

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A CLORO EN CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE AGUA DE POZOS ARTESIANOS DE CHILPANCINGO, GUERRERO. (PARA CARTEL)

Martha Patricia De la Vega Díaz, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, vega_utukku@hotmail.com, tesista, área de Ciencias Biomédicas y de la Salud.

Ana Gabriela Gatica González, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, ana_32gonzalez@hotmail.com, tesista, área de Ciencias Biomédicas y de la Salud.

Asesora: Dra. María Cristina Santiago Dionisio, Profesora de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, cristinasantiago81@hotmail.com.

Resumen: La resistencia a los desinfectantes que desarrollan algunas bacterias es un problema creciente en el tratamiento de aguas de pozos artesianos debido a la pérdida de su eficiencia para la eliminación de estos agentes bacterianos. El objetivo principal de la desinfección del agua es la eliminación y la desactivación de bacterias patógenas. Los desinfectantes utilizados predominantemente desde el siglo XIX para la potabilización del agua son el cloro y sus derivados (cloro gaseoso, hipoclorito sódico, hipoclorito cálcico y otros). Sin embargo, ahora se sabe que algunas bacterias patógenas pueden crear resistencia al cloro. Con esta investigación se pretende identificar a las bacterias altamente resistentes al cloro y con ello contribuir en el uso de las concentraciones adecuadas de cloro para la desinfección del agua.

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A CLORO EN CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE AGUA DE POZOS ARTESIANOS DE CHILPANCINGO, GUERRERO.

MARCO TEORICO.

El agua es uno de los recursos naturales que forma parte del desarrollo de cualquier país (Romero *et al.*, 2009). Para asegurar que el agua que se utiliza para beber o para emplearla en la preparación de diversos alimentos de forma adecuada se debe de llevar a cabo un proceso de potabilización en el cual la desinfección es una etapa esencial para eliminar microorganismos patógenos y así evitar infecciones de origen hídrico (Villanueva *et al.*, 2001).

Desinfección del agua en pozos artesianos

Entre las fuentes principales que suministran agua para consumo humano se encuentran los pozos artesianos, los cuales son formaciones geológicas que almacenan agua y actúan como depósito y reserva. Una preocupación constante y difundida relativa al agua de los pozos artesianos es su desinfección adecuada para que esta pueda ser utilizada de manera confiable, esto debido a su fácil contaminación la cual puede ser directa o indirecta como consecuencia del efecto de aguas servidas, de diferentes desechos o de las excretas tanto del hombre como de animales. El proceso de desinfección del agua en pozos artesianos hace referencia a la destrucción física de los agentes bacterianos presentes; esto involucra la adición de sustancias químicas con el objetivo de mejorar las propiedades fisicoquímicas y bacteriológicas del agua. Una de las sustancias más utilizadas es el cloro, que se encarga del proceso de desinfección, para lograr una buena calidad del agua (Mallia *et al.*, 2008).

Reacciones del cloro en el agua

El cloro de tipo gaseoso disuelto reacciona con el agua para formar ácido hipocloroso, iones cloruro y protones. El ácido hipocloroso es un ácido débil y se ioniza para formar ion hipoclorito. El ácido hipocloroso es un desinfectante mucho más eficaz que el ión hipoclorito, este hecho podría estar relacionado con la inexistencia de carga en la molécula de ácido hipocloroso; al ser una molécula neutra, le es más fácil penetrar a la pared bacteriana y con lo consiguiente lograr una actividad bactericida (ITC).

Subproductos de la desinfección del agua tratada con cloro

Los subproductos resultantes de los tratamientos de desinfección del agua, generados por la reacción del desinfectante con la materia orgánica, son también contaminantes potenciales del agua para consumo humano (Oller y Sanz, 2012). Los subproductos de la cloración tienen propiedades mutágenas y cancerígenas, por lo que han sido extensamente estudiados desde que se detectaron por primera vez en 1974 (Villanueva *et al.*, 2001). El uso de cloro, uno de los desinfectantes más utilizados, produce trihalometanos (como el cloroformo y el

bromodichlorometano), que son sustancias clasificadas entre las posibles causantes de leucemias (Oller y Sanz, 2012).

