

# DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS Y SU EFECTO EN EL SISTEMA HÍDRICO EN ÁREA NATURAL PROTEGIDA LAS MUSAS

Sánchez Galván, Carlos Antonio (1), Alejo Iturvide, Francisco (2), Márquez Lucio, Maria Azucena (3)

[Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] [carlos\_sanga@outlook.com]

[Licenciatura en Biología, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] | [fralejo@itesi.edu.mx]

[Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] [mamarquez@itesi.edu.mx]

## Resumen

La calidad del agua es una medida de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los cuerpos de agua y sistemas acuáticos que requieren de parámetros específicos para mantener diversos procesos bioquímicos que sustentan la vida en los sistemas acuáticos. Dentro del presente trabajo se determinaron en muestras de agua, parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para muestras de agua y peces como: Coliformes Totales y Fecales, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* y *Salmonella spp.*; para su procesamiento se emplearon las normas: NMX-AA-042-SCFI-2015, NOM-114-SSA1-1994 y NOM-031-SSA1-1993; realizando muestreos en diferentes temporadas (invierno, primavera y verano). Dentro de los resultados se muestra un incremento en la presencia de *Vibrio cholerae* en muestras de agua en temporada de invierno, sin embargo, en temporadas de primavera y verano se encuentra una ausencia de *Vibrio cholerae*. En todas las temporadas se encontró presencia del resto de los microorganismos siendo en menor cantidad en primavera y verano. Debido a una dilución por las constantes precipitaciones en la zona y a un aumento de corriente; teniendo como conclusión que las temporadas de baja precipitación disminuye la presencia de microorganismos patógenos en la zona siendo los peces un vector no transmisor de *Vibrio cholerae*.

## Abstract

Water quality is the result of the physical, chemical and biological properties of water bodies and water systems. This requires of specific levels of each parameter to keep different biochemical processes that support the life in the aquatic systems. At the present work we determined the physicochemical and microbiological parameters from water and fish samples like: Total and Fecal Coliforms, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* and *Salmonella spp.* To process the samples were used official normativity: NMX-AA-042-SCFI-2015, NOM-114-SSA1-1994 and NOM-031-SSA1-1993. We sampled in different seasons (winter, spring and summer). The results it shows an increment of the presence of *Vibrio cholerae* in water samples in winter season, however, in the spring and summer seasons it's found an absence of *Vibrio cholerae*. In all seasons were found presence of the microorganism's indicators but being lower quantity in spring and summer. The precipitation and increment of water runoff may provoke a dilution in the levels of some microorganisms, not being the fishes a vector transmission of *Vibrio cholerae*.

## Palabras Clave

Parámetros fisicoquímicos, patógeno, calidad del agua, microbiológico, coliformes

## INTRODUCCIÓN

### Calidad del agua

El agua es un recurso esencial para la vida siendo sustento principal de la mayoría de los organismos en el planeta por lo cual es requerido mantener una calidad satisfactoria para llevar a cabo diversos procesos. La calidad del agua se considera una medida de las propiedades físicas, químicas y biológicas del agua para sostener procesos bioquímicos en los diversos sistemas. [1]

Parámetros de la calidad del agua se manifiesta la función física y biológica del medio ambiente con los que el agua interactúa. Entre los principales parámetros a destacar son los fisicoquímicos resaltando (temperatura, pH, oxígeno disuelto, alcalinidad, acidez) y en los cuales su medición resulta de fácil realización. [2] Además se pueden considerar algunos otros parámetros como: nutrientes primarios, metales pesados, microorganismos patógenos y compuestos orgánicos los cuales caracterizan una calidad del agua y determinar los impactos posibles en los ecosistemas donde se encuentre. [3]

#### Parámetros fisicoquímicos

Estos parámetros brindan información de la naturaleza de las especies químicas del agua y sus propiedades físicas. [4] Dentro de los parámetros fisicoquímicos se encuentran: temperatura. Siendo de vital importancia para el desarrollo de diversos procesos que en ella se realizan; oxígeno disuelto. Parámetro que indica la disponibilidad de oxígeno por litro de agua; acidez. Siendo una medida de la concentración de iones hidronio en la disolución; alcalinidad. Determina la capacidad de reaccionar con los iones hidronio provocada por los iones carbonato; dureza. Determina la concentración de iones calcio, magnesio, estroncio y bario.; fósforo total. Determina en cierta medida el crecimiento de la biomasa acuática. [5]

