

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE AGUAS DE POZO DEL SUDESTE BONAERENSE EN DISTINTAS ESTACIONES CLIMÁTICAS DEL AÑO



RESUMEN

Se analizaron muestras de agua de pozo extraídas de viviendas particulares y escuelas del cinturón frutihortícola de Sierra de los Padres (partido de General Pueyrredón, Buenos Aires, Argentina). Se realizaron las determinaciones bacteriológicas que establece el Código Alimentario Argentino (CAA) para determinar la potabilidad de aguas para consumo humano en distintas estaciones climáticas. Además, se investigó la presencia de *Mycobacterium* spp. Desde el punto de vista bacteriológico, el 64,58% de las muestras resultaron no aptas para consumo humano con variaciones según la estación climática. El porcentaje de aptitud para el otoño e invierno fue del 25% mientras que en primavera y verano se obtuvieron valores del 50 y 41,6%, respectivamente. No se aislaron especies de *Mycobacterium* en las muestras analizadas.

Joaquín Perez Escalante; Yolanda Andreoli*; Marino Puricelli; Claudia Castellari; Karina Cirone y Facundo Marcos Valle
Laboratorio de Microbiología de Suelos y Alimentos - Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias de la UNMdP – EEA Balcarce INTA). Balcarce. Buenos Aires, Argentina.
*andreoli.yolanda@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

En la región pampeana, la fuente de agua más frecuente es la subterránea y el tipo de acuífero comúnmente explotado es el freático. La razón no corresponde a su calidad ni capacidad para ceder agua sino, fundamentalmente, a su facilidad de acceso debido a la reducida distancia a la superficie del terreno (Puricelli y Moreyra, 2012). La infraestructura para el acceso al agua es la que permite captar, almacenar y distribuir de forma eficiente y segura el recurso, así como manejar convenientemente los efluentes, de forma tal de garantizar su calidad química y microbiológica (Puricelli y Moreira, 2012). Además, la ubicación y las características de las obras de manejo de efluentes domésticos y producción pecuaria (cámaras sépticas, corrales, lagunas de decantación, etc.) condicionan de forma directa la calidad del agua extraída del subsuelo (Custodio y Llamas, 1983; Espinosa *et al.*, 2009).

El agua contaminada puede ser un importante vehículo de microorganismos patógenos que originan diversas enfermedades en el ser humano, como diarreas (Baldi *et al.*, 2009; Guillén, 2011), cólera, fiebre tifoidea, disenterías, poliomeilitis, hepatitis y salmonelosis (Mc Junkin, 1985), entre otras, en las que el agua actúa directa o indirectamente en su aparición, algunas de ellas con alto impacto en términos de morbilidad y mortalidad (Sánchez-Pérez *et al.*, 2000).

Agentes infecciosos como bacterias patógenas, virus y parásitos llegan al agua de consumo humano por contaminación directa con aguas servidas que se vierten a las corrientes de agua, por derrames provo-

cados por lluvias y escurrimiento superficial, o bien por acuíferos contaminados por letrinas, pozos negros, etc. (Mc Feters, 1990).

Ante la dificultad que representa la detección de todas las bacterias patógenas en el agua, la opción más adecuada ha sido detectar las que están presentes normalmente en las heces de los seres humanos y de los animales de sangre caliente, a las que se denomina bacterias indicadoras de contaminación fecal (Flores-Abuxapqui *et al.*, 1995). Los microorganismos coliformes son los indicadores bacterianos más sensibles para demostrar este tipo de contaminación (Packer *et al.*, 1995). En particular, se estudia la presencia de *E. coli* como indicador por excelencia, debido a que es un contaminante común del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente y se encuentra en grandes cantidades en el mismo. Además, este microorganismo permanece en el agua más tiempo que las bacterias patógenas y se comporta de igual manera en los sistemas de desinfección (Arcos Pulido *et al.*, 2005).

