

Coliformes injuriados en el agua de bebida de edificios de Lima-Cercado

Injured coliforms in drinking water of buildings of Lima Cercado

Germán Vergaray*, Carmen R. Méndez*, Vilma R. Béjar*, Hilda Y. Morante*, Vidalina Heredia*

RESUMEN

Para detectar Coliformes injuriados (CI) en el agua considerada apta para el consumo humano según la normatividad peruana, se tomaron y procesaron 100 muestras de agua de edificios del distrito de Lima-Cercado. Se determinó el cloro libre residual (CLR) mediante la técnica DPD y el pH usando varillas indicadoras Merck. Para el recuento de bacterias heterotróficas (BH) se empleó la técnica de spread plate; para cuantificar Coliformes totales (CT) y Coliformes fecales (CF) se empleó la técnica de tubos múltiples y de filtración por membrana. Para recuperar y enumerar CT y CF injuriados se utilizó el medio m-T7. Para la especificación bacteriana las pruebas estándar y el sistema API 20E. Para la detección de CI se utilizaron las muestras que resultaron negativas para CT y CF y/o tenían un recuento de BH igual o inferior a 500 UFC/mL. Empleando los métodos convencionales se demostró que el 15% de las muestras de agua eran inaptas para el consumo humano. De las 85 consideradas aptas, el 29.41% (25) contenía CI. En las muestras inaptas empleando los métodos convencionales, el 60% (9) tenía entre 0,1 y 0,5 ppm de CLR y en las muestras consideradas inaptas por tener CI, el 88% (22) tenía entre 0,1 y 1,0 ppm. No se demostró relación entre el pH y las muestras inaptas. Entre los CI se identificaron: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter spp* y *Klebsiella sp*. El agua para consumo humano considerada apta por la normatividad peruana puede estar contaminada con microorganismos intestinales y constituir un riesgo para la salud; el CLR entre 0,1 y 1,0 ppm no garantiza la eliminación de las bacterias intestinales.

Palabras claves: Coliformes injuriados, contaminación fecal.

ABSTRACT

To detect injured coliforms (IC) in drinking water considered suitable for the human consumption according to the Peruvian normativity, were taken and processed 100 water samples of buildings of the district of Lima Cercado. For the analysis the residual free chlorine (RFC) by means of DPD technique and pH was determined using indicating rods Merck. For the count of heterotrophic bacteria (HB) the spread plate method was used, to quantify total Coliform (TC) and fecal Coliform (FC) the techniques of multiple tubes and membrane filter were used. In order to recover and to enumerate injured TC and FC the m-T7 medium were used. For the bacterial specification the standard tests and API 20E system. For CI's detection there were in used the samples that turned out to be negative for TC and FC and/or had count of HB an equal or lower to 500 UFC/mL. Using the conventional methods was demonstrated that 15% of the water samples was insuitable for the human consumption. Of the considered suitable 85, 29,41% (25) was containing IC. In the suitable samples using the conventional methods, 60% (9) had between 0.1 and 0.5 ppm of RFC and in the considered insuitable samples for having IC, 88% (22) had between 0.1 and 1.0 ppm. Relation was not demonstrated between pH and unsuitable samples. Among the IC were identified: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter spp* and *Klebsiella sp*. The drinking water considered suitable by the Peruvian normativity can be contaminated by intestinal microorganisms and constitute a risk for the health; the residual free chlorine between 0.1 and 1.0 ppm does not guarantee the elimination of the intestinal bacteria.

Keywords: Injured coliforms, fecal contamination.

INTRODUCCIÓN

El riesgo más frecuente relacionado con el agua que ha sido sometida a un proceso de potabilización en una planta de tratamiento es el de su contaminación con heces humanas, debido a que éstas pueden contener microorganismos patógenos. Como consecuencia es posible que se produzcan infecciones intestinales o hepáticas, que pueden ser asintomáticas o pueden producir enfermedades (Hughes, 1981).