- *Parámetros microbiológicos*

Se enfoca principalmente en guías relacionadas a la calidad bacteriológica y de microorganismos patógenos presentes en el agua, garantizando un abastecimiento de agua inocuo desde el punto de vista bacteriológico; entre los principales microorganismos a determinar resaltan: *Escherichia coli*. No deben ser detectables en muestras de 100 mL; coliformes totales y fecales. De la misma forma no deben ser encontradas en muestras de 100 mL. *Vibrio cholerae*: No debe ser detectable en muestras de 100 mL. Las determinaciones de estos microorganismos dependerán del tipo de agua y de la frecuencia de muestreo con la que se realizan. [6]

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para las determinaciones de parámetros fisicoquímicos se contó con un kit Hanna Instruments para determinaciones en muestras de agua *in situ*. Los parámetros a determinar fueron los siguientes: pH, oxígeno disuelto, nitratos, fosfatos, alcalinidad, acidez, dióxido de carbono y dureza.

Para el procesamiento de peces, estos fueron molidos completamente con mortero y pistilo en bolsas añadiendo 9 mL de solución Buffer reguladora de fosfatos manteniendo las condiciones de esterilización en todo momento. Las muestras molidas fueron procesadas como se describe a continuación.

En el caso de las determinaciones microbiológicas, para coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* se usó la NOM-AA-042-SCFI-2015 "Análisis de agua- enumeración de organismos coliformes totales, organismos fecales (termotolerantes) y *Escherichia coli*- método del número más probable en tubos múltiples", la cual describe la inoculación de las muestras en tubos con diluciones ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) y conteniendo caldo Lactosado e incubándose a 35°C durante 24 horas, siendo positivos a una posterior inoculación de los tubos en caldo bilis verde brillante bajo la misma temperatura y tiempo. Las pruebas confirmativas se realizan con caldo *E. coli* inoculando bajo 35°C y 24 horas.

Para el caso de *Salmonella spp.* Se empleó la norma NOM-114-SSA1-1994 "Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos", la cual describe un pre-enriquecimiento en caldo Lactosado, un enriquecimiento en caldo selenito cistina y caldo

tetrionato, una diferenciación en agar xilosa lisina desoxicolato y agar *Salmonella-Shigella* de presentar positivo las pruebas anteriores se realizan bioquímicas de: para su identificación; las temperaturas de incubación son de 35°C durante periodos de 24 horas para cada etapa de procesamiento.

En la determinación de *Vibrio cholerae* se usó la norma NOM-031-SSA1-1993 "Bienes y servicios. Productos de la pesca. Moluscos bivalvos frescos- refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias" donde describe un enriquecimiento en agua peptona alcalina con pH 9.0 incubando de 35-37°C durante 24 horas, se realiza un aislamiento en agar tiosulfato citrato bilis sacarosa e incubar bajo los mismos parámetros, posteriormente se realiza una incubación en agar soya Trypticasa al 2% de NaCl a 37°C durante 18 horas y finalmente las bioquímicas que constan de: agar triple hierro azúcar, Kligler hierro agar y agar arginina glucosa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron muestreos en estaciones de invierno, primavera y verano respectivamente. Se muestrearon 7 puntos distintos de agua más 2 puntos extra de agua de consumo humano. De la misma manera se muestrearon de los 7 puntos muestras de peces, aunque sin embargo no en todos los puntos en las diferentes estaciones se encontraron los espécimen para llevar a cabo las determinaciones. En las tablas se muestran los parámetros de las muestras de consumo humano así como un anexo de las muestras de agua y peces con las determinaciones de: Coliformes totales y fecales, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* y *Salmonella spp.*

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de muestras de consumo humano (muestra EC1)

Temporada	Oxígeno Disuelto	CO <sub>2</sub>	Dureza	Acidez
Invierno	4.5 mg/L O <sub>2</sub>	25 mg/L CO <sub>2</sub>	120 mg/L CaCO <sub>3</sub>	125 mg/L CaCO <sub>3</sub>
Primavera	5 mg/L O <sub>2</sub>	25 mg/L CO <sub>2</sub>	125 mg/L CaCO <sub>3</sub>	130 mg/L CaCO <sub>3</sub>
Verano (Junio)	5.5 mg/L O <sub>2</sub>	34 mg/L CO <sub>2</sub>	150 mg/L CaCO <sub>3</sub>	145 mg/L CaCO <sub>3</sub>

