

Determinación de la familia enterobacteriaceae asociada a la toma de agua de las potabilizadoras Roberto Reyna y Rufina Alfaro de Chitré y Los Santos, respectivamente, durante las temporadas seca y lluviosa, año 2016.¹

Determining the occurrence of the *Enterobacteriaceae* Family associated to the water purification plants Roberto Reyna and Rufina Alfaro in Chitré and Los Santos, respectively, during the dry and rainy seasons, year 2016.

Verónica Almanza², Yitsia López³ y Alexis De La Cruz⁴

¹Efectuado en base a los resultados de la tesis para optar por el título de Licenciatura en Biología, titulada: "Determinación de la flora bacteriana asociada a la toma de agua de las potabilizadoras Roberto Reyna (Chitré) y Rufina Alfaro (Los Santos) durante la temporada seca y lluviosa del año 2016".

²Licenciada en Biología; veronicamade15@gmail.com

³Licenciada en Biología; yitsia2723@gmail.com

⁴MSc. Profesor, Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Centro Regional Universitario de Azuero; alexisdelac@gmail.com

Resumen: Este trabajo aborda el tema relacionado a la determinación de la familia *enterobacteriaceae* asociada a la toma de agua de las potabilizadoras Roberto Reyna y Rufina Alfaro durante la temporada seca y lluviosa. Las muestras fueron tomadas en la parte alta, media y baja de ambas tomas de agua y procesadas a través del recuento de unidades formadoras de colonias, aislamiento e identificación de bacterias mediante pruebas bioquímicas. El análisis de las muestras se realizó en el Centro Regional Universitario de Azuero, en el área de la unidad de investigación, observando la presencia de microorganismos coliformes totales y fecales, con mayor número en la época seca, en comparación con la época lluviosa en ambas tomas de agua. La toma de agua de la Potabilizadora Rufina Alfaro resultó con mayor presencia de estos microorganismos por lo que se concluye que hay gran variedad de géneros bacterianos en ambas tomas de agua y que al encontrarse en cantidades significativas representa un riesgo para la población.

Palabras clave: familia enterobacteriaceae, planta potabilizadora, coliformes totales y coliformes fecales.

Abstract: This paper addresses the issue related to determining the occurrence of the *enterobacteriaceae* family associated to the water purification plants Roberto Reyna and Rufina Alfaro during the dry and rainy seasons, the samples of which were taken in the upper, middle, and lower parts of both water intakes and processed through the counting of colony-forming units, isolation, and identification of bacteria by biochemical tests. The analysis of the samples was carried out in the University Regional Center of Azuero, in the Research Unit Department, observing the presence of total coliform and fecal microorganisms, with greater number in the dry season, as compared to the rainy season in both water feeds. The water intake of the Rufina Alfaro water purification plant resulted in a greater presence of these microorganisms. We concluded that there is a great variety of bacterial genera in both raw water catchments, which represents a risk to the population when found in significant amounts.

Key words: *enterobacteriaceae* family, water purification plant, total coliforms, and fecal coliforms.

1. Introducción

El agua es una sustancia indispensable para la vida, ampliamente utilizada en actividades diarias (70% al 80%), la industria (20%), el uso doméstico (6%), entre otras; es uno de los recursos más apreciados en el planeta, de allí la importancia por conservar y mantener su calidad (ONU, 1992).

Por esta razón, es necesario determinar el tipo de microorganismo presente en el agua y su concentración, materiales indispensables para conocer la calidad de la misma y para la toma de decisiones en relación al tratamiento y conservación de ecosistemas, para así evitar el riesgo de contaminación de las personas y del ambiente.

La contaminación puede ser provocada por agentes patógenos como bacterias, virus, protozoos, helmintos y cianobacterias. Estos microorganismos pueden causar enfermedades con diferentes niveles de gravedad, desde una gastroenteritis simple hasta cuadros graves de diarrea, disentería, hepatitis o fiebre tifoidea. Cabe señalar que la transmisión hídrica es solo una de las vías, pues estos agentes patógenos pueden ser transmitidos a través de alimentos de persona a persona, debido a malos hábitos higiénicos o de animales al hombre, entre otras rutas (Prescott et al., 1996).

Para evitar dicha contaminación se realiza una serie de análisis de laboratorio dirigidos a conocer cualitativa y cuantitativamente las características biológicas que puedan afectar a los que la consumen. Por otra parte, (Madigan,2004) establece que los laboratorios de entidades encargadas de la producción y distribución de agua potable tienen la obligación de proteger a las comunidades utilizando los métodos y tecnologías que permitan tener un control eficiente de la calidad del agua potable.

El objetivo de este estudio consiste en determinar el microbiota enterobacteriaceae y parámetros físico-químicos que se encuentran asociados a las tomas de agua de las Potabilizadoras Roberto Reyna y Rufina Alfaro, ubicadas en las Provincias de Herrera y Los Santos, respectivamente, durante la época seca y lluviosa del año 2016, para así verificar la ocurrencia de géneros bacterianos detectados. De igual forma se midieron parámetros

físico-químicos y biológicos, ya que éstos están relacionados con el crecimiento de dichos géneros bacterianos.

2. Metodología

a. Ubicación del estudio

Este estudio fue realizado en el laboratorio de calidad de agua de la Planta Potabilizadora Rufina Alfaro en Los Santos; las muestras fueron colectadas en las tomas de agua ubicadas en el río de La Villa de donde se abastecen las plantas potabilizadoras Rufina Alfaro y Roberto Reyna. Las tomas de agua fueron divididas en una parte alta, media y baja para determinar la familia enterobacteriaceae asociada a cada una de ellas.