La calidad microbiana del agua es evaluada rutinariamente mediante el uso de indicadores bacterianos de contaminación fecal (OPS, 1985; ITINTEC, 1987). Para ser considerada aceptable el agua potable debe tener menos de 500 ufc/mL de bacterias heterotróficas, ausencia de Coliformes totales (CT) y Coliformes fecales (CF) y ausencia de microorganismos patógenos.

Las bacterias indicadoras de contaminación fecal pueden injuriarse (Kang, 2001; APHA, 2005) debido a la acción del cloro, alteraciones de pH, temperaturas extremas, presencia de metales y otras sustancias tóxicas, falta de nutrientes, radiación solar, etc. (Singh, 1986; Prasad *et al.*, 2001). Si las bacterias injuriadas no encuentran condiciones adecuadas para su recuperación metabólica, serán incapaces de desarrollar dando lugar a falsos negativos durante su monitoreo. Por ello es necesario utilizar condiciones de cultivo adecuadas que posibiliten su desarrollo. Se han ensayado nuevos medios de cultivo para poder aislar e identificar a los coliformes injuriados como el agar Tergitol 7, el cual fue posteriormente modificado y llamado m-T7, este medio ha permitido recuperar coliformes injuriados cuando fallaban los métodos estandar rutinarios (APHA, 2005).

Basualdo *et al.* (2001) tomaron 44 muestras de agua de la red de distribución y empleando agar m-T7 obtuvieron una recuperación del 58% de CT. Rubio (2004) tomó 58 muestras de la red de distribución pública y empleando procedimientos similares obtuvo una recuperación del 46,55% de CT.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el distrito de Lima-Cercado entre los meses de febrero y agosto del 2006. El agua para consumo humano que se utiliza en dicho distrito proviene de las aguas superficiales del río Rímac y es tratada en la planta de La Atarjea. De allí el agua es distribuida a los inmuebles a través de la red de distribución pública. Los inmuebles que tienen uno o dos pisos carecen de almacén de agua; los que tienen más pisos, motivo del presente estudio, reciben el agua en una cisterna del subsuelo de donde es impulsada a un tanque elevado; de allí es distribuida por gravedad y mediante una red interna de tuberías a los grifos de los diferentes pisos (Vergaray y Méndez,

1994). El estudio incluyó la toma de 100 muestras de agua de los grifos más distantes al tanque elevado de almacenamiento. Se determinó la concentración de cloro libre residual (CLR) mediante la técnica del DPD (N,N-dietil-p-fenilendiamina)- aquamerck 11,100 y el pH mediante tiras indicadoras con rango de 0 a 14 Merck. Para el análisis microbiológico se colectó agua en frasco estéril que contenía tiosulfato de sodio al 1% y se mantuvo en conservador refrigerado por un máximo de 4 horas antes de ser procesada. Para detectar y cuantificar Coliformes totales (CT) y Coliformes fecales (CF) se empleó en paralelo la Técnica de tubos múltiples (NMP) en 10 tubos, para CT Caldo verde brillante bilis lactosa (Brila) y para CF Medio EC; y la técnica de filtración por membrana, para CT Medio m-Endo y para CF Medio m-FC. Para recuperar y enumerar CT y CF injuriados se utilizó el medio m-T7, para CT las placas con el medio se incubaron a 35°C por 24 horas, para CF se dió primero un periodo de aclimatación de 8 horas a 35°C y luego 12 horas a 44,5°C. Para la especificación bacteriana se empleó pruebas bacteriológicas estándares (Holt, 1994) y el sistema API 20E (Bio Merieux Products). Para el recuento de bacterias heterotróficas se empleó la técnica de spread plate en agar Plate count a 35°C. Para el estudio de bacterias injuriadas sólo se consideraron las muestras que resultaron negativas para CT y CF tanto en la prueba de Tubos múltiples como en la de Filtración por membrana y/o cuyo recuento de bacterias heterotróficas fue inferior a 500 ufc/mL.

