

Rev. Cienc. Tecnol.
Año 9 / Nº 9 / 2007 / 32-35

ESTUDIO DE *ENTEROCOCCUS SPP.* EN AGUAS DE ARROYOS DE POSADAS. MISIONES

Amanda B. Pucciarelli R.; Emilce R. Zubreski; Martha H. von Specht; Fernando. O. Benassi (†).

Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Biotecnología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Félix de Azara 1552, Posadas, Misiones, (3300), Argentina.

E-mail: mima@fceqyn.unam.edu.ar.

STUDY OF *ENTEROCOCCUS SPP.* IN STREAMS WATER OF POSADAS CITY, MISIONES

ABSTRACT

Control of sanitary quality of environmental resources was carried out by faecal indicator bacteria count: *Escherichia coli* and *Enterococcus spp.*; identifying these bacteria with a biochemical profile can determine the degree of contamination of stream and rivers waters. Sixty water samples were examined, taken from different streams (Antonica, Mártirez, Vicario, Zaimán and Divisa) of Posada City. Bacteria count and their isolation were carried out according to the standard method for water and streams. The results were variable (23 to 150.000 MPN/100mL). From 172 apparent strains isolated, 165 were *Enterococcus*. 75% *Enterococcus faecalis*, 13% *Enterococcus faecium*, 5% *Enterococcus hirae*, 2% *Enterococcus gallinarum*, 1% *Enterococcus durans*, 1% *Enterococcus avium* and 5% no enterococcus. These results showed contamination comes from waste water and riverine population, hence there is a potential risk of humans colonization in contact with any of these streams evaluated

KEYWORDS: *Enterococcus*, water, Enumeration media.

RESUMEN

El control de calidad sanitaria de los recursos ambientales se realiza por el recuento de bacterias indicadoras de contaminación fecal: *Escherichia coli* y *Enterococcus spp.* Caracterizando el perfil bioquímico de estos indicadores se puede determinar el grado de contaminación de las aguas de arroyos, ríos y otros. Se examinaron 60 muestras tomadas de distintos arroyos (Antonica, Mártirez, Vicario, Zaimán y Divisa) de la ciudad de Posadas; el recuento y aislamiento se realizaron según métodos estandarizados. El recuento fue variable (23 a 150.000 NMP/100mL.). De las 172 cepas presuntivas aisladas, 165 fueron pertenecientes al género de *Enterococcus*: 75% *Enterococcus faecalis*; 13% *Enterococcus faecium*, 5% *Enterococcus hirae*; 2% *Enterococcus gallinarum*; 1% *Enterococcus durans*; 1% *Enterococcus avium* y 5% no enterococo. Los resultados reflejaron que la contaminación proviene de vertidos de efluentes y población ribereña, lo cual significa un riesgo potencial de colonización para humanos en contacto con los arroyos evaluados.

PALABRAS CLAVE: *Enterococcus*, Agua, Enumeración.

INTRODUCCIÓN

Microorganismos como *Escherichia coli*, colifagos; *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium perfringens* y el grupo de enterococos forman parte de la flora del tracto gastrointestinal del hombre y animales de sangre caliente y son excretados por las heces. Su presencia en el ambiente indica contaminación de origen fecal con el alto riesgo de aparición de gérmenes patógenos. La enumeración de estas bacterias indicadoras de contaminación fecal es utilizada para valorar la calidad sanitaria de alimentos, sedimentos (lodos) y aguas destinadas al consumo humano, la agricultura, la industria y la recreación [8].

Las autoridades sanitarias utilizaban a los estreptococos fecales, actualmente clasificados en el género *Enterococcus*, para evaluar la calidad sanitaria de sus recursos naturales. Tenía importancia el cociente coliforme fecal / "enterococo" como un indicador de la naturaleza de la fuente fecal. Sin embargo, factores como las diferencias de los rangos de muerte en el ambiente entre estos dos indicadores, la supervivencia variable de algunas de las especies de enterococos y los métodos para la determinación de estos últimos, hicieron que su empleo fuera cuestionable. Por otra parte, se estima que en general no se multiplican en el medio hídrico, y su presencia en aguas revelaría una contaminación reciente [1].