El Río La Villa es una cuenca de unos 1,284.3 km² y de 117 km de longitud. Dicha cuenca está ubicada en el arco seco panameño, en Azuero, entre El Montuoso en la cordillera occidental, donde tiene su nacimiento, constituyendo la principal fuente de agua potable a unas 94,000 personas de las provincias de Los Santos y Herrera. El drenaje principal de la cuenca se inicia en El Montuoso, cerca de la localidad de Tres Piedras, recorriendo unos 276.1 km, conformada principalmente por los ríos La Villa, Estivaná, Quebrada Grande, Quebrada Pesé, Toleta, entre otros. Su desembocadura se encuentra en el Golfo de Parita.

b. Diseño experimental

Este muestreo se hizo de manera aleatoria en las tomas de agua de las Potabilizadoras Roberto Reyna y Rufina Alfaro, durante un tiempo aproximado de seis meses, destacando la época seca y lluviosa del año 2016. Para cada época se hicieron ocho semanas de muestreos, haciendo un total de 288 entre las dos tomas de agua. Cabe señalar que de este estudio se hizo una réplica para así comparar los valores obtenidos.

c. Metodología de Campo

Toma de muestra

Las muestras que se analizaron fueron tomadas del afluente del Río La Villa, específicamente en las tomas de agua procedentes de las Potabilizadoras Rufina Alfaro en la Provincia de Los Santos y Roberto Reyna en la Provincia de Herrera. Se escogieron tres

puntos, de la parte alta, media y baja en cada una de ellas, para que la muestra fuera representativa a la hora de procesarla en el laboratorio.

Dichas muestras fueron tomadas en envases estériles de 100 ml, sujetado por el fondo con guantes, alejadas de la orilla del río en posición adversa a la corriente, sumergiendo el brazo a 20 cm de profundidad; luego se procedió a colocarle la tapa y ubicarlas en la nevera para mantener las características microbiológicas del agua hasta que llegaran al laboratorio para su respectivo análisis.

Es importante tomar en cuenta las medidas de asepsia a la hora de recolectar las muestras, para que así no hubiera una alteración microbiológica durante la evaluación de la calidad del agua; se utilizó envases estériles y guantes para la recolección de la misma. Estos envases con las muestras fueron etiquetados con su respectiva información para un mejor control a la hora de procesar los datos.

Además, se midieron parámetros físicos, químicos y biológicos como pH, temperatura y turbidez, medidos con pH metro, termómetro, turbidímetro.

d. Metodología de Laboratorio

Técnica utilizada para el procesamiento microbiológico de las muestras

La técnica utilizada para el procesamiento de las muestras de agua estaba basada en el Standard Methods que tiene la aplicación de incluir técnicas adecuadas para el examen de muchos tipos de muestras encontradas en la evaluación y control de calidad del agua y del agua contaminada. En este caso utilizamos filtración de membrana la que se basa en hacer pasar la muestra de agua problema a través de un filtro de membrana de 0.45 μ , en cuya superficie quedan retenidos los microorganismos.

El filtro de membrana consistía en un embudo de plástico autoclavable, transparente sujeto a una base por una fuerza magnética; este diseño permitía que la membrana quedara colocada de forma segura para la filtración.

En el análisis se efectuó una dilución por cada muestra recolectada, de las que se hizo filtración en volúmenes de 100 ml con la ayuda de una bomba de vacío; después se procedió

a retirar las membranas con los microorganismos retenidos para posteriormente ser colocadas en el agar correspondiente; en este caso se utilizaron los agares Endoless y MFC.

Posteriormente las membranas en los agares fueron incubadas por 24 horas a una temperatura de 35°C, con el objetivo de obtener un crecimiento de bacterias que se pudiera identificar con facilidad. Para el caso del agar Endoless se producían colonias de color rojo oscuro con un brillo verde metálico (Coliformes Totales) y para el caso del agar MFC se formaron colonias de color azul (Coliformes Fecales).

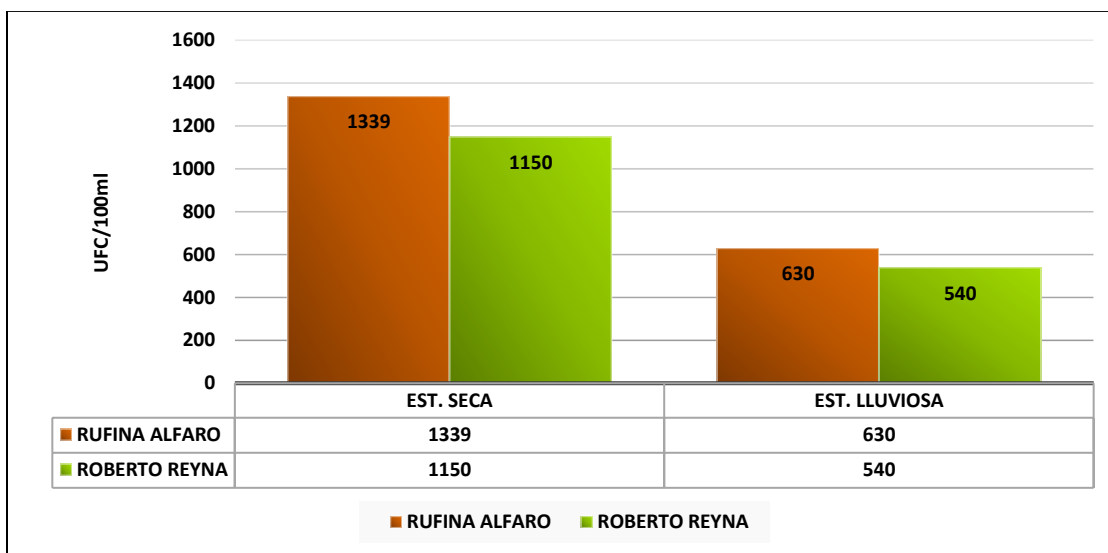
Aislamiento de coliformes totales y fecales