La resistencia bacteriana al cloro como amenaza a la salud pública

La resistencia de las bacterias al cloro es un problema de salud pública observado a nivel mundial, en especial después de la aparición y uso masivo de este desinfectante; por ello está generalmente aceptado que la causa de este problema ha sido, y todavía es, el extendido e inapropiado uso que se le da al mismo (Ramos y Alonso, 2011). La resistencia bacteriana plantea una amenaza grave y cada vez mayor para la salud pública, e involucra cada día nuevas especies bacterianas y nuevos mecanismos de resistencia (Álvarez *et al.*, 2012).

Resistencia bacteriana al cloro

Históricamente, al cloro se le han atribuido diversas ventajas como potabilizador de agua, entre las que destacan su bajo costo, comodidad de uso y su alta eficacia en la eliminación de bacterias. Sin embargo las limitaciones de la cloración se evidencian en las recientes epidemias producidas por grupos de bacterias resistentes, como lo demostró un caso estudiado por Álvarez *et al.* (2012) sobre la presencia de bacterias con moderada resistencia al cloro: *Mycobacterium avium* y *Legionella pneumophila* (Álvarez *et al.*, 2012).

Mecanismo de acción del cloro sobre las bacterias

Existen diversas teorías sobre el efecto que tiene el cloro como biocida: Oxidación de las células, alteración de la permeabilidad celular, alteración del protoplasma celular, inhibición de la actividad enzimática, así como daño del DNA y el RNA (Cote, 2006).

El cloro actúa oxidando los grupos sulfidrilo (-SH) y otros grupos funcionales de las enzimas, asociadas a las membranas alterando la integridad y permeabilidad de la misma posteriormente reacciona con las enzimas esenciales para el proceso metabólico de la célula, destruyendo así a las bacterias (Rojas *et al.*, 2008).

Mecanismos de resistencia bacteriana

Ponce y Fuerte (2012) al intentar demostrar la calidad del agua de pozos artesianos de Chilpancingo, Guerrero. Encontraron la presencia de bacterias en agua desinfectada con cloro, se puede pensar que estas muestras que resultaron con presencia bacteriana, se deben a que están presentando resistencia al proceso de desinfección con cloro (Ponce y Fuerte *et al.*, 2012).

Es sabido que la susceptibilidad que muestran las bacterias a los germicidas está determinada por el género y la especie, estas han desarrollado varios mecanismos para resistir la acción de diferentes biocidas, esta resistencia puede ser una propiedad natural de la bacteria o conseguida por una mutación o adquisición de plásmidos (Beceiro *et al.*, 2012).

Entre las propiedades naturales de resistencia bacteriana se encuentra las bombas de flujo para la excreción de los biocidas. El segundo se realiza mediante la disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana evitando así la introducción del agente tóxico (Riverón *et al.*, 2003).

Sin embargo, y especialmente en ambientes con una alta concentración de un biocida es relativamente fácil para las bacterias desarrollar mutaciones cromosómicas compensatorias, los plásmidos son posiblemente los principales vehículos de transmisión de los elementos genéticos que codifican los factores de resistencia, incrementando así la resistencia. El reciclaje de la pared celular constituye también un mecanismo de resistencia. Por tanto, el coste de adquisición de la resistencia a los diferentes biocidas es muy variado dependiendo de diversos factores como las condiciones ambientales, la especie, así como del mecanismo de resistencia adquirido (Beceiro *et al.*, 2012).

JUSTIFICACIÓN

En México existe una gran diversidad de métodos para la potabilización del agua, debido a la gran variedad de agentes bacterianos que la contaminan. El objetivo principal de la desinfección del agua es la eliminación y la desactivación de bacterias patógenas. Los desinfectantes utilizados predominantemente para la potabilización del agua son el cloro y sus derivados (cloro gaseoso, hipoclorito sódico, hipoclorito cálcico y otros). Sin embargo, ahora se sabe que algunas bacterias patógenas pueden crear resistencia al cloro.

La finalidad de este trabajo es demostrar que las cepas aisladas de pozos artesianos de Chilpancingo, Gro., desarrollan mecanismos de resistencia al cloro, permitiendo su proliferación y sobrevivencia en presencia de este desinfectante. Con esta investigación se pretende identificar a las bacterias altamente resistentes al cloro y con ello contribuir en el uso de las concentraciones adecuadas de cloro para la desinfección del agua.

