

Detección e incidencia de *Pseudomonas* en muestras de agua potable

Ramírez Zapata, E. L.^{1*} • Delgado Portales, R. E.¹ • Moscosa Santillán, M.¹
De La Cruz Martínez, A.¹ • Loredo Becerra, A.¹.

Palabras clave: agua, NMP, coliformes.
Key words: water, NMP, coliform

Introducción

De acuerdo con datos de la CONAGUA [1], en México, el consumo promedio de agua por persona es de 380 litros al día, empleando un 4% de esta para la higiene personal o para su consumo. Para utilizar el agua con estos fines, esta debe estar purificada, lo cual puede requerir un tratamiento completo de filtración, coagulación, sedimentación y desinfección, de los cuales, el de mayor relevancia microbiológica es la desinfección.

La desinfección tiene como propósito la inactivación de los microorganismos patógenos en el agua que incluyen formas relativamente sensibles, como las bacterias no esporuladas. El germicida de mayor empleo en la desinfección del agua es el cloro, en forma de hipoclorito o de cloro molecular. En el agua, ambos generan ácido hipocloroso y ion hipoclorito en con-

centraciones relativas que dependen del pH [2]. Otro agente químico también utilizado en la potabilización del agua es el ozono, ya que tienen la capacidad de inactivar bacterias y virus más rápidamente que el cloro y, aparentemente, tienen cierto efecto contra parásitos [2]. En cuanto a los tratamientos físicos, se sabe que la luz ultravioleta es utilizada debido a la acción letal que tiene sobre los microorganismos, ya que sus bases de moléculas de ácido nucleico absorben la luz UV y pierden su funcionalidad [2].

Uno de los grupos microbianos de mayor interés en el agua es el de los Organismos Coliformes, ya que su hallazgo en esta puede indicar la falta o ineficiencia en el proceso de potabilización y/o recontaminaciones durante la distribución. Además, el hallazgo específico de *Escherichia coli* o de coliformes termotolerantes en

¹ Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel Nava # 6, Zona Universitaria, 78210, San Luis Potosí, S. L. P., México.

* elsa.ramirez@uaslp.mx



el agua, constituye evidencias de contaminación fecal reciente y obliga a la investigación de potenciales fuentes de contaminación y eventual pérdida de la integridad de los sistemas de conducción y almacenamiento. En este sentido la NOM 201-SSA1-2015 [3] establece en el apartado 5.1.5.1.2 que, para el agua destinada para consumo humano, los límites para Organismos Coliformes con valores menores que 1.1 NMP/100 mL, cero UFC/100 mL o bien la ausencia de estos cuando la técnica de análisis lo permita. Sin embargo, un indicador específico no muestra características de aplicación segura para satisfacer o cubrir la diversidad de patógenos potencialmente presentes en el agua, tal es el caso de *Pseudomonas*, un patógeno oportunista del cual, la normativa anteriormente señalada indica su análisis solamente cuando se trate de agua mineral.

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo, aerobio con flagelo polar. Cuando se cultiva en medios adecuados produce piocianina, un pigmento verde azulado no fluorescente. Muchas cepas producen también el pigmento verde fluorescente pioverdina. Es un microorganismo común en el ambiente y puede encontrarse en las heces, el suelo, el agua y las aguas residuales [4]. Este patógeno oportunista puede causar diversos tipos de infecciones, coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos, donde puede invadir y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis. Los pacientes con fibrosis quística o inmunodeprimidos son propensos a la colonización por *P. aeruginosa*, lo que puede conducir a infecciones pulmonares progresivas graves [4].

Su presencia es significativa en algunos entornos como en los centros de salud y, aunque no hay evidencia de que los usos normales del agua de consumo humano sean una fuente de infección para la población en general, su capacidad de formar biopelículas representa un peligro para las personas con el sistema inmunológico comprometido.

En este sentido, el objetivo de este trabajo fue analizar la incidencia de *Pseudomonas* en muestras de agua potable proveniente de diversos ambientes mediante su seguimiento en la fase presuntiva de la detección de coliformes por la técnica de Número Más Probable

(NMP) y relacionar los resultados con la presencia o ausencia de los organismos coliformes.

Metodología

Se analizaron 66 muestras de agua provenientes de diferentes ambientes: 14 de bebederos, 16 del agua de la red, 29 de agua a granel y 7 de sistemas de filtración. Las muestras se colectaron en frascos estériles con tiosulfato de sodio al 10% y fueron transportadas en hieleras con refrigerantes sin que estos tocaran directamente los frascos. Todas las muestras se analizaron en un tiempo no mayor a 6 horas a partir de su muestreo.