Se tomaron las colonias que crecieron en los agares MFC (Coliformes Fecales) y Endoless (Coliformes Totales), éstas fueron las de color azul para el caso de coliformes fecales y las rojas con un brillo metálico verdoso para el caso de coliformes totales. Fueron inoculadas en tubos que contenían agar nutritivo para ser aisladas, luego de transcurrido un tiempo se reactivaron en agua peptonada, después sembradas en agar McConkey incubándolas a una temperatura de 37°C por 24 horas para así poder realizarles la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas para su respectiva identificación TSI, Citrato, SIM.

3. Resultados y discusión

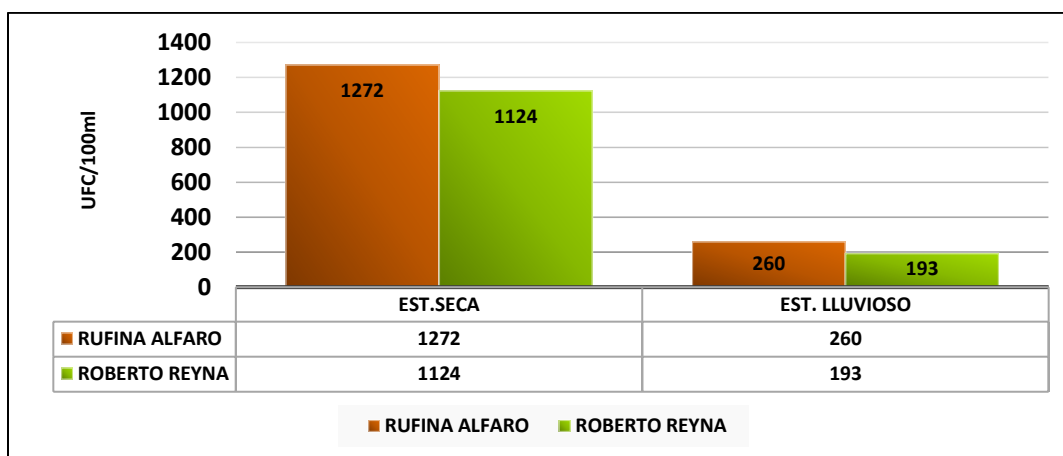
Los resultados encontrados demuestran que no hay gran variedad y diversidad de la microbiota asociada a las tomas de agua de las plantas potabilizadoras para ambas épocas como se muestran en las figuras 1 y 2.

Figura 1. Comparación de los niveles de coliformes totales en las tomas de agua de las plantas potabilizadora para ambas épocas.



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

Figura 2. Comparación de los niveles de coliformes fecales en las tomas de agua de las potabilizadoras Roberto Reyna y Rufina Alfaro para ambas épocas.