Aún así, investigadores de Canadá recomiendan a este género como el indicador más apropiado en aguas marinas porque sobreviven en ellas más que los coliformes fecales. Son elegidos cuando hay un tiempo o distancia considerable entre la fuente de contaminación fecal y el área de baño. Se observó una correlación positiva entre enfermedades gastrointestinales, del tracto respiratorio superior, infecciones de la piel u oído y niveles de enterococos en aguas de recreación [1].

Originalmente, el género *Streptococcus* comprendía un grupo heterogéneo de bacterias grampositivas de importancia en medicina y la industria. La taxonomía actual de este grupo incluye tres géneros: *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*; a este último corresponden *E. faecalis*, *E. faecium* entre otras especies ya que se conocen más de 25. [7].

Los Enterococos son cocos grampositivos, la mayoría inmóviles, anaerobios facultativos, catalasa negativa, no forman endoesporas ni cápsulas [8]. Tienen habilidad para crecer en presencia de 6,5% de ClNa; a 10°C y 45°C, y a pH 9,6. Son capaces de hidrolizar la esclulina en presencia del 40% de bilis y poseen la enzima pyrrolidonylarylamidasa. [3, 5, 7]. Se caracterizan por poseer largos períodos de sobrevivencia en ambientes hostiles, por lo que se han transformado en importantes agentes

causales de infección nosocomial, pudiendo además causar una serie de infecciones adquiridas en la comunidad aunque no son considerados microorganismos patógenos. [7].

Según el nivel guía para recreación humana (NGR), *Escherichia coli/Enterococcus*: para un número de muestras estadísticamente suficientes (no menos de 5 muestras igualmente espaciadas durante un periodo de 30 días) la media geométrica de la densidad bacteriana no deberá exceder uno u otro de los siguientes valores: *Escherichia coli* 200 col/100mL, y enterococos 33 col/100mL. [6].

Como ciertas especies de este grupo son huésped-específicas, la caracterización bioquímica puede brindar una valiosa información adicional sobre el origen de la contaminación [2]. El monitoreo de aguas de arroyos interiores de la ciudad de Posadas resultaría una herramienta eficaz para alertar en caso de detectarse un aumento de las mismas.

El objetivo de este trabajo fue determinar el tenor de la contaminación de las aguas de estos arroyos, aislando y caracterizando su perfil bioquímico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con sesenta muestras de aguas de arroyos interiores de la ciudad de Posadas, que fueron tomadas y procesadas para recuento y aislamiento según metodología descrita en el APHA (*American Public Health Association*) 1998 20ª Ed. [1].

Toma de Muestras

Se efectuó la toma de muestras en distintos puntos del río Paraná y arroyos de la ciudad de Posadas, las cuales fueron transportadas al laboratorio en forma refrigerada, para ser procesadas dentro de las 12 hs. [1].

Se trabajó con una frecuencia de muestreos cercana a 5 muestras en 30 días, en las distintas estaciones del año.

Determinaciones bacteriológicas

Se realizaron diluciones seriadas de las muestras con agua destilada estéril como diluyente.

Se utilizó el método de fermentación de los múltiples tubos, con la expresión de resultados como Número Más Probable NMP/100mL. Se realizaron series de tres tubos con caldo de enriquecimiento azida dextrosa de doble y simple concentración, los que se incubaron a 35°C durante 24-48hs. Los tubos que presentaron turbidez fueron confirmados por diseminación en placas de agar KF para estreptococos [2, 4, 5, 9].

Las colonias típicas fueron repicadas en tubos estrías

de agar Infusión Cerebro Corazón (BHIA) y se incubaron a 37°C durante 24 h.

Con estos cultivos se efectuaron tinción de Gram, reacción de la catalasa, y pruebas bioquímicas de identificación de género y especies tales como: hidrólisis de Arginina, desarrollo a 45°C y 10°C, movilidad, actividad de la enzima pirrolidonilarilamidasa (PYR), bilis esculina, desarrollo en medio con NaCl al 6,5% y con telurito al 0,04%, y producción de ácido de manitol, arabinosa, sacarosa y rafinosa; con los que se obtuvieron las distintas especies que fueron posteriormente confirmadas por el INEI ANLIS Malbrán. [2, 4, 5].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudiaron 60 muestras de agua provenientes de los arroyos: Itá, Antonica, Mártires, Vicario, Zaimán y Divisa.