En nuestro país, el CAA (artículo 982) establece los siguientes criterios microbiológicos para aguas de consumo humano: Coliformes Totales (CT) igual o inferior a 3 NMP/100mL, Bacterias Aerobias Mesófilas Totales (BAMT) máximo de 500 UFC/mL (a 37° C durante 24 horas), ausencia de *E. coli* y de *P. aeruginosa* en 100 mL de agua. Cuando el agua analizada no cumple con alguno de los parámetros establecidos por el CAA, se considera que la misma no es apta para consumo humano.

Además de los parámetros exigidos por el CAA, especies de *Mycobacterium*, como *M. abscessus*, *M. gilvum*, *M. gordonae* y *M. mageritense*, han sido asociadas con suministros de agua (Gira *et al.*, 2004). Éstas pueden ser clasificadas como especies estrictamente patógenas que son transmitidas por el humano o por reservorios animales únicamente (*M. tuberculosis*, *M. leprae*) y las llamadas micobacterias no tuberculosas (MNT) (Le Dantec *et al.*, 2002). Estas últimas han sido asociadas con suelos y aguas, muchas de las cuales han sido consideradas como patógenas oportunistas y pueden causar enfermedades muy diversas en el humano (Primm *et al.*, 2004).

La determinación de las especies de *Mycobacterium* presentes en agua para consumo humano se considera de especial importancia debido a la adaptabilidad a los cambios de pH y temperatura, además de la tolerancia a la cloración y por lo tanto la difícil eliminación que presentan estas bacterias en particular, en relación a otros patógenos encontrados en el agua (Le Dantec *et al.*, 2002).

Por lo expuesto, la determinación de la aptitud bacteriológica del agua para consumo humano resulta de especial interés para la población en general. Además, hasta el presente, no ha sido estudiada la influencia de la estación climática en la variación de los parámetros exigidos por el CAA y la presencia de especies de *Mycobacterium*.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la calidad bacteriológica del agua subterránea para consumo humano de acuerdo a los límites establecidos por el CAA. Al mismo tiempo, se investigó la presencia de Micobacterias en distintas estaciones climáticas del año.

MATERIALES Y METODOLOGÍAS

La zona de estudio de la presente investigación correspondió al cinturón hortícola de Sierra de los Padres, partido de General Pueyrredón, provincia de Buenos Aires. Esta zona periurbana y rural, ubicada a unos 25 km de la ciudad de Mar del Plata, alberga un gran número de pequeños y medianos productores frutihortícolas que abastecen la demanda de toda la región. En dicha zona, la única fuente de agua para el uso doméstico y productivo es subterránea proveniente del denominado Acuífero Pampeano, un acuífero freático de extensión regional (Santa Cruz y Silva Busso, 1995).



TABLA 1 - Sitios de muestreo y actividad principal en cada uno de ellos.

Sitio de Muestreo	Actividad	Residen en el sitio
1	Productor agrícola	NO
2	Escuela primaria Rural	NO
3	Escuela secundaria Rural	NO
4	Productor hortícola	SÍ
5	Productor hortícola	SÍ
6	Productor frutihortícola	NO
7	Productor hortícola	SÍ
8	Producción hortícola - Viverismo	SÍ
9	Propietario	SÍ
10	Propietario	SÍ
11	Propietario	SÍ
12	Complejo de viviendas	SÍ

Los sitios de muestreo correspondieron a pozos de agua domiciliarios donde sus propietarios residen, escuelas rurales y productores agrícolas en transición agroecológica (Tabla 1) que carecen de una red de suministro de agua potable. Estos productores llevan adelante un proceso de transformación de los sistemas convencionales de producción hacia sistemas de base agroecológica trabajando en forma conjunta con la Secretaría de Agricultura Familiar (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de Nación) y el Programa de Autoproducción de Alimentos (PAA, UNMdP-INTA).

En diferentes estaciones climáticas y en forma estéril, se tomaron cuarenta y ocho (48) muestras de agua subterránea procedentes de los mencionados sitios de muestreo, de la siguiente manera:

- Invierno: doce (12) muestras en el mes de julio de 2015.
- Primavera: doce (12) muestras en el mes de octubre de 2015.
- Verano: doce (12) muestras en el mes de febrero de 2016.
- Otoño: doce (12) muestras en el mes de abril de 2016.