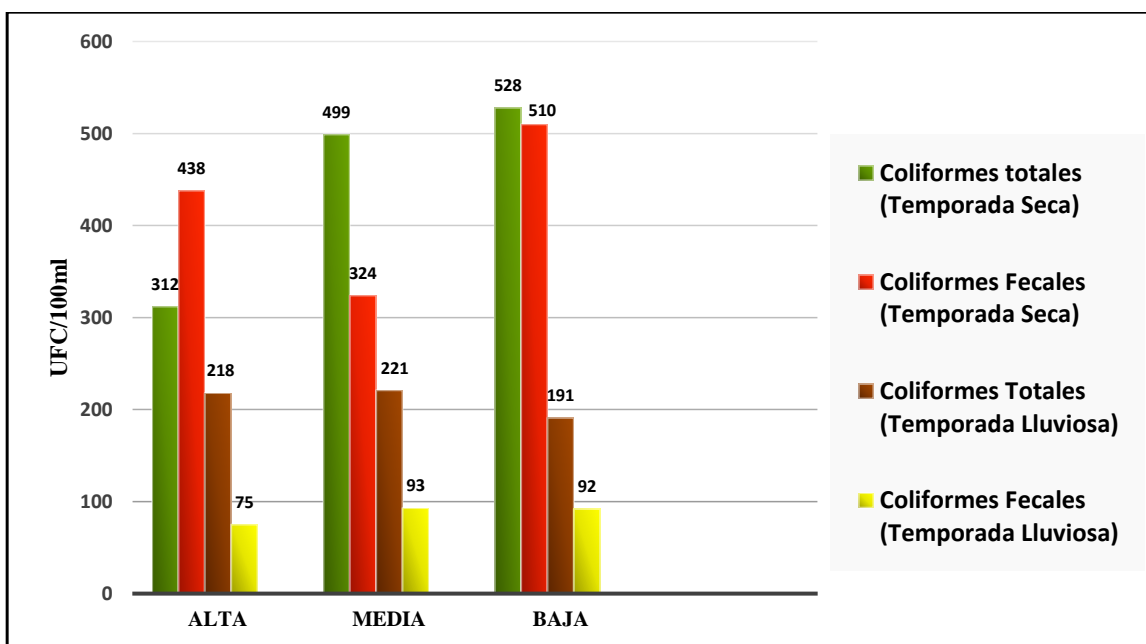


Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

En estas figuras se muestra que no hay diferencias entre las tomas de agua de las diferentes potabilizadoras, pero sí entre las épocas de estudio, ya que en la época seca es donde se dio el nivel más alto de estos microorganismos. Según un estudio realizado por De la Cruz (2008), en la Cuenca del Río La Villa, se concluye que los coliformes totales se

encuentran en mayor concentración para la época seca con respecto a la época lluviosa. En este mismo sentido, la toma de agua de la potabilizadora Rufina Alfaro fue la que presentó mayor incremento de coliformes totales, debido a que los puntos de muestreo se encontraban dentro de las actividades ganaderas, porcina y sembradíos agropecuarios contribuyendo así al aumento de estos microorganismos, a diferencia de la toma de agua de la potabilizadora Roberto Reyna donde los resultados obtenidos fueron bajos, debido al tipo de actividades que se realizan con menor frecuencia en esta área.

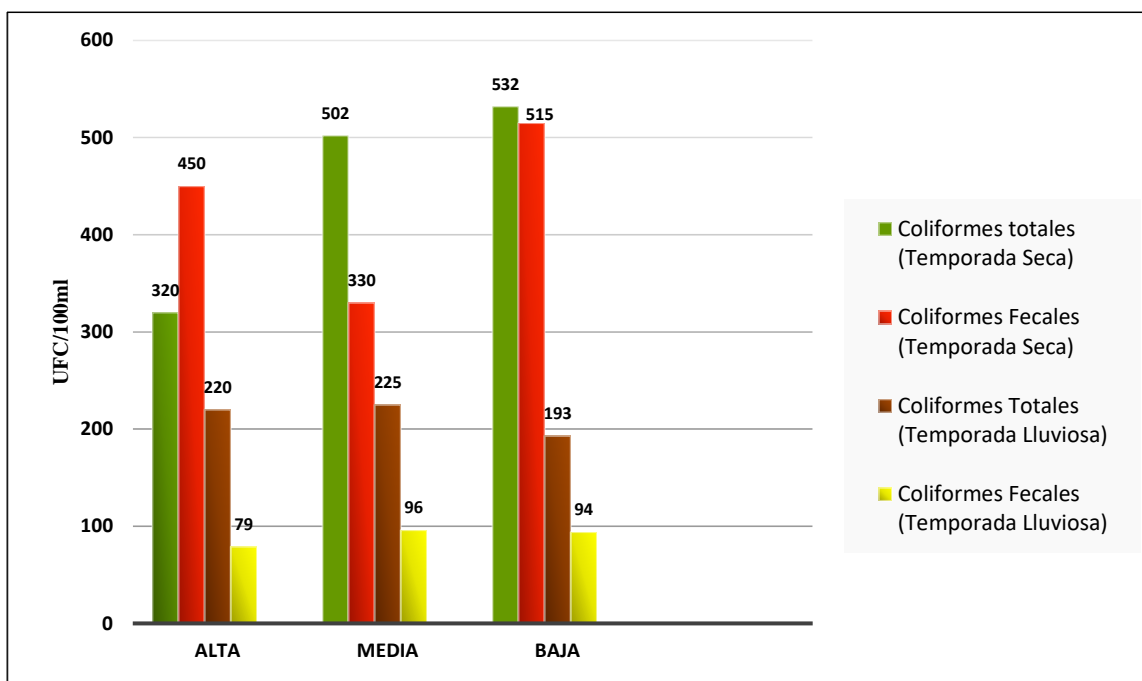
Figura 3. Niveles de coliformes totales y fecales en los diferentes puntos muestreados dentro de la toma de agua de la potabilizadora Roberto Reyna en ambas épocas



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

Con respecto a los resultados obtenidos, observamos que el valor de coliformes totales en la parte media es alto para esta toma de agua en la época seca, lo mismo ocurre con los coliformes fecales, solo con un valor más bajo.