El NMP/100mL osciló entre 23 y 150.000/100mL. Estos datos se presentan en la Tabla 1.

Se aislaron 172 cepas presuntivas, de las cuales 165 fueron pertenecientes al género *Enterococcus*. Con las tipificaciones realizadas se obtuvieron las distintas especies que se muestra en la Figura 1.

Tabla 1: Determinación del Número Más Probable en muestras de aguas de arroyos interiores de Posadas, Misiones. N=60.

ARROYO (Nº de mtras)	NMP/100 ml	Valor límite
Itá (10)	210-93.000	33 NMP/100ml
Antonica (10)	11.000-150.000	
Mártires (10)	240-2300	
Zaimán (10)	23-3.900 (*)	
Vicario (10)	93-11.000	
Divisa (10)	2.400-93.000	

(*) 2/10 muestras presentaron valores menores a 33 NMP/100ml.

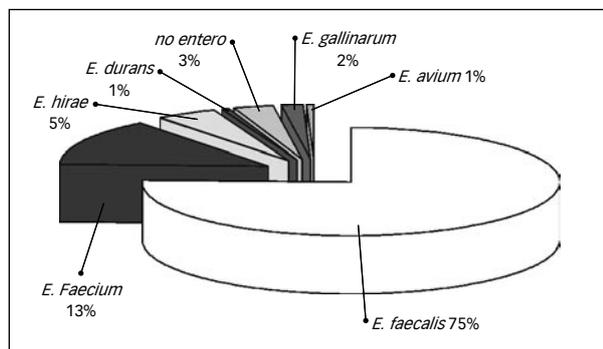


FIGURA 1. *Enterococcus* aislados de aguas de arroyos en Posadas, Misiones. Frecuencia de las especies tipificadas. (N=172).

La contaminación es un problema mundial inquietante en los lugares donde la población está creciendo rápi-

damente como la ciudad de Posadas, y no hay suficiente control sanitario sobre los efluentes arrojados a los cursos de aguas superficiales y profundas [2].

Los arroyos muestreados tienen sus cursos en distintos lugares de la ciudad desembocando en el Río Paraná.

Considerando los niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente, con valores de hasta 33 NMP/10mL como aceptables, los recuentos obtenidos indican un alto nivel de contaminación en las aguas estudiadas. Esto significa un riesgo potencial de colonización para humanos en contacto con cualquiera de los arroyos evaluados. [6].

La variedad de estos datos, especialmente los picos de contaminación, probablemente se deba a que las tomas realizadas se efectuaron después de frecuentes precipitaciones fluviales. Además se debe tener en cuenta la inconciencia e irresponsabilidad de la población ribereña establecida en los márgenes de dichos cursos de agua que continuamente arrojan los desechos que superan la autodepuración lenta del agua. La fotografía tomada del arroyo Vicario permite ilustrar estas observaciones. [2].

Cabe señalar que el origen de la contaminación registrada en estos cursos podría atribuirse además a los efluentes industriales que se vierten en algunos de ellos.

CONCLUSIÓN

El aislamiento significativo de los *Enterococcus faecalis* seguido por los *E. faecium*, *E. hirae* y *E. durans*, evidencia una contaminación fecal apreciable de origen humano y animal, la cual puede provenir de los pobladores asentados en las orillas de los mismos, además de efluentes y residuos arrojados en dichos cursos (Foto).



Arroyo Vicario: se observan materiales plásticos, papeles y otros residuos.

La detección de Enterococos en cuencas hídricas tiene importancia epidemiológica, no solo por su posible origen del tracto intestinal, sino por ser causa potencial de cuadros sépticos, y por ser gérmenes que desarrollan con facilidad resistencia antimicrobiana (a la vancomicina, glucopéptidos, aminoglucósidos y cefalosporina). Se recomienda una constante vigilancia de las causas de la contaminación y saneamiento en cada uno de ellos.