Las muestras se mantuvieron refrigeradas a 4-6°C hasta ser trasladadas a los Laboratorios de Microbiología de Suelos y Alimentos y de Bacteriología de la Unidad Integrada Balcarce (FCA, UNMdP - EEA Balcarce, INTA) donde fueron procesadas en un período que no superó las seis horas desde la extracción.

Se realizaron las determinaciones bacteriológicas que establece el CAA: recuento de CT de acuerdo con la técnica del número más probable; presencia de *E. coli* y de *P. aeruginosa* en 100mL de agua y recuento de BAMT (APHA, 1998).

Para el análisis de Micobacterias, debido a que las mismas tienen un tiempo de generación mucho mayor que la mayoría de los microorganismos presentes en el agua, previo a la siembra de la muestra en los medios específicos, fue necesario realizar una descontaminación de la muestra con el fin de eliminar la microbiota acompañante. La misma se realizó utilizando la técnica del Hexadecyl-piridinium (HPC) descrita por Dundee *et al.* (2001).

La suspensión obtenida mediante el método de descon-

taminación se sembró en cinco medios de cultivo, cada uno de los cuales presenta características que permiten el crecimiento de diferentes micobacterias. Dado que en este trabajo se intenta verificar la presencia de especies de *Mycobacterium*, se utilizaron distintos medios de cultivo: Herrold (H), H con micobactina y piruvato (HMP), HMP y antibióticos (vancomicina 0,01% p/v, amfotericina B 5% p/v, ácido nalidixico 0,3% p/v y nistatina 0,01% p/v) (HMPA), Stonebrink (SB) y Löwestein-Jensen (LJ). Para la siembra de las respectivas suspensiones en los medios de cultivo mencionados, se procedió de la siguiente manera: se tomó la suspensión con una pipeta Pasteur y se colocó en cada tubo cuatro gotas de la misma dispuestas a lo largo de un pico de flauta.

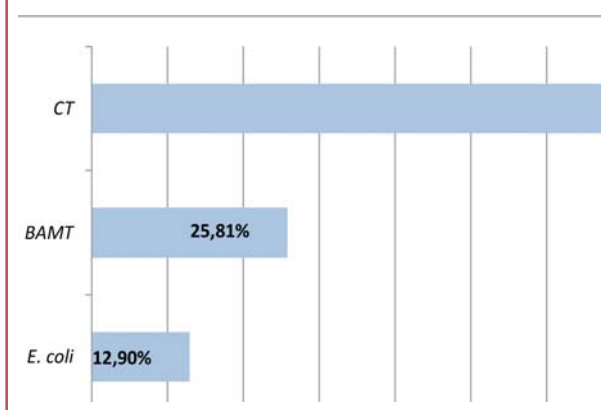
Los tubos se incubaron durante una semana en posición horizontal en un cuarto de incubación a 37°C. Este tiempo permite que las gotas sembradas no se depositen en el fondo del tubo. Luego de una semana, los tubos se pasaron a una estufa a 37°C y se dejaron en posición vertical durante un mínimo de tres meses. Las muestras se examinaron semanalmente para detectar la presencia de colonias características de micobacterias y eliminar aquellos tubos que pudieran estar contaminados.

Las colonias encontradas fueron analizadas microscópicamente mediante coloración de Ziehl-Neelsen (ZN). Para ello se trabajó con un microscopio óptico utilizando el objetivo de inmersión, obteniendo así un aumento de 1000x. Finalmente, luego de transcurridas las 16 semanas, se realizó una coloración de ZN a los tubos aparentemente negativos con el fin de confirmar la ausencia de micobacterias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