Verano (Agosto)	6.0 mg/L O <sub>2</sub>	35 mg/L CO <sub>2</sub>	150 mg/L CaCO <sub>3</sub>	150 mg/L CaCO <sub>3</sub>
-----------------	-------------------------	-------------------------	----------------------------	----------------------------

Temporada	Fosfatos	Nitratos	Alcalinidad Total	pH
Invierno	2 mg/L	25mg/L	174 mg/L CaCO <sub>3</sub>	8.26
Primavera	2 mg/L	30 mg/L	170 mg/L CaCO <sub>3</sub>	8.10
Verano (Junio)	2 mg/L	30 mg/L	175 mg/L CaCO <sub>3</sub>	7.92
Verano (Agosto)	2 mg/L	25 mg/L	170 mg/L CaCO <sub>3</sub>	7.96

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de muestras de consumo humano (muestra EC2)

Temporada	Oxígeno Disuelto	CO <sub>2</sub>	Dureza	Acidez
Invierno	7.0 mg/L O <sub>2</sub>	15 mg/L CO <sub>2</sub>	138 mg/L CaCO <sub>3</sub>	90 mg/L CaCO <sub>3</sub>
Primavera	8.5 mg/L O <sub>2</sub>	15 mg/L CO <sub>2</sub>	144 mg/L CaCO <sub>3</sub>	110 mg/L CaCO <sub>3</sub>
Verano (Junio)	6.0 mg/L O <sub>2</sub>	40 mg/L CO <sub>2</sub>	135 mg/L CaCO <sub>3</sub>	100 mg/L CaCO <sub>3</sub>
Verano (Agosto)	5.2 mg/L O <sub>2</sub>	45 mg/L CO <sub>2</sub>	140 mg/L CaCO <sub>3</sub>	110 mg/L CaCO <sub>3</sub>

Temporada	Fosfatos	Nitratos	Alcalinidad Total	pH
Invierno	1.5 mg/L	35mg/L	155 mg/L CaCO <sub>3</sub>	8.24
Primavera	2 mg/L	30 mg/L	134 mg/L CaCO <sub>3</sub>	8.24
Verano	2 mg/L	25 mg/L	145 mg/L	7.81

(Junio)	CaCO <sub>3</sub>			
Verano	2 mg/L	25 mg/L	150 mg/L	7.96
(Agosto)	CaCO <sub>3</sub>			

Tabla 3. Parámetros microbiológicos en muestras de agua EC1 (Coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*)

Temporada	Coliformes totales	Coliformes fecales	<i>Escherichia coli</i>
Invierno	16.1 / 100 mL	5.1 / 100 mL	5.1 / 100 mL
Primavera	23.0 / 100 mL	16.1 / 100 mL	16.1 / 100 mL
Verano (Junio)	12 / 100 mL	12 / 100 mL	12 / 100 mL
Verano (Agosto)	9.2 / 100 mL	9.2 / 100 mL	9.2 / 100 mL

Tabla 3. Parámetros microbiológicos en muestras de agua EC2 (Coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*)

Temporada	Coliformes totales	Coliformes fecales	<i>Escherichia coli</i>
Invierno	12 / 100 mL	5.1 / 100 mL	3.6 / 100 mL
Primavera	9.2 / 100 mL	6.9 / 100 mL	6.9 / 100 mL
Verano (Junio)	2.2 / 100 mL	2.2 / 100 mL	2.2 / 100 mL
Verano (Agosto)	6.9 / 100 mL	6.9 / 100 mL	6.9 / 100 mL

Tabla 4. Parámetros microbiológicos en muestras de agua E1-E7 (*Vibrio cholerae*)

Tabla 5. Parámetros microbiológicos en muestras de peces P1-

Temporada	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
Invierno	+	-	+	+	+	-	+
Primavera	--	-	++	++	++	--	--
Verano	-	-	-	-	-	-	-
Verano (Junio)	-	-	-	-	-	-	-
(Agosto)	-	-	-	-	-	-	-
(Agosto)	-	-	-	-	-	-	-

P7 (*Vibrio cholerae*)