Para la determinación de Organismos Coliformes se siguió la técnica de análisis señalada en el apéndice H de la NOM-210 SSA1-2014 [5]. Para la prueba presuntiva, en área de esterilidad se sembraron 5 porciones de 20 mL cada una de la muestra en tubos con 10 mL de Caldo Lactosado (BIOXON, Becton Dickinson de México®, México) triple concentración con campana de Durham estériles, dichos tubos se llevaron a incubar a 35°C por 48 horas. Una vez pasado este tiempo, de cada tubo que mostró la formación de gas, se tomaron tres asadas y se sembró en un número igual de tubos de Caldo Bilis Verde Brillante al 2% (DIFCO, Becton Dickinson Company,® USA) para la prueba confirmativa de Organismos Coliformes Totales y se llevaron a incubar por 48 horas a 35°C. Posterior a esto, se registró el número de tubos que presentó la formación de gas y, con los datos obtenidos, se calculó el NMP para Coliformes Totales, tomando como referencia la tabla H.8.4.3 de la NOM 210-SSA1-2014 [5].

Paralelamente, los tubos de las muestras presuntivas se mantuvieron en incubación a 35°C aún después de haber tomado la asada para la determinación de Organismos Coliformes hasta que presentaran una coloración verdosa (Figura 1). De los tubos que tuvieron dicha coloración, se sembraron por estría cruzada Agar *Pseudomonas* (DIFCO, Becton Dickinson Company®, USA) y se incubaron a 35°C por 24 horas. Aquellas cajas que presentaron la producción de pigmentos verdes y/o azules, se consideraron como *Pseudomonas* (Figura 1), se registraron los datos y se reportó de acuerdo con establecido en la tabla H.8.4.3 de la NOM 210-SSA1-2014 [5].

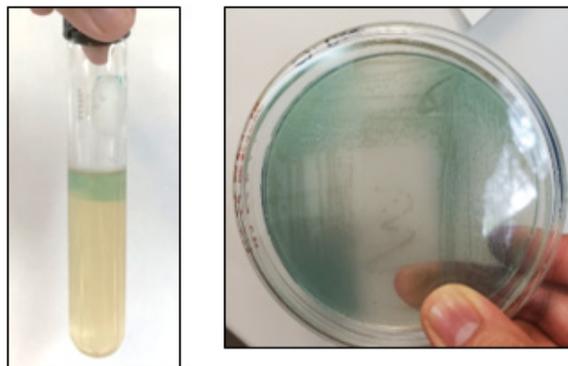


Figura 1. Tubo de prueba presuntiva de la técnica NMP (caldo lactosado) con coloración verdosa y sin gas y placa confirmativa en agar *Pseudomonas*

Resultados y discusión

Del total de las 66 muestras de agua analizadas el 37.87% (25/66) rebasan el límite de organismos coliformes (OCT) <1.1 NMP/100 mL, declarados como indicadores de la calidad sanitaria en la NOM-201-SSA1-2015 [3] que aplica para hielo y agua envasada y a granel. Esta norma establece la búsqueda de *Pseudomonas* sólo para agua mineral, sin embargo, se encontró *Pseudomonas* spp. en el 18.18% (12/66) de las muestras de agua analizadas.

En la Figura 2, se muestran los resultados del porcentaje de muestras positivas para OCT y/o *Pseudomonas* spp. en cada tipo de agua.

En primera instancia, se encontró que *Pseudomonas* spp. se presentó en el agua obtenida de bebederos, de los sistemas de filtración domésticos y del agua a granel. Esto se pudiera deber a que en los tres tipos de agua, involucran el paso de esta a través de zonas estrechas, tales como los filtros o cartuchos, por lo que, cuando el sistema no se utiliza, el agua puede quedarse estancada en las zonas estrechas y, si hay presencia de *Pseudomonas* spp. en el agua, está se puede quedar en estas zonas, creando biopelículas, mismas que causarían que el microorganismo persistiera durante un largo periodo de tiempo. Por otro lado, la presencia de OCT en los cuatro tipos de agua, refleja deficiencias en los procesos de potabilización, por ejemplo, en el agua a granel, pudiera indicar problemas durante el tratamiento de potabilización o incluso, deficiencias en el lavado de garrafones.

En segunda instancia, los resultados obtenidos revelaron que, para cada tipo de agua, cuando la incidencia de *Pseudomonas* era alta, la incidencia de OCT era baja, y cuando la incidencia de OCT era alta, la incidencia de *Pseudomonas* era baja. Fueron pocas las muestras que presentaron tanto OCT como *Pseudomonas* spp. al mismo tiempo (7.14% para el agua de bebederos; 14.28% para el agua de los sistemas de filtración; 6.89% para el agua a granel y 0% para el agua de la red municipal). Estos resultados, concuerdan con lo reportado por Coelho y col, 2010 [6], donde se reporta que el género *Pseudomonas* produce sustancias bacteriostáticas que afectan a algunos microorganismos pertenecientes al grupo coliforme.