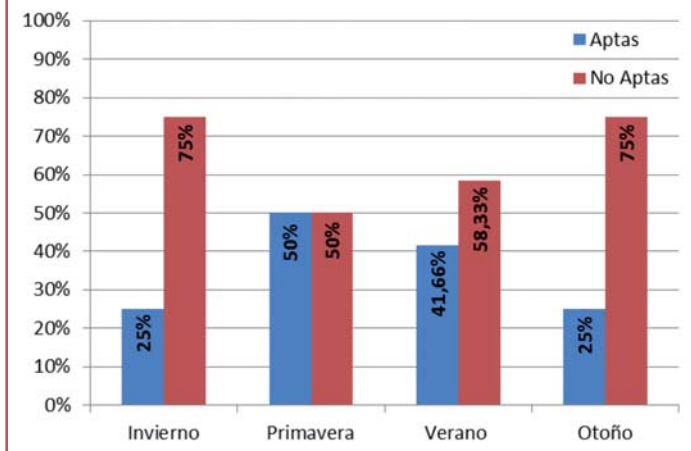
En relación a los parámetros exigidos por el CAA, resultaron aptas para consumo humano el 35,42% de las muestras, siendo no aptas el 64,58%. Resultados similares fueron encontrados en estudios previos realizados por Vasini Rosell *et al.* (2014) en la misma zona de estudio. En la Figura 1 se pueden observar los porcentajes generales correspondientes a los parámetros determinantes de la no potabilidad del total de las muestras analizadas (n=48). Donde un 96,77% presentaron niveles superiores al aceptable para CT; indicador de presencia de coliformes de vida libre y/o intestinal.

FIGURA 1 - Parámetros responsables de la no aptitud bacteriológica de las muestras de agua en el análisis general



Estos resultados coinciden con los de Echave (2007), quien informó que el 66% de las muestras de pozo de Balcarce son no aptas para consumo, siendo los CT, al igual que en este caso, el parámetro determinante de la no potabilidad en la mayoría de las muestras. Resultados similares han sido informados por Olivera (2007), registrando como no aptas el 62,5% de las muestras de agua de pozo de la ciudad de Balcarce.

FIGURA 2 - Aptitud bacteriológica de las muestras de agua según la estación climática del año



Puede observarse que el parámetro que determina la no potabilidad en la mayoría de las muestras fue CT, luego las BAMT y por último *E. coli*. El 12,9% de las muestras exhibieron presencia de esta última en 100 mL, siendo la más riesgosa para la salud, por su implicancia. Dado que los CT se consideran indicadores de contaminación con enterobacterias de vida libre y/o intestinal, existe una alta posibilidad de que las aguas fuera de límite en este parámetro hayan recibido contaminación fecal y puedan resultar peligrosas como agua de bebida.

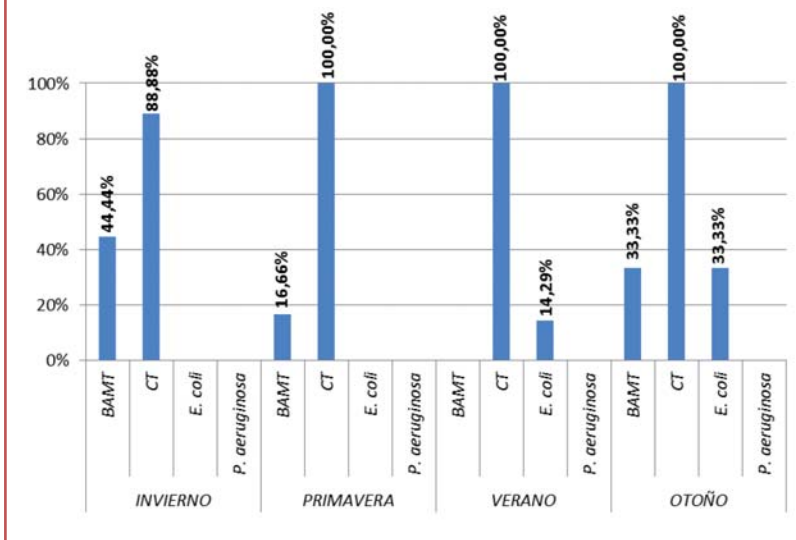
En cuanto al recuento de BAMT (excedido en el 25,8% de las muestras), indicador de contaminación de origen ambiental, su presencia se puede asociar a la falta de higiene o bien a deficiencias en la infraestructura de acceso al agua: falta de encamisado, perforaciones de poca profundidad (que usualmente no superan los 50 m), ausencia de cegado de los primeros metros de la perforación para evitar la contaminación desde la superficie, cercanía a pozos basureros, pozos ciegos y área de cría de animales, etc.; situación muy frecuente en la región, especialmente en periurbanos y en la agricultura familiar (Moreyra *et al.*, 2011).