Temporada	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Invierno	-	-	+	+	-	-	-
Primavera	--	-	+	+	-	-	-
Verano (Junio)	-	-	-	-	-	-	-
Verano (Agosto)	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 5. Parámetros microbiológicos en muestras de agua P1-P7 (*Salmonella spp.*)

Temporada	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Invierno	-	-	+	+	-	-	-
Primavera	-	-	+	+	-	-	-
Verano (Junio)	+	-	+	+	+	+	-
Verano (Agosto)	-	-	-	+	-	-	-

Tabla 5. Parámetros microbiológicos en muestras de agua EC1-EC2 (*Salmonella spp.*)

Temporada	EC1	EC2
Invierno	+	+
Primavera	+	+
Verano (Junio)	+	+
Verano (Agosto)	-	-

De los resultados obtenidos se logra observar una ausencia de *Vibrio cholerae* en épocas de verano esto debido a una alta precipitación en la zona y aumento de corriente lo que provoca que exista una dilución en el cuerpo de agua y disminuya la cantidad de microorganismos presentes por volumen, se puede notar una amplia presencia de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en la

mayoría de las muestras esto debido a una alta carga bacteriana y alta contaminación en la zona así como las condiciones climáticas que favorecen el desarrollo de los microorganismos termo tolerantes, de la misma manera no se puede considerar el pez como un vector de transmisión de *Vibrio cholerae* ya que no en todos los espécimen analizados se encontraba el microorganismo así como un número considerable de peces en los puntos de muestreo, por otro lado sí se puede considerar como vector de transmisión de algunos otros microorganismos mesófilos debido a la alta carga bacteriana que poseen en los estudios realizados.

Por último las muestras analizadas de consumo humano muestran una baja concentración de microorganismos como *Vibrio cholerae* sin embargo una alta carga bacteriana de microorganismos mesófilos y una variación significativa en cuanto a los parámetros fisicoquímicos en las diferentes estaciones del año.

## CONCLUSIONES

En temporada de invierno se consigue una alta concentración de *Vibrio cholerae* en muestras de agua y ausencia del microorganismo en peces. Los peces no son considerados como vectores de transmisión de dicho microorganismo debido a la ausencia en los estudios realizados.

Microorganismos mesófilos son considerados de alta carga bacteriana debido a la presencia constante en todas las temporadas siendo la temporada de primavera la cual presentó mayor cantidad debido a las condiciones de temperatura y pH.

No se considera de una calidad adecuada el cuerpo de agua debido a las altas concentraciones de microorganismos patógenos. Finalmente temporada de verano se considera de baja concentración por la alta precipitación en la zona de estudio.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato por permitir la realización del proyecto en sus instalaciones y brindar el material y espacio para desempeñar el proyecto. Principalmente quiero agradecer a mi asesora Q.F.B. Maria Azucena Márquez Lucio y mi co-asesor Dr. Francisco Alejo Iturvide por brindarme el apoyo y conocimientos para desempeñar el proyecto y el apoyo moral para futuras investigaciones en mi carrera.

## REFERENCIAS

- [1] Comisión Nacional del Agua (2013). Estadísticas del agua en México (Edición 2013). México, D.F. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, pp. 36
- [2] Comisión Nacional del Agua (2006). El agua en México: lo que todas y todos debemos saber (Edición 2006). México, D.F. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, pp. 45
- [3] Aznar Jiménez, Antonio. (2000). Determinación de los parámetros fisicoquímicos de calidad de las aguas. *Gestión Ambiental*, 2(23), 12-19
- [4] Christine M. Hahn von Hessberg, Daniel Ricardo Toro, Alberto Grajales Quintero, Ginna María Duque Quintero y Lorena Serna-Urbe. (2009). Determinación de la calidad del agua mediante indicadores biológicos y fisicoquímicos en la estación piscícola, Universidad de Caldas, Municipio de Palestina, Colombia. *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural*, 13(2), 89-105
- [5] Samboni Ruiz, Natalia Eugenia, Carvajal Escobar, Yesid, & Escobar, Juan Carlos. (2007). Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua. *Ingeniería e Investigación*, 27(3), 172-181
- [6] Mora Alvarado, Darner A. (2005). Evolución de las guías microbiológicas de la OMS para evaluar la calidad del agua para consumo humano: 1984 -2004. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 14(27), 58-69