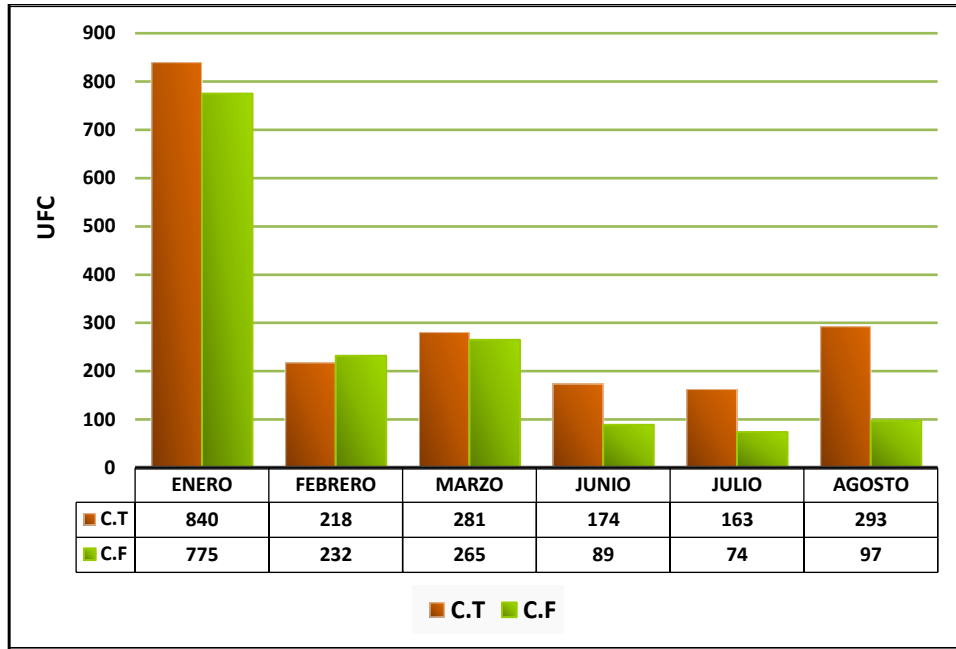
Figura 4. Niveles de coliformes totales y fecales en los diferentes puntos muestreados dentro de la toma de agua de la potabilizadora Rufina Alfaro en ambas épocas.



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

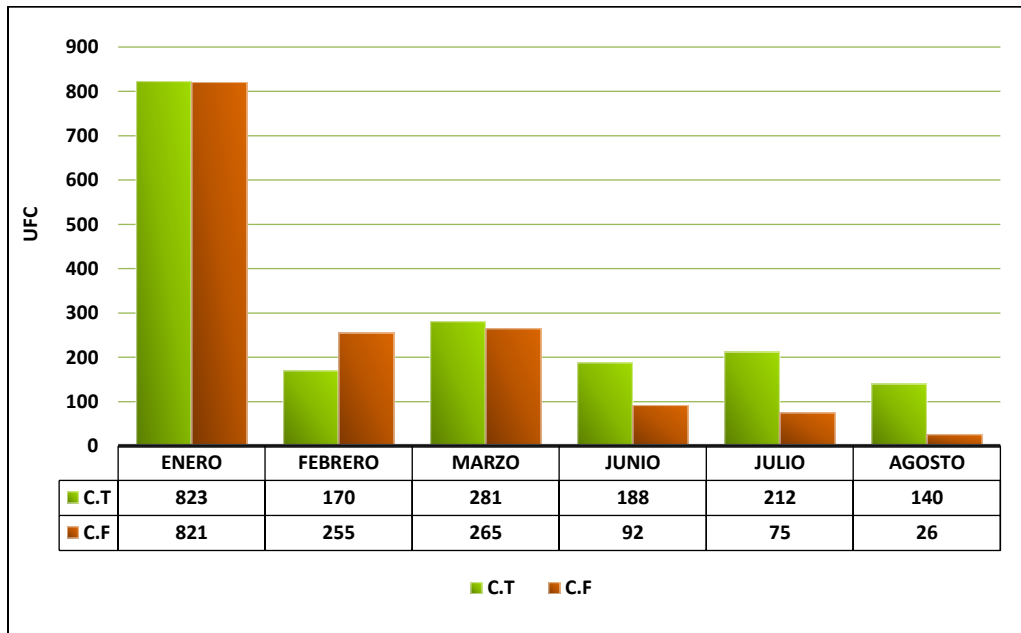
En la figura 4 se aprecia la misma tendencia que en la toma de agua Roberto Reyna donde el crecimiento de los microorganismos coliformes totales y fecales es alto de igual manera, para la época seca. Al comparar estos resultados con las normas de calidad de aguas superficiales nacionales e internacionales podemos llegar a la conclusión que la parte alta de la toma de agua contiene una buena calidad mientras que en la parte media se observa una disminución, esto según las normas y en la parte baja se determinó una calidad de regular a mala. Esto puede ser corroborado en un estudio realizado por ANAM, 2007.

Figura 5. Evaluación de los coliformes totales y coliformes fecales en los meses de muestreos en la toma de agua de la potabilizadora Rufina Alfaro.



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

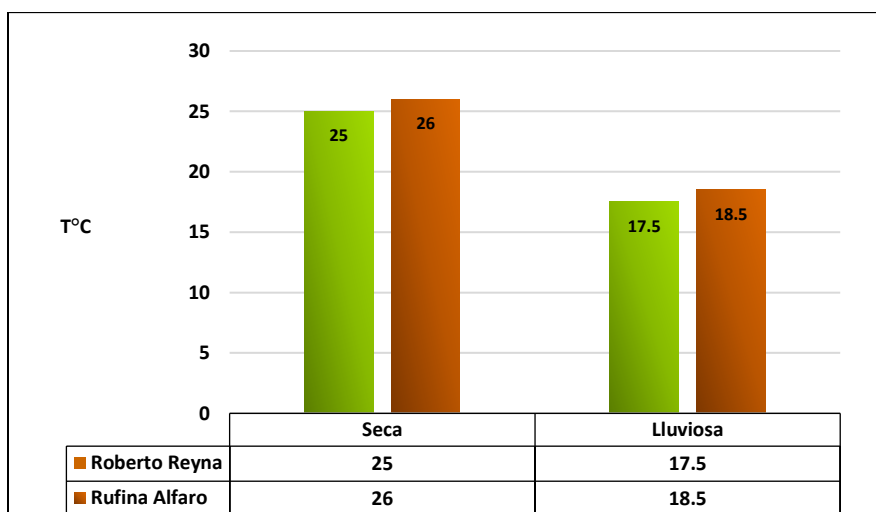
Figura 6. Evaluación de los coliformes totales y coliformes fecales en los meses de muestreos en la toma de agua de la potabilizadora Roberto Reyna.