Estos resultados adquieren especial relevancia cuando se contrastan con las especificaciones microbiológicas de la NOM-201-SSA1-2015, donde se señala la ausencia de los OCT en todos los tipos de agua para consumo humano, y que la determinación de *Pseudomonas* spp debe realizarse exclusivamente cuando se trate de agua mineral, sin embargo, dado lo observado en este trabajo, la ausencia de OCT no garantiza que no exista *Pseudomonas* spp. por lo se recomienda reconsiderar los parámetros microbiológicos estipulados actualmente y agregar la determinación de *Pseudomonas* spp a otros tipos de agua, con el objetivo de garantizar la calidad de la misma, principalmente para las personas con el sistema inmunológico comprometido.

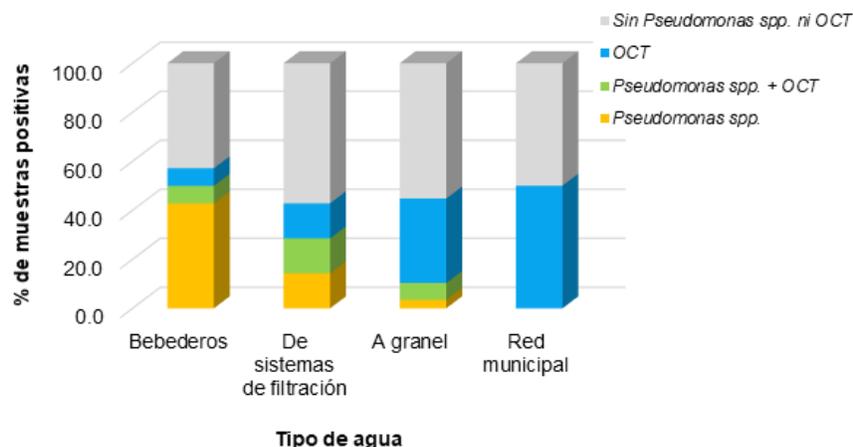


Figura 2. Porcentaje de incidencia de *Pseudomonas* spp. y de OCT en muestras de agua

Finalmente, se destaca que la metodología utilizada para la detección de *Pseudomonas* spp. puede realizarse de manera paralela a la prueba presuntiva en la detección de OCT, prolongando dicha prueba. Esta metodología pudiera servir para la identificación de *Pseudomonas* spp. sin la necesidad de adquirir otros tipos de caldos de cultivo.

Conclusión

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la técnica de detección de Número Más Probable para Organismos Coliformes funcionó como un indicador de la presencia de *Pseudomonas* en la prueba presuntiva a través de la generación de tonalidades verdes en el caldo y esto a su vez, pudo ser confirmado mediante la siembra en el agar.

También, hay que tomar en consideración que, aunque hay una tendencia a que la presencia de *Pseudomonas* no esté relacionada con la presencia de OCT, no todos los tipos de agua presentan el mismo comportamiento. Aunque las normas establecen la búsqueda de *Pseudomonas* solo en agua mineral, este trabajo muestra la necesidad de su determinación en otros tipos de agua.

Referencias

- Hernández, C., Aguilera, M., Castro, G. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2011 31 (4): 137-151
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA); 2015 http://www.conagua.gob.mx/conagua07/contenido/documentos/carrera_agua_2015.pdf Acceso: 29 de agosto, 2022: 23.

www.conagua.gob.mx/conagua07/contenido/documentos/carrera_agua_2015.pdf Acceso: 29 de agosto, 2022: 23.

- Fernández Escartín E. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. 2nd ed. *Universidad Autónoma de Querétaro*; 2008:438-486.
- Diario Oficial de la Federación*. NORMA Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420977&fecha=22/12/2015#gsc.tab=0 Acceso: 29 de agosto, 2022.
- World Health Organization*. Guías Para la Calidad del Agua de Consumo Humano. 4ª Edición. Ginebra; 2011 <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272403/9789243549958-spa.pdf?ua=1> Acceso: 29 de agosto, 2022: 290.
- Diario Oficial de la Federación*. NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015#gsc.tab=0 Acceso: 29 de agosto, 2022.
- Coehlo, M.I.S., Mendes, E. S., Cruz, M. C. S., Bezerra, S. S. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais consumidas na região metropolitana de Recife, Estado de Pernambuco (Evaluation of the microbiological quality of mineral water consumed in the metropolitan region of Recife, Pernambuco State). *Acta Scientiarum Health*. 2010. Sciences 32(1), 1–8.