Para analizar la influencia de la estación climática en la aptitud de las muestras, se compararon los resultados según las cuatro estaciones del año (Figura 2). Se puede observar que no hubo variación en cuanto al porcentaje de aptitud bacteriológica entre invierno y otoño, mientras que sí varió para las estaciones primavera y verano en donde el porcentaje de muestras no aptas disminuyó. Estos datos constituyen el primer reporte de variación estacional de la aptitud bacteriológica de aguas de pozo para consumo humano.

En la Figura 3 se observa el porcentaje de los parámetros responsables de la no aptitud según estación climática del año, donde se aprecia que coliformes totales fue el principal parámetro determinante de la no aptitud en casi la totalidad del año, BAMT contribuyó a la no aptitud principalmente en otoño e invierno y *P. aeruginosa* en otoño.

Con respecto a la presencia de Micobacterias en las muestras de agua analizadas, dichas bacterias no fueron encontradas en ninguno de los 12 sitios muestreados durante las cuatro estaciones climáticas del año. Estos resultados se diferencian de estudios anteriores, realizados en la misma zona geográfica, donde sí se han podido aislar Micobacterias a partir de muestras provenientes de agua de pozo (Vasini Rosell *et al.*, 2014).

FIGURA 3 - Parámetros responsables de la no aptitud bacteriológica del agua según la estación climática del año



CONCLUSIONES

El 64,58% de las muestras de agua analizadas resultaron no aptas para consumo humano según las exigencias bacteriológicas del CAA. Los parámetros que determinaron la no potabilidad del agua son: CT, BAMT y presencia de *E. coli*.

No se aislaron especies de *Mycobacterium* de las muestras analizadas del cinturón hortícola de Sierra de los Padres (Partido de General Pueyrredón, provincia de Buenos Aires, Argentina).

La estación climática incidió en la aptitud bacteriológica del agua analizada, siendo del 25% en otoño e invierno, y del 50% y 41,6% en primavera y verano, respectivamente, lo que es importante considerar al momento de realizar un análisis bacteriológico del agua.

BIBLIOGRAFÍA

- A.P.H.A.- A.W.W.A. – W.P.C.F. 1998. Methods for the Examination of water and wastewater, 20th ed., Washington, D.C. USA. Parte 9000.
- ARCOS PULIDO M, P.; ÁVILA DE NAVIA S, L.; ESTUPIÑÁN TORRES S, M. GÓMEZ PRIETO A, C. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. Nova Vol. 3, núm. 4.
- BALDI, F; BIANCO M. A.; NARDONE G.; PILOTTO A.; ZAMPARO E. 2009. Enfermedades diarreicas agudas. La clasificación clínica de la diarrea y la comprensión de sus principales mecanismos patogénicos son fundamentales para su diagnóstico y enfoque terapéutico. World J. Gastroenterol. 15(27): 3341-3348.
- CUSTODIO, E.; LLAMAS, M. R. 1983. Hidrología Subterránea. Editorial Omega, Barcelona.
- DUNDEE, L.; GRANT, I.R.; BALL, H.J.; ROWE, M.T. 2001. Comparative evaluation of four decontamination protocols for the isolation of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis from milk. Letters in Applied Microbiology. 33(3): 173–177.
- ECHAVE, M., 2007. Calidad microbiológica y química de agua para consumo humano y riego en barrios periurbanos de Mar del Plata y Balcarce. Tesis Licenciatura en Ciencia y Tecnología de Alimentos. UNMdP. FCA Balcarce. 53 p.