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

En esta figura se puede apreciar que no hay relación entre el número de coliformes totales y fecales con los meses de muestreo, lo que nos indica que para los meses de la época seca se obtuvo una mayor concentración de UFC de los microorganismos anteriormente mencionados, siendo el mes de enero el que registró el número más elevado de coliformes para ambas tomas de agua, a diferencia de la época lluviosa que presentó una menor concentración, siendo el mes de junio el que reportó los menores niveles de recuento.

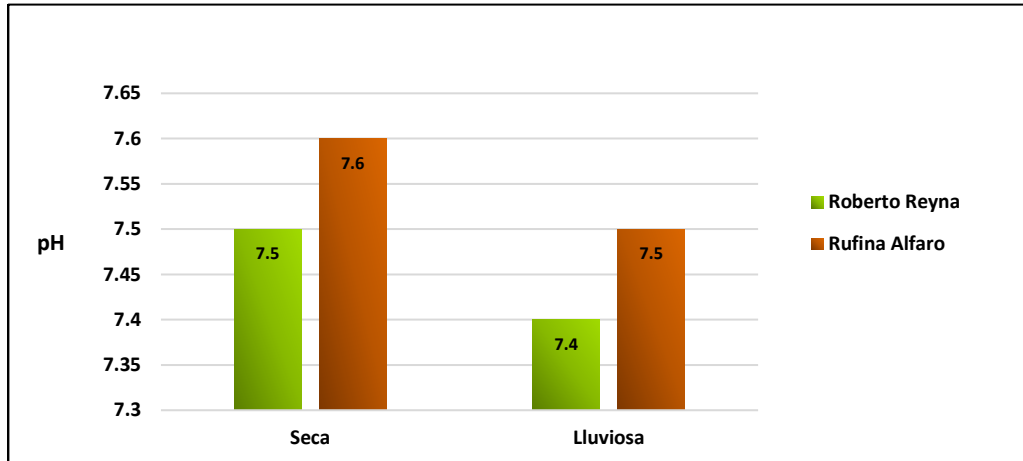
Figura 7. Evaluación de la temperatura durante la época seca y lluviosa en las diferentes tomas de agua de las potabilizadoras Rufina Alfaro y Roberto Reyna.



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

Como se puede apreciar en la figura 7, no se encontraron diferencias entre las temperaturas para ambas épocas en las distintas tomas de agua de las potabilizadoras, la misma es uno de los parámetros físicos más importantes en el agua, ya que por lo general influye en el retardo o aceleración de la actividad biológica.

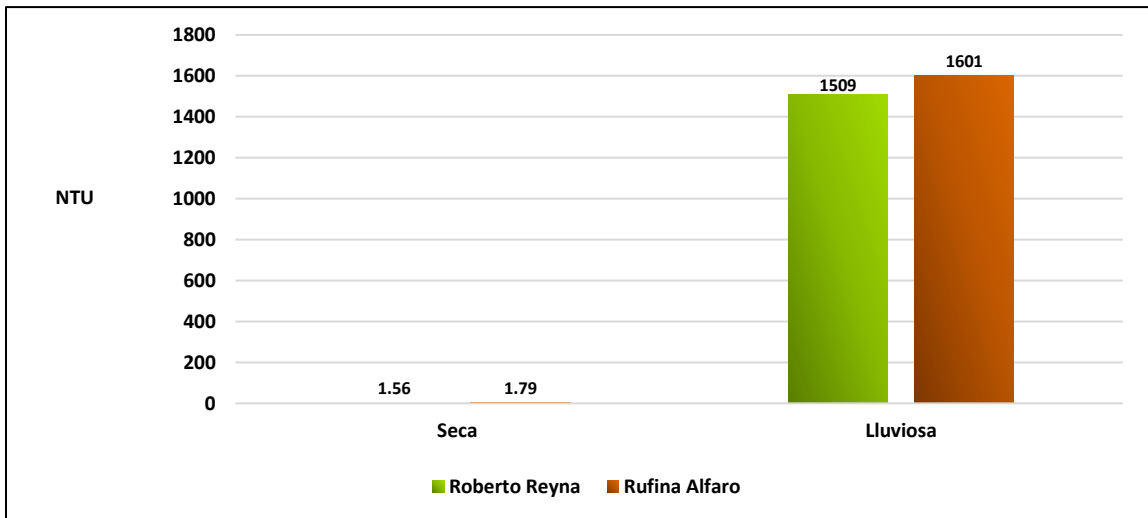
Figura 8. Evaluación del pH durante la época seca y lluviosa en las diferentes tomas de agua de las potabilizadoras Rufina Alfaro y Roberto Reyna.



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

El pH no demostró diferencias significativas, pues se mantuvo dentro del rango que va desde 6.5 a 8.5; esto nos indica que el agua no está afectada por la contaminación. Al relacionar los promedios de pH durante la época seca y lluviosa se pudo observar que en la época seca hubo un pH más alto, aunque la diferencia no es muy notable para la época lluviosa. Este rango es de mucha importancia, ya que por lo general, las aguas naturales (no contaminadas) exhiben un pH en el rango de 6 a 9 (Pradillo, 2016).