RESULTADOS

En las 100 muestras de agua provenientes del sistema de abastecimiento y distribución de agua de edificios de Lima-Cercado se comprobó que el 14% era inapta de acuerdo a las técnicas de recuento en placa y tubos múltiples y que el 15% era inapta de acuerdo a la técnica de membrana filtrante (Tablas 1 y 2).

Tabla 1. Muestras de agua inaptas empleando la Técnica de recuento en placa y de tubos múltiples (*)

Análisis	N.º	%
Muestras inaptas	14	100
Bacterias heterotróficas	6	42,86
Coliformes totales	13	92,85
Coliformes fecales	5	35,71

(*) Total de muestras: 100.

En las muestras que resultaron aptas en ambos procedimientos el 29,41% (25) presentó coliformes injuriados utilizando el agar m-T7 (Tabla 3).

Tabla 2. Muestras de agua inaptas empleando la Técnica de membrana filtrante (*).

Análisis	Nº	%
Muestras inaptas	15	100
Bacterias heterotróficas	6	40,00
Coliformes totales	14	93,33
Coliformes fecales	5	33,33

(*) Total de muestras: 100.

Tabla 3. Muestras de agua inaptas utilizando el agar m-T7 (*).

Análisis	Nº	%
Muestras inaptas	25	29,41
Coliformes totales injuriados	25	29,41
Coliformes fecales injuriados	6	7,06

(*) Total de muestras: 85.

En las 15 muestras consideradas inaptas con los métodos estandar se demostró que el 60% (9) tenían un contenido de CLR entre 0,1 y 0,5 ppm y que el 33,33% (5) carecía de CLR; en las 25 muestras consideradas inaptas utilizando el agar m-T7 se demostró que el 72% (18) tenía un contenido de CLR entre 0,1 y 0,5 ppm y el 16% (4) entre 0,6 y 1,0 ppm (Tabla 4).

Tabla 4. CLR en muestras inaptas empleando los métodos convencionales y el agar m-T7.

Cloro libre residual CLR ppm o mg/L	Inaptas-Métodos convencionales(*)		Inaptas-agar m-T7	
	Nº	%	Nº	%
0,0	5	33,33	3	12
0,1 – 0,5	9	60,00	18	72
0,6 – 1,0	1	6,67	4	16
1,1 – 1,5	0	0	0	0
Total	15	100	25	100

(*) Métodos convencionales: Recuento estándar en placa, Tubos múltiples y Membrana filtrante.

No se encontró relación significativa entre el pH y las muestras consideradas inaptas.

Entre los Coliformes injuriados recuperados con el agar m-T7 se identificaron: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter spp* y *Klebsiella sp*. (Tabla 5).

Tabla 5. Coliformes injuriados identificados.

Análisis	Nº	%
Total de muestras	25	100
<i>E. coli</i>	4	16
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9	36
<i>E. cloacae</i>	4	16
<i>Enterobacter sp.</i>	2	8
<i>Citrobacter freundii</i>	2	8
<i>Citro-bacter spp</i>	2	8
<i>Klebsiella sp</i>	2	8

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La calidad microbiológica del agua para consumo humano en el Perú es evaluada principalmente mediante la detección y enumeración de coliformes (ITINTEC, 1987). Sin embargo, estas bacterias pueden injuriarse y no detectarse cuando se emplean los métodos de tubos múltiples y membrana filtrante considerados como métodos estandar para el análisis de aguas (APHA, 2005; Kang y Siragusa, 2001).

El recuento de Coliformes determina el grado de contaminación fecal humana o de animales y la posibilidad de que se encuentren microorganismos patógenos. Debido a que las muestras de agua analizadas provienen de una planta de tratamiento y que existe descuido en la protección del agua en los sistemas de abastecimiento y distribución de agua (SADA) en los edificios de Lima- Cercado (Vergaray y Méndez, 1994), es posible pensar que la contaminación fecal es de origen humano y se ha producido principalmente en la red pública de distribución y en los SADA de los edificios.