OBJETIVOS

General.

- Evaluar la resistencia a cloro en cepas bacterianas aisladas de pozos artesianos de Chilpancingo, Guerrero.

Específicos.

- Determinar la capacidad de resistencia a cloro de las cepas bacterianas aisladas de pozos artesianos de Chilpancingo, Guerrero, mediante la técnica de Macrodilución.
- Analizar la concentración máxima de cloro en la cual son capaces de resistir las cepas bacterianas aisladas de pozos artesianos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo y tamaño de la muestra: Se analizarán 60 cepas identificadas que fueron aisladas de agua de pozos artesianos en Chilpancingo, Gro., dichas cepas serán resembradas en tubos Eppendorf conteniendo agar de soya tripticasa para conservar su viabilidad a una temperatura de 4°C.

Materiales: Cepas aisladas de agua de pozos artesianos de Chilpancingo, Gro., a cada cepa se le determinará la prueba de resistencia, utilizando diferentes concentraciones de cloro. El medio de cultivo específico a usar será el agar Mueller Hinton.

Pruebas de resistencia: Para comprobar la resistencia bacteriana estas se someterán a distintas concentraciones de cloro (1 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL y 20 mg/mL). Método a utilizar: Método de macrodilución en caldo Mueller Hinton.

Identificación sobre la resistencia bacteriana al cloro: Se examinaran los tubos por espectrometría a 625 nm determinando así su densidad óptica. De acuerdo a la densidad óptica que presente el medio de cultivo se determinara si es resistente o sensible.

Análisis de resultados: Los resultados serán analizados a través del programa Microsoft Excel obteniendo la frecuencia simple y el porcentaje de las bacterias resistentes, posteriormente las frecuencias y los porcentajes serán representados en cuadros y gráficas.

LITERATURA CITADA

- Álvarez., M. B. R., L. P. S. Jiménez-, *et al.* (2012). "Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de ecosistemas dulceacuícolas." *Revista Cubana de Medicina Tropical.* 64(2): 132-141.
- Beceiro., A., M. Tomas., *et al.* (2012). "Resistencia a los antimicrobianos y virulencia, ¿una asociación beneficiosa para el mundo microbiano?." *Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica* 30(8): 492-499.
- "Cloración del agua potable". Información en formato electrónico disponible en: http://www.itc.es/pdf/Technical_documents/Agua-marca-Esp.pdf
- Cote, C. R. C. (2006). Aislamiento, identificación bioquímica y pruebas de cloro resistencia in vitro a cepas nativas de coliformes totales y *E.coli* obtenidas en la red de distribución del acueducto de Bogotá. *Microbiología industrial.* Bogotá, Pontificia Universidad Javeriana.
- Mallia., A., L. Ríos., *et al.* (2008). "Evaluación de los subproductos de la cloración en el proceso de Potabilización de la Planta Lucio Baldó Soulés". *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia.* 31(Especial Maracaibo dic.): 01-11.
- Oller-Arlandis., V. and J. Sanz-Valero. (2012). "Cáncer por contaminación química del agua de consumo humano en menores de 19 años: una revisión sistemática." *Panam Salud Pública.* 32(6): 435-443.
- Ponce-Muñoz P., Fuerte-Xalocan F. (2013). "Determinación bacteriológica de agua de pozos artesianos y aguas envasadas que se comercializan en la ciudad de Chilpancingo, Guerrero". Laboratorio de investigación de análisis microbiológicos Chilpancingo, Guerrero, UAG.
- Riverón., T. C. F. F., M. J. L. Hernández., *et al.* (2003). "RESISTENCIA BACTERIANA." *Rev. Cubana Med Milit* 32(1).
- Romero, M., Colín, A., *et al.* (2009). "Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica". *Rev. Int. Contaminación Ambiental.*
- Villanueva, C. M., M. Kogevinasa., *et al.* (2001.). "Cloración del agua potable y efectos sobre la salud: revisión de estudios epidemiológicos." *Med Clin (Barc).* 117: 27-36.