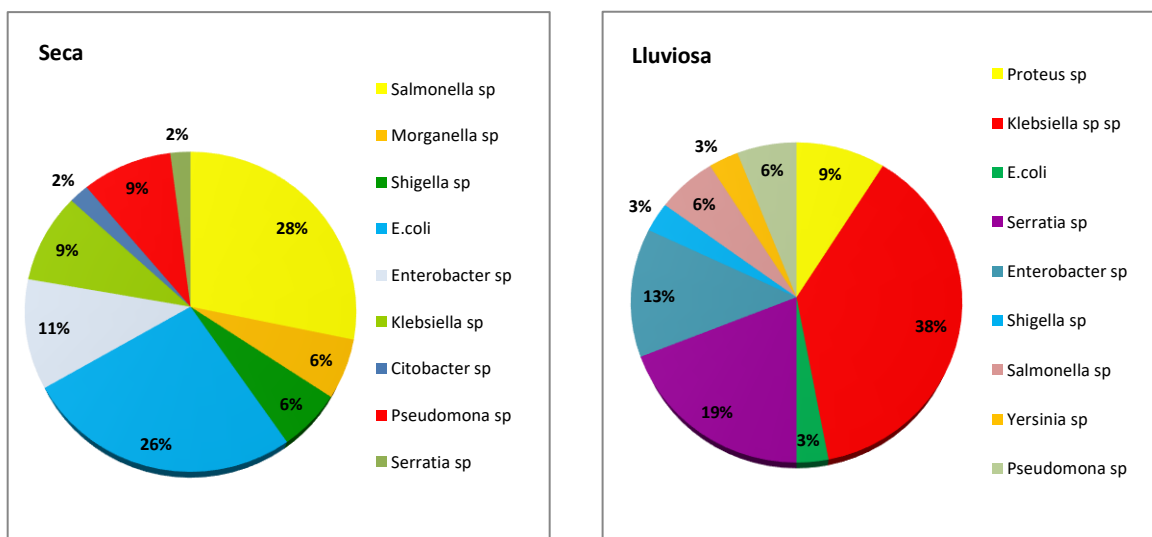
Figura 9. Evaluación de la turbiedad durante la época seca y lluviosa en las diferentes tomas de agua de las potabilizadoras Rufina Alfaro y Roberto Reyna.



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

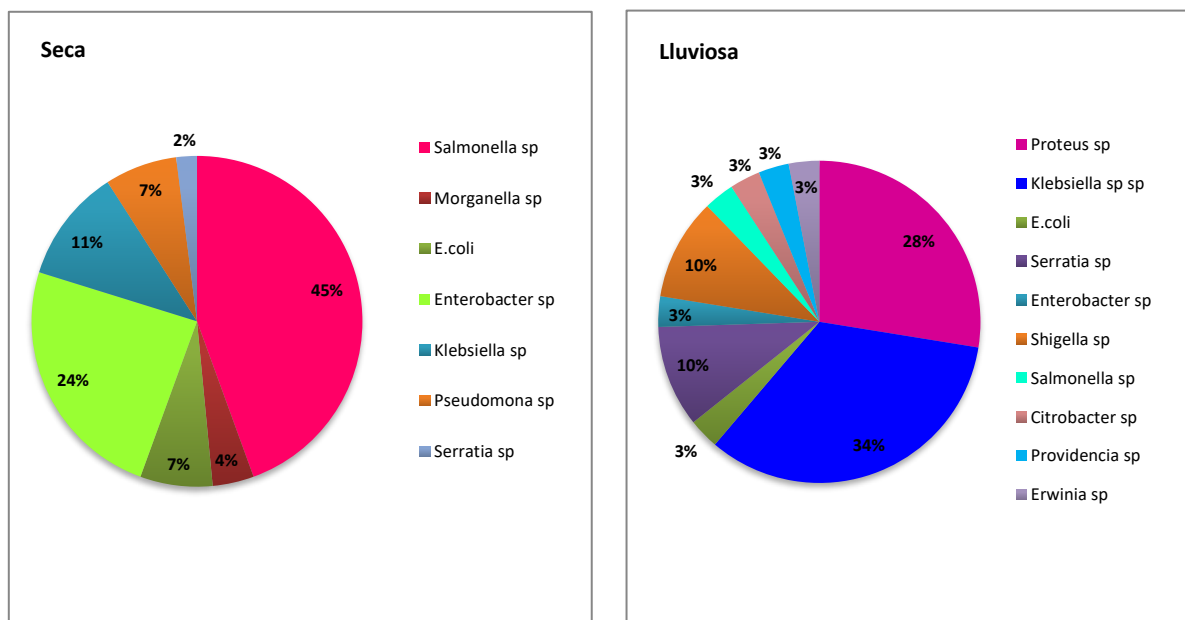
De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa en la figura 9 que la época lluviosa fue la que presentó los mayores niveles de turbiedad con 1509 Unidades Nefelométricas de Turbiedad (UNT) en la toma de agua de la potabilizadora Roberto Reyna y 1601 UNT en la toma de agua de la potabilizadora Rufina Alfaro. Esto es atribuible a que cuando llueve las partículas del suelo se lavan y se introducen al río, originando que el agua se ponga de color café (por el lodo), lo cual indica que tiene valores de turbidez altos. Así mismo, durante flujos altos, las velocidades del agua se incrementan igual que los volúmenes del agua, lo que propicia que se revuelvan las materias suspendidas en el fondo del arroyo, causando una turbiedad mayor; a diferencia de la época seca donde se obtuvo menor valor, (1.56 UNT) en la toma de agua de la potabilizadora Roberto Reyna y en la de Rufina Alfaro (1.79 UNT), debido a que las aguas se mantienen con un flujo bajo.