El hecho de encontrar que el 29,41% de las muestras de agua consideradas aptas por la Norma Técnica Peruana se encuentra contaminada con coliformes totales es un dato importante que nos permite corroborar hallazgos similares como los reportados por Basualdo et al.(2001) y Rubio (2004), quienes también utilizaron el agar m-T7. Los primeros encontraron bacterias coliformes injuriadas en el 58% de las muestras, la segunda en el 46,55%; porcentajes superiores al obtenido por nosotros, posiblemente debido a que ellos trabajaron con muestras de agua obtenidas de la red de distribución pública y nosotros con muestras obtenidas del último grifo del SADA de cada edificio. En nuestro caso hubo un mayor tiempo de acción del CLR que pudo haber favorecido la muerte bacteriana.

Es interesante destacar que concentraciones de 0,1 a 0,5 ppm de CLR en el agua no necesariamente eliminan a coliformes, aunque es necesario tomar en

cuenta el tiempo de acción, el pH y otros factores. Con el empleo de los métodos convencionales se encontró que en el 60% de las muestras positivas para coliformes, el CLR estaba en el rango mencionado y en el caso de los coliformes injuriados en el 72%. Debemos considerar que el cloro es uno de los causantes de la injuria bacteriana y que la bacteria puede protegerse del cloro mediante elementos inertes o una capa fina de polisacáridos en las biopelículas.

No se encontró relación significativa entre el pH y las muestras de agua consideradas inaptas para el consumo humano empleando los métodos convencionales y el agar m-T7.

Las bacterias identificadas como pertenecientes a los géneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella* son coliformes que también han sido aislados en los trabajos de Basualdo et al. (2001) y Rubio (2004).

Del estudio se concluye que el agua de bebida que se consume en Lima- Cercado y que es considerada apta por la Norma Técnica Peruana puede tener contaminación fecal y constituir un riesgo para la salud de los usuarios y que la presencia de CLR no garantiza su inocuidad. Se considera conveniente emplear como rutina una técnica adecuada para detectar coliformes injuriados y disminuir el riesgo de infección por patógenos vehiculizados por el agua.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Public Health Association (2005). Standards Methods for Examination of Water and Waste water. 21th edition. Washington D.C.
2. Basualdo, J.A. et al. (2001). Aislamiento y caracterización de coliformes injuriados provenientes de la red de distribución de agua de bebida de la Plata, Argentina. *Revista Argentina Microbiol.* 33(1): 9-14.
3. Holt, J.G. et al. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th edition. The Williams & Wilkins Co. Baltimore.
4. Hughes, M. (1981). Potential impacts of improved water supply and excretal disposal on Diarrhoeal Disease Morbidity. World Health Organization Diarrhoeal Disease Control Programme. Geneva.
5. Instituto de Investigación Tecnológica Industrial y de Normas Técnicas (ITINTEC) (1987). Normas 214.003 y 214.009. Perú.
6. Kang, D.H.; Siragusa, G.R. (2001). A rapid two-fold dilution method for microbial enumeration and resuscitation of uninjured and sublethally injured bacteria. *Lett-Appl-Microbiol* 33(3): 232-236.
9. Organización Panamericana de la Salud (1985). *Guías para la calidad del agua potable* vol. 1. Washington D.C.
10. Prasad, D.; Henry, J.G.; Major, R. & Seth, R. 2001. Reduction of indicator organisms during biological solubilization of metals: a pilot study. *Environ- Technol.* 22(6): 631-638.
11. Rubio, N. (2004). *Calidad microbiana del agua de bebida en la Red Pública de Lima Este y Centro, mediante la detección y recuento de coliformes injuriados no detectados por Métodos Convencionales*. Tesis: Maestro en Tecnología Médica. UNFV.
12. Singh, A. et al. (1986). Assesment of in vivo revival, growth, and pathogenicity of *E. coli* strains after cooper and chlorine induced injury. *Applied and Environmental Microbiology* 52(4): 832-837.
13. Vergaray, G. y Méndez, C. (1994). Eficacia de un Programa para proteger la calidad del agua proveniente de plantas de tratamiento. *Revista Peruana de Epidemiología* 7(2): 5-10.