- ESPINOSA, M.; BOCANEGRA, E.; DEL RÍO, J. L.; ZAMORA, A. 2009. Evaluación de la calidad del agua subterránea en Mar de las Pampas, provincia de Buenos Aires. En: Schultz, C.; Cabrera, M. C. (Eds.) Contaminación y protección de los recursos hídricos. Asociación Civil Grupo Argentino de la Asociación Internacional de Hidrogeólogos. Buenos Aires, p: 33-42. ISBN: 978-987-1082-40-7.
- FLORES-ABUXAPQUI J. J.; SUÁREZ-HOIL, G.; PUC-FRANCO M, A.; HEREDIA NAVARRETE M, R.; VIVAS-ROSEL M, L.; FRANCO-MONSREAL, J. 1995. Calidad bacteriológica del agua potable en la ciudad de Mérida, Yucatán. Rev. Biomed 6:127-134.
- GIRA, A.K.; REISENAUER, A.H.; HAMMOCK, L.; NADIMINTI, U.; MACY, J.T.; REEVES A.; BURNETT, C.; YAKRUS, M.A.; TONEY, S.; JENSEN, B.J.; BLUMBERG, H.M.; CAUGHMAN, S.W.; NOLTE, F.S. 2004. Furunculosis due to *Mycobacterium mageritense* associated with footbaths at a nail salon. Journal of Clinical Microbiology 42:1813-1817.
- GUILLÉN, A. 2011. Enfermedad diarreica: un problema recurrente de salud pública.
- LE DANTEC, C.; DUGUET, J.-P.; MONTIEL, A.; DUMOUTIER, N.; DUBROU, S.; VINCENT, V. 2002. Chlorine disinfection of atypical mycobacteria isolated from a water distribution system. Applied and Environmental Microbiology 68:1025-1032.
- MC FETERS, G.A. 1990. Drinking Water Microbiology. Edited by Gordon A. Mc Feters. 502p.
- MC JUNKIN, F.E., 1985. Agua y salud humana. Illus tab Lima CEPIS 294 p.
- MOREYRA, A. ; PURICELLI, M. ; MERCADER, A. ; REY, M. ; CORDOBA, J. ; MARSANS, N. 2011. El acceso al agua de los agricultores familiares de la región pampeana: un análisis multidimensional. Mundo Agrario, 12(24). Recuperado a partir de <https://www.mundoagrario.unlp.edu.ar/article/view/v12n24a09>.
- OLIVERA, M.L. 2007. Calidad del agua para consumo en barrios periurbanos de Balcarce. Tesis Licenciatura en Ciencia y Tecnología de alimentos. UNMdP. FCA Balcarce. 54 p.
- PACKER, P.J.; MACKERNESS, C.W.; RICHES, M.; KEEVIL, C.W. 1995. Comparison of selective agars for the isolation and identification of *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli* from environmental drinking water samples. Letters in Applied Microbiology 20: 303-307.
- PRIMM, T.P.; LUCERO, C.A.; FALKINHAM, J.O. 2004. Health impacts of environmental mycobacteria. Clinical Microbiology Reviews 17:98-106.
- PURICELLI, M.; MOREYRA, A. 2012. Protocolo. Relevamiento de la Infraestructura Hídrica. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires. 33p. ISBN: 978-987-679-162-5.
- SANTA CRUZ, J.; SILVA BUSSO, A. 1995. Disponibilidad del agua subterránea para riego complementario en las pcias. de Bs. As., Entre Rios, Córdoba y Santa Fe. Programa de servicios agrícolas provinciales. SAGyP (Argentina), 55 pp.
- SANCHEZ-PEREZ, H, J.; VARGAS-MORALES, M, G.; MENDEZ-SANCHEZ, J, D. 2000. Calidad bacteriológica del agua para consumo humano en zonas de alta marginación de Chiapas. Salud pública de México vol.42, no.5.
- VASINI ROSELL, B.; ANDREOLI, Y.; CIRONE, K. 2014. Calidad bacteriológica, determinación de nitratos e investigación de micobacterias en aguas de pozo. La Alimentación Latinoamericana N° 314, pp. 57-58.