REFERENCIAS

1. American Public Health Association (APHA), Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 20Ed. 1998.
 2. **Benassi, F. O.; Palmieri de Morey, S.; Leardini, N.** Investigación de Estreptococos Fecales en Aguas del Arroyo Zaimán, Revista Argentina de Microbiología. Vol.18-Nº2:79-82. 1986.
 3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th. Ed. 1994.
 4. Enterococcus spp. Identificación y Características Generales. Boletín Nº10 Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología. Mayo, 1999.
 5. **Facklam, R. R.; Sahm, D. F.; Teixeira, L. M.** Enterococcus in Manual of Clinical Microbiology. Murray PR *et al.* American Society for Microbiology. Washington: 297-305. 1999
 6. Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente. Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación. Diciembre, 2001.
 7. **Ruoff, K. L.** Recent taxonomic changes in the Enterococcus. Curr Topic Rev. 9(2):75-9.1990.
 8. **Suarez Pita, M.** Tendencia Actual del Estreptococo como Indicador de Contaminación Fecal. Rev Cubana Hig Epidemiol. 40(1): 38-43. 2002.
- Yoshpe Y- Purer**
Evaluation of media for Monitoring Fecal Streptococci in seawatwer. Applied and Envirom Microbiol Vol 55. Number 8- 2041-2045. 1989.

Recibido: 05/12/05.

Aprobado: 10/09/07.

- Amada Beatriz Pucciarelli Román.

Laboratotista Quimico Industrial. Magister en Tecnología de Alimentos. Desde 1992 como Docente Auxiliar en Cátedras Microbiología General, Microbiología

Industrial, Microbiología de Alimentos y Biotecnología; y en Maestría en Tecnología de Alimentos(1998) (Departamentos Ciencia y Tecnología de Alimentos; e Ingeniería Química- FCEQyN). Investigador Categoría IV (Programa Nacional Incentivos-2004); Participa en Proyectos sobre procesamiento y obtención de alimentos y calidad de aguas. Además, en el Departamento de Medio Ambiente realiza análisis microbiológico de aguas superficiales, efluentes, lixiviados, ambiental y otros materiales.

- Emilce Roxana Zubresky

Bioquímica. Lab. Qco. Industrial. Docente del Instituto San Basilio Magno de Posadas, EGB1- EGB2. Además es Auxiliar Docente desde 01/07/91 en Cátedras de Microbiología General (Ingeniería Química) y Microbiología Industrial (Lab.Qco.Ind.) de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales- UNaM. Investigador Sin Categoría Participante de 4 Proyectos de Investigación acreditados por el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico (Cidet) y de 3 Proyectos de Investigación pertenecientes al Programa de Incentivos del Ministerio de Educación de la Nación.

- Martha Helena von Specht.

Bioquímica (Universidad Nacional de Misiones, 1989). Especialista en Microbiología Clínica (UNaM, Carrera de Especialización en Microbiología Clínica. Jefe de Trabajos Prácticos, dedicación exclusiva Cátedra de Microbiología, desde 1989 y continúa. Docente de la Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos FCEQyN desde 1997 y continúa. Dictado de 4 cursos de post grado. Investigador Categoría IV (PNI).Integrante comisión de Residuos Tóxicos y Peligrosos FCEQyN. UNaM. Bacterióloga del Laboratorio de Referencia de la Provincia de Misiones, Hospital Provincial de Pediatría de Misiones. Investigador Categoría III (Programa Nacional Incentivos-2006); Participaciones anteriores en cinco proyectos de investigación acreditados.

- Fernando Olivio Benassi (Fallecido)

Licenciado en Química. Doctor en Química. Fue Profesor Titular de Química Inorgánica y Microbiología General e Industrial; Docente de la Maestría en Tecnología de Alimentos (Departamentos de Ciencia y tecnología de Alimentos y de Química);Integrante Investigador Categoría II (Programa Nacional Incentivos-1998); Dirigió Proyectos sobre Microbiología en Alimentos y Aguas.