Figura 10. Ocurrencias de géneros bacterianos aislados en la toma de agua de la potabilizadora Roberto Reyna durante las épocas de estudio



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

Figura 11. Ocurrencias de géneros bacterianos aislados en la toma de agua de la potabilizadora Rufina Alfaro durante las épocas de estudio



Fuente: Almanza V. y López, Y., 2016

En las figuras 10 y 11 se observa que de todos los aislamientos de bacterias que se hicieron para la época seca en las diferentes tomas de agua, el género *Salmonella sp.* fue el que mayormente se encontró. Los microorganismos del género *Salmonella sp.* están extensamente diseminados en la naturaleza como comensales y como patógenos del aparato digestivo de los mamíferos domésticos y silvestres, aves, reptiles e insectos que pueden llegar a producir una amplia gama de enfermedades. Todas las salmonelas son potencialmente patógenas (Stanchi, 2007), al ser parásitos intracelulares y por medio de los macrófagos en los que se encuentran, se diseminan por todo el organismo afectando la vía linfática y sanguínea (Suter et al., 1956).

En cuanto a la época lluviosa el género *Klebsiella sp* predominó con un mayor porcentaje para ambas tomas de agua. Esta bacteria se encuentra por todas partes en la naturaleza, puede ser debido quizás a los sublineages distintos que desarrollan las adaptaciones específicas del lugar, o con las adaptaciones bioquímicas asociadas que se

adaptan mejor a un ambiente particular (Bagley, 1985). Se pueden encontrar en el agua, el suelo, las plantas, los insectos, los animales y en los seres humanos.

4. Conclusiones

- La toma de agua de la planta potabilizadora Rufina Alfaro tuvo mayor concentración de coliformes totales y fecales con respecto a la toma de agua de la planta potabilizadora Roberto Reyna.
- La parte de muestreo que presentó el mayor número de unidades formadoras de colonias fue la parte baja en ambas tomas de agua, demostrando así que el grado de contaminación es mayor en ese punto.
- Se encontró mayor presencia de estos microorganismos en la época seca, en comparación con la lluviosa en ambas tomas de agua.
- Se detectó que los géneros bacterianos identificados en las muestras analizadas, en las diferentes tomas de agua, *Salmonella sp.* fue el más frecuente en la época seca y *Klebsiella sp.* en la época lluviosa.
- Los niveles de estos microorganismos en la época lluviosa se mantuvieron dentro de los parámetros establecidos, según las normas de calidad de aguas superficiales, no siendo así para la época seca, pues los resultados se encontraron por encima del nivel máximo permitido en las dos tomas de agua.
- Los parámetros fisicoquímicos evaluados, como la temperatura y el pH se mantuvieron constantes en las dos épocas del año, este último manteniéndose dentro del rango permitido por las normas, a diferencia de la turbiedad que si tuvo una tendencia a variar, pues en verano sus niveles fueron bajos y en el invierno muy elevados.

Referencias bibliográficas

Almanza, V., López, Y. (2016). *Determinación de la flora bacteriana asociada a la toma de agua de las potabilizadoras Roberto Reyna (Chitré) y Rufina Alfaro (Los Santos) durante las temporadas seca y lluviosa del año 2016*. Tesis de Licenciatura, Universidad de Panamá.

ANAM, (2007). Informe final tomo III. *Elaboración de normas de calidad ambiental para aguas naturales. Estudios técnicos y científicos*. CSI Ingenieros.

APHA et al. (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association. Washington DC.

Bagley, ST. (1985). Habitat association of klebsiella species. *Control Infect review*. February 6 (2): 52-8. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/3882590>

De La Cruz, A. (2008). *Evaluación de la calidad físico-química y microbiológica de la cuenca del Río La Villa. Península de Azuero*. Recuperado de: <http://www.sibiup.up.ac.pa/bd/captura/upload/14040008200801.pdf>

Madigan, (2004). *Microbiología de los microorganismos*. Brock. 10^{ma}. Madrid, España: Editorial, Pearson Educación, S.A.

Organización de las Naciones Unidas (ONU), Departamento de Economía y Asuntos Sociales: División para el Desarrollo Sostenible. (1992). *Agenda 21*. Recuperado de: <http://www.un.org/esa/sustdev/documents/agenda21/spanish/agenda21spchapter18.html>

Pradillo, B. (2016). *Parámetros de control del agua potable*. Recuperado de: <https://www.iagua.es/blogs/beatriz-pradillo/parametros-control-agua-potable>

Stanchi, O. (2007). *Microbiología veterinaria*. Primera edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Intermédica.

Suter, E. (1956). Interaction between phagocytes and pathogenic microorganisms. *Bacteriology reviews*. 20: 94-132.

Agradecimientos:

Al Ministerio de Salud, Dirección Regional de Salud de Los Santos, Departamento de Calidad de Agua; al Instituto de Acueductos y Alcantarillados Nacionales, y a la Unidad de Investigación de la Escuela de Biología del Centro Regional Universitario de Azuero de la Universidad de Panamá.