
9. Koneman, W.; Allen, S.; Dowell, V.; Janda, W.; Sommers, H.; Winn, W. (1990). **Diagnóstico microbiológico**. Ed. Panamericana. 3ª edición.
10. Lim, C. H.; Flint, K.P. (1995). The recovery of heat-stressed *Escherichia coli* in lake water microcosm. **Letters in Applied Microbiology**, 21, 364-367.
11. Lippy, E.C.; Waltrip S.C. (1984). Waterborne diseases outbreaks, 1946-1980: a thirty-five-year perspective. **J. Am. Water Works Assoc.** 76: 60-67.
12. McCarthy, S. A. (1996). Effects of Temperature and Salinity on Survival of Toxigenic *Vibrio cholerae* 01 in Seawater. **Microb. Ecol.**, 31, 167-175.
13. Mitchell, Joseph; McAvoy, Brian. (1990). Enteric Bacteria in Natural Populations of Freshwater Turtles in Virginia. **Virginia Journal of Science**, 41, number 3.
14. Munro, Patrick; Colwell, Rita. (1996). Fate of *Vibrio cholerae* 01 in sea water microcosm. **Wat. Res.** 30, No. 1, pp. 47-50.
15. Muñoz, I.; Jiménez, L.; Toranzos, G. A.; Hazen, T. C. (1989). Survival and activity of *Streptococcus faecalis* y *Escherichia coli* in tropical freshwater. **Microb. Ecol.** 18, no.2, pp. 125-134.
16. Rheinheimer, G. (1987). **Microbiología de las aguas**. Cap. 15, pp. 233-239. Zaragoza. España. Ed. Acribia.
17. Thorsen, Berit; Enger, Divind; Norland, Svein; Hoff Kiell. (1992). Long-term Starvation Survival of *Yersinia ruckeri* at Different Salinities Studied by Microscopical and Flow Cytometric Methods. **Applied And Environmental Microbiology**, pp. 1624-1628.
18. Warbunton, D. W.; Austin, J. (1996). **Bottled water, chapter 34**. Microbiology of food. Chapman and Hall, London, in press. B. Lund, A. Baird-Parker, and G. W. Gould (ed.)
19. Regueiro Varela (1984). **El termalismo en Galicia en la década de los ochenta**. Xunta de Galicia, Consellería de Sanidade.

BALNEARIO DE LUGO - HOTEL TERMAS ROMANAS

Aguas Bicarbonatadas, Sulfuradas Mixtas, Hipertermales (43,8º)

TRATAMIENTOS: Reumatismos crónicos (Artrosis, Artritis) • Reumatismos no articulares (Ciáticas, Lumbalgias) • Afecciones Respiratorias (Faringitis, Rinitis, Sinusitis, Laringitis, Bronquitis) • Enfermedades dermatológicas • Aparato digestivo.

TECNICAS: Baños, Chorros, Hidromasajes, Baños de Burbujas • Duchas Circulares, Parafangos, Masajes • Pulverizaciones, Inhalaciones, Nebulizaciones • Duchas Nasales, Aerosoles.

Situado en Lugo dispone de hotel con 40 habitaciones con cuarto de baño, calefacción, hilo musical, televisión. Amplio aparcamiento, 6.000 m² de zona ajardinada, con embarcadero propio y un paseo peatonal de 2 kilómetros al lado del río.

Barrio del Puente, s/n • 27004 LUGO • Teléfono (982) 22 12 28 - Fax (982) 22 16 59

ABIERTO TODO EL AÑO. Reservas con una antelación mínima de